HOCHSCHULE RUHR WEST
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Untersuchung viraler und immunologischer Mechanismen in der Pathogenese der Demenz durch De-Novo-Sequenzierung und Proteom-Analyse

Bachelorarbeit

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

Bachelor of Science (B.Sc)

Fachbereich 4 Mess- und Sensortechnik

Eingereicht von:

Tara Fereydooni Lotfabadi

Matrikelnummer: 10012173

Abgabedatum: 26.02.2025

Bearbeitungszeitraum: 12 Wochen

Studiengang: Gesundheits- und Medizintechnologien

Erstprüfer: Herr Prof. Dr. Jens Allmer

Zweitprüfer: Frau Birgit Weustermann

Mülheim an der Ruhr,

26.02.2025

Danksagung

Diese Bachelorarbeit wäre ohne die Unterstützung und Begleitung vieler Menschen nicht möglich gewesen.

Mein tief empfundener Dank gilt Herrn Prof. Dr. Jens Allmer, meinem Betreuer und Professor, der mich mit großer Geduld, fachlicher Expertise und wertvollen Anregungen unterstützt hat. Besonders bei der Datenanalyse der KNIME-Workflows stand er mir stets mit Rat und Tat zur Seite und half mir, methodische Herausforderungen zu meistern. Seine kontinuierliche Unterstützung, seine motivierenden Worte und sein Vertrauen in meine Fähigkeiten haben mich sehr bestärkt.

Ein ebenso herzlicher Dank gilt Herrn Fabian Bräuer, dessen Unterstützung in der De-novo-Sequenzierung mit Casanovo, Novor und DeepNovo für diese Arbeit von unschätzbarem Wert war. Seine technische Expertise und wertvollen Impulse haben diese Forschung erheblich bereichert.

Von Herzen danke ich auch meinen Freunden und meiner Familie, die mir in den letzten Monaten viel Mut zugesprochen und mit großem Verständnis zur Seite gestanden haben. Ihre Unterstützung hat mich durch herausfordernde Phasen getragen.

Mein tiefster Dank gilt jedoch meiner Mutter, die mich in allen Situationen meines Lebens bedingungslos unterstützt und an mich geglaubt hat. Ihr Glaube an mich, ihr unermüdlicher Einsatz und ihre Liebe haben mich an diesen Punkt gebracht. Diese Arbeit widme ich ihr – in ewiger Dankbarkeit.

Kurzfassung

Demenz ist eine der größten medizinischen Herausforderungen unserer Zeit – eine schleichende, zerstörerische Krankheit, die Millionen von Menschen betrifft und für die es bis heute keine Heilung gibt. Trotz jahrzehntelanger Forschung bleiben viele der zugrunde liegenden Mechanismen ein Rätsel. Neueste Erkenntnisse deuten darauf hin, dass nicht nur neurodegenerative Prozesse wie Proteinaggregation und oxidative Schäden eine Rolle spielen, sondern möglicherweise auch geschlechtsspezifische Unterschiede und sogar virale Einflüsse. Doch wie lassen sich solche Faktoren zuverlässig nachweisen? Diese Arbeit bricht mit konventionellen Methoden und nutzt De-Novo-Sequenzierung, um das Proteom menschlicher Gehirngewebe mit modernsten bioinformatischen Werkzeugen zu analysieren. Ziel ist es, zwei grundlegende Fragen zu beantworten: (1) Kann das biologische Geschlecht allein anhand von Proteindaten bestimmt werden? (2) Ist es möglich, Viren in Proteindaten zu erkennen? Um diesen Fragen nachzugehen, wurden die leistungsfähigen Sequenzierungs-Tools Casanovo, DeepNovo und Novor eingesetzt, die eine datenbankunabhängige Peptididentifikation ermöglichen. Zehntausende Peptide wurden analysiert, gruppiert und auf Muster untersucht, die Rückschlüsse auf geschlechtsspezifische oder virale Signaturen erlauben. Die Ergebnisse zeigen, dass geschlechtsspezifische Proteine zwar nachweisbar sind, doch die inkonsistente Peptidvorhersage zwischen den verwendeten Tools die Zuverlässigkeit dieser Marker infrage stellt. Noch spannender ist die Erkenntnis, dass bestimmte Peptide auf mögliche virale Präsenz in den Daten hindeuten – ein Aspekt, der bislang kaum Beachtung fand, aber die Frage aufwirft, ob Viren eine unerkannte Rolle in der Entstehung oder Verstärkung neurodegenerativer Prozesse spielen könnten. Diese Studie verdeutlicht das enorme Potenzial der Proteomik für die Demenzforschung. Durch die Kombination von De-Novo-Sequenzierung und bioinformatischer Analyse eröffnen sich neue Wege zur Identifikation von bisher unentdeckten molekularen Mechanismen. Die Ergebnisse liefern nicht nur wertvolle Impulse für die Grundlagenforschung, sondern könnten langfristig auch neue Perspektiven für die Diagnostik und Therapie neurodegenerativer Erkrankungen schaffen.

Demenz ist ein Rätsel – doch die Antworten könnten bereits in den Proteinen verborgen liegen. Jetzt ist es an der Wissenschaft, sie zu entschlüsseln.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung ..... **II**

Kurzfassung ..... **III**

Inhaltsverzeichnis ..... **IV**

Abbildungsverzeichnis ..... **V**

1 Einleitung **1**

1.1 Hintergrund und Motivation 1

1.2 Forschungsziele und Fragen 1

1.3 Aufbau der Arbeit 2

2 Grundlagen der Demenz und Pathophysiologie **3**

2.1 Demenz: Definition, Formen und gesellschaftliche Relevanz 3

2.2 Molekulare Mechanismen und Proteinaggregation 5

2.3 Oxidativer Stress und mitochondriale Dysfunktion 6

2.4 Entzündungsprozesse und Immunreaktionen 9

3 Grundlagen der Proteomik und De-Novo-Sequenzierung **11**

3.1 Einführung in die Proteomik 11

3.2 De-Novo-Sequenzierung 12

4 Geschlechterunterschiede **14**

4.1 Prävalenz und epidemiologische Daten 14

4.2 Biologische und hormonelle Faktoren 14

4.3 Genetische und epigenetische Unterschiede 15

5 Virale Mechanismen und immunologische Hypothesen **19**

5.1 Virale Beiträge zur Pathogenese der Demenz 19

5.2 Immunreaktionen und Autoimmunität 21

5.3 Nachweis und Identifizierung von Virus- und Immunsignaturen 22

6 Methodik **24**

6.1 Beschreibung der durchgeführten Studie 24

6.2 Analyse der De-Novo-Sequenzierung 25

6.2.1 Bestimmung der Häufigkeit der Peptidvorhersagen 26

6.2.2 Verfahren zur Geschlechtsbestimmung 27

6.2.3 Analyse viraler Proteine 28

7 Ergebnisse 30

7.1 Darstellung der De-novo-sequenzierten Daten 30

7.1.1 Peptidüberschneidungen zwischen den De-novo-Tools 30

7.1.2 Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung 33

7.1.3 Identifikation viraler Proteine 37

8 Diskussion 39

8.1 Interpretation der Ergebnisse 39

8.1.1 Bewertung der Geschlechtsbestimmung anhand proteotyper Peptide 39

8.1.2 Identifikation viraler Peptide und ihre Bedeutung für die Demenzforschung 40

8.1.3 Methodische Limitationen und Optimierungsmöglichkeiten 40

8.2 Bedeutung der Ergebnisse für die Demenzforschung 41

9 Zusammenfassung und Schlussfolgerung 42

9.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse 42

9.2 Schlussfolgerung 43

Literaturverzeichnis 45

Eidesstattliche Erklärung 61

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Spaltung von APP durch BACE1 und Gamma-Sekretase..... 5

Abbildung 2: Wirkung von Resveratrol (RES) auf oxidativen Stress und antioxidative Enzyme. RES aktiviert Schutzmechanismen wie Superoxiddismutase (SOD), Glutathion (GSH) und Katalase (CAT), die schädliche reaktive Sauerstoffspezies (ROS) neutralisieren. Dadurch wird oxidativer Stress reduziert und die Zellfunktion geschützt. 7

Abbildung 3: Schematische Darstellung der X-Chromosomen-Inaktivierung (XCI). Bei Frauen wird eines der beiden X-Chromosomen größtenteils inaktiviert (Xi), während das andere aktiv bleibt (Xa). Manche Gene entkommen jedoch der Inaktivierung („Escape“), was zu geschlechtsspezifischen Unterschieden in der Genexpression führen kann..... 18

Abbildung 4: Der "Trojanisches-Pferd-Mechanismus" ermöglicht es Viren, die Blut-Hirn-Schranke (BHS) mithilfe infizierter Immunzellen zu überwinden und ins zentrale Nervensystem (ZNS) zu gelangen. 20

Abbildung 5: KNIME-Workflow zur Verteilung der Peptidvorhersagen durch die De-Novo-Sequenzierungstools Casanovo, DeepNovo und Novor 26

Abbildung 6: KNIME-Workflow zur Geschlechtsbestimmung anhand Y-chromosomaler Peptide..... 27

Abbildung 7: KNIME-Workflow zur Identifikation proteotypischer Y-chromosomaler Peptide 27

Abbildung 8: KNIME-Workflow zur Analyse viraler Proteine 28

Abbildung 9: Venn-Diagramm der Peptidvorhersagen durch die De-novo-Sequenzierungstools Casanovo, DeepNovo und Novor 30

Abbildung 10: Säulendiagramm zur Häufigkeit der Peptidvorhersagen durch Casanovo, DeepNovo und Novor..... 31

Abbildung 11: Säulendiagramm der Summe der Peptide für Y-chromosomale Proteine..... 33

Abbildung 12: Säulendiagramm der Summe der Peptide für Y-chromosomale Proteine..... 33

Abbildung 13: Scatter-Plot zur Sicherheit der männlichen Zuordnung basierend auf proteotypischen Peptide 36

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Tabelle 1: Heatmap zur Klassifikation von Konfliktproben anhand der Peptidverteilung 35

Tabelle 2: Übersicht der identifizierten viralen Proteine 37

1 Einleitung

1.1 Hintergrund und Motivation

Demenz ist eine der größten gesundheitlichen Herausforderungen unserer Zeit. Sie betrifft Millionen von Menschen weltweit und hat erhebliche Auswirkungen auf die Betroffenen, ihre Familien und das Gesundheitssystem. Diese Krankheit ist durch komplexe und oft noch schlecht verstandene pathophysiologische Mechanismen wie Proteinaggregation, oxidativen Stress und chronische Entzündungen gekennzeichnet. Trotz intensiver Forschungsbemühungen bleiben viele Fragen zu den Ursachen, dem Verlauf und möglichen Behandlungsansätzen unbeantwortet. Die Proteomik, die eine umfassende Analyse von Proteinen und deren Veränderungen ermöglicht, hat sich als wertvolles Instrument für die Erforschung der molekularen Grundlagen der Demenz etabliert. Insbesondere die De-Novo-Sequenzierung bietet die Möglichkeit, neue Peptide und Proteine zu identifizieren, die tiefere Einblicke in die Krankheitsmechanismen geben könnten. Dies wirft zwei zentrale Fragen auf: Erstens, ob geschlechtsspezifische Unterschiede in den Proteomdaten identifiziert werden können, die auf unterschiedliche Krankheitsrisiken oder -verläufe hindeuten könnten. Zweitens, ob virale Komponenten nachgewiesen werden können, die bei der Entstehung von Demenz eine Rolle spielen könnten. Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die Untersuchung dieser Aspekte, um ein besseres Verständnis der molekularen Grundlagen der Demenz zu erlangen. Ziel ist es, durch proteomische Analysen neue Erkenntnisse über geschlechtsspezifische Unterschiede und mögliche virale Einflüsse zu gewinnen, die zur Weiterentwicklung von Diagnose- und Therapiemöglichkeiten beitragen können.

1.2 Forschungsziele und Fragen

Diese Arbeit befasst sich mit zwei zentralen und herausfordernden Fragen auf dem Gebiet der Proteomik: Der Möglichkeit, das biologische Geschlecht anhand von Proteindaten zu bestimmen, und der Untersuchung, ob Viren in Proteindaten nachgewiesen werden können. Beide Fragen haben explorativen Charakter, da ein Erfolg bei ihrer Beantwortung nicht garantiert werden kann. Dennoch bieten sie das Potenzial, neue wissenschaftliche Erkenntnisse zu generieren und zur Weiterentwicklung von proteomischen Analysemethoden beizutragen.

Die Forschungsfragen, die dieser Arbeit zugrunde liegen, sind:

1. Kann das biologische Geschlecht aus Proteindaten zuverlässig bestimmt werden?
2. Ist es möglich, Viren in Proteindaten zu erkennen?

Mit der Beantwortung dieser Fragen sollen zentrale Herausforderungen der Proteomik angegangen und ihr Potenzial für die Analyse komplexer biologischer Mechanismen weiter erforscht werden. Die Ergebnisse könnten Folgendes liefern: wichtige Impulse für zukünftige Forschungsarbeiten und die Weiterentwicklung innovativer Ansätze in der Proteomik.

1.3 Aufbau der Arbeit

Diese Arbeit ist in mehrere Kapitel unterteilt, um die Forschungsfragen systematisch zu untersuchen.

Das erste Kapitel enthält die *Einleitung*, in der die Problemstellung, Motivation und Forschungsziele vorgestellt werden.

Kapitel zwei beschreibt die *Grundlagen der Demenz*, einschließlich verschiedener Demenzformen sowie molekularer Mechanismen wie Proteinaggregation, oxidativer Stress und entzündliche Prozesse.

Kapitel drei gibt eine Einführung in *Proteomik und De-Novo-Sequenzierung*, wobei die Methodik sowie deren Vorteile und Herausforderungen erläutert werden.

Kapitel vier behandelt *geschlechtsspezifische Unterschiede* in der Demenzforschung. Neben epidemiologischen Daten werden biologische und genetische Faktoren betrachtet, die Unterschiede in der Krankheitsprogression beeinflussen könnten.

Kapitel fünf untersucht den *Einfluss viraler Mechanismen und Immunantworten* auf die Krankheitsentstehung und analysiert, ob Viren eine Rolle bei neurodegenerativen Prozessen spielen.

Kapitel sechs beschreibt die *Methodik*, einschließlich Forschungsdesign, Datenauswahl und bioinformatischer Analysemethoden. Hier werden die Schritte der De-Novo-Sequenzierung, Peptidfilterung und Klassifikation erläutert.

Kapitel sieben stellt die *Ergebnisse* vor. Dazu gehören die Peptidvorhersagen durch verschiedene Sequenzierungstools, die geschlechtsspezifische Klassifikation proteotyper Peptide und die Identifikation potenzieller viraler Peptide.

Kapitel acht liefert die *Diskussion,* in der die Ergebnisse mit bestehenden Studien verglichen, methodische Limitationen analysiert und Optimierungsmöglichkeiten aufgezeigt werden.

Kapitel neun fasst die wichtigsten *Schlussfolgerungen* zusammen und leitet Implikationen für zukünftige Forschung und praktische Anwendungen ab.

2 Grundlagen der Demenz und Pathophysiologie

2.1 Demenz: Definition, Formen und gesellschaftliche Relevanz

Demenz ist kein eigenständiges Krankheitsbild, sondern ein Syndrom, das mit einem fortschreitenden Verlust kognitiver Fähigkeiten einhergeht. Betroffene erleben Einschränkungen in verschiedenen geistigen Bereichen wie Gedächtnis, Sprache und Problemlösung, was ihren Alltag zunehmend beeinträchtigt (Hugo & Ganguli, 2014; Woods et al., 2023). Um eine Demenz von normalem altersbedingtem kognitivem Abbau und anderen Erkrankungen abzugrenzen, erfolgt die Diagnosestellung anhand spezifischer Kriterien. Hierbei spielen das *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5. Ausgabe (DSM-5)* und *die Internationale Klassifikation der Krankheiten, 11. Revision (ICD-11)* eine zentrale Rolle. Diese Klassifikationssysteme bieten klare diagnostische Leitlinien sowohl für schwerwiegende neurokognitive Störungen, die als Demenz klassifiziert werden, als auch für mildere kognitive Beeinträchtigungen (MCI) (Hugo & Ganguli, 2014). Die Relevanz dieser standardisierten Diagnoseverfahren wird besonders deutlich, da Demenz ein wachsendes globales Gesundheitsproblem darstellt, das Millionen Menschen weltweit betrifft und eine erhebliche wirtschaftliche Belastung für die Gesundheitssysteme verursacht (Kuljiš, 2010). Die Zahl der Menschen mit Demenz steigt weltweit kontinuierlich an. Laut dem World Alzheimer Report 2015 waren im Jahr 2015 schätzungsweise 46,8 Millionen Menschen betroffen (Prince et al., 2015). Prognosen zufolge könnte sich diese Zahl etwa alle 20 Jahre nahezu verdoppeln, sodass bis 2030 rund 75 Millionen und bis 2050 etwa 131,5 Millionen Menschen an Demenz erkrankt sein werden (Prince et al., 2015). Dies wird durch aktuelle Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) bestätigt, die weltweit bereits rund 55 Millionen Betroffene verzeichnet und in den kommenden Jahrzehnten einen weiteren deutlichen Anstieg erwartet (World Health Organization, 2023). Diese Entwicklung verdeutlicht die Notwendigkeit intensiverer Forschung, verbesserter Versorgungsstrukturen und effektiver Präventionsmaßnahmen, um die globalen Herausforderungen im Umgang mit dieser Erkrankung zu bewältigen. Die Lancet International Commission on Dementia prognostiziert bis 2050 eine Zunahme auf 115 Millionen Fälle, was mit erheblichen Kosten verbunden ist. Bereits 2015 wurden diese auf 818 Milliarden US-Dollar geschätzt, wobei der Großteil durch soziale und familiäre Betreuung entsteht (Livingston et al., 2017). Während globale Daten eine deutliche Zunahme von Demenzerkrankungen zeigen, liefern regionale Analysen, wie die aus Deutschland, zusätzliche wertvolle Erkenntnisse. Nach Angaben des Robert-Koch-Instituts (2023) leiden in Deutschland derzeit rund 1,7 Millionen Menschen an Demenz, wobei die Prävalenz mit dem Alter deutlich zunimmt. Prognosen zufolge könnte diese Zahl aufgrund der steigenden Lebenserwartung und der

demografischen Entwicklung bis zum Jahr 2070 auf bis zu 3 Millionen ansteigen (Robert Koch-Institut, 2023). Während diese Entwicklung in vielen Industrienationen beobachtet wird, zeigen Studien, dass insbesondere Länder mit niedrigem und mittlerem Einkommen in den kommenden Jahrzehnten den stärksten Anstieg der Demenzprävalenz erleben werden. Dies ist vor allem auf begrenzte Ressourcen für Pflege und Prävention zurückzuführen, was die globalen Herausforderungen im Umgang mit der Erkrankung weiter verstärkt (Nichols et al., 2022). Auch innerhalb Europas zeigen Analysen erhebliche Unterschiede in der Versorgung und den politischen Maßnahmen, die stark von der Wirtschaftskraft und den regionalen Prioritäten der Länder abhängen. Während westeuropäische Länder und Skandinavien oft von fortschrittlichen Diagnosemethoden und spezialisierten Versorgungsstrukturen profitieren, kämpfen osteuropäische Länder mit begrenzten Ressourcen und einem Mangel an nationalen Strategien (Alzheimer Europe, 2023). Gleichzeitig spielen auch geschlechtsspezifische Faktoren eine Rolle: Studien zeigen, dass Frauen in den meisten Altersgruppen häufiger an Alzheimer erkranken und Demenz ab 90 Jahren verstärkt auftritt. Eine Untersuchung mit Daten aus 43 Ländern bestätigt diesen Zusammenhang. Diese Erkenntnisse unterstreichen die Notwendigkeit, sowohl regionale als auch geschlechtsspezifische Unterschiede in der Demenzforschung und -versorgung zu berücksichtigen (Huque et al., 2023). Zudem nimmt das Risiko, an Demenz zu erkranken, mit steigendem Alter deutlich zu, wobei die Mehrheit der Fälle erst ab dem 75. Lebensjahr auftritt. Aufgrund der zunehmenden Lebenserwartung stellt diese Entwicklung eine wachsende Herausforderung für die alternde Gesellschaft dar (Livingston et al., 2017). Besonders relevant ist dies für die Alzheimer-Demenz (AD), die mit einem Anteil von 60–80 % die häufigste Form darstellt. Sie ist durch die Anhäufung von Beta-Amyloid-Plaques und Tau-Protein-Verflechtungen im Gehirn gekennzeichnet, welche die Kommunikation zwischen Nervenzellen beeinträchtigen und schließlich zum Zelltod führen. Diese pathophysiologischen Veränderungen bedingen einen fortschreitenden kognitiven Abbau, der sich unter anderem in Gedächtnisverlust, Orientierungsproblemen und eingeschränkten Problemlösungsfähigkeiten äußert (Hardy & Selkoe, 2002). Die vaskuläre Demenz (VaD), die zweithäufigste Form, entsteht durch eine eingeschränkte Blutzufuhr zum Gehirn, oft aufgrund von Schlaganfällen oder chronischen Durchblutungsstörungen. Dies führt zu einem Verlust von Nervenzellen in bestimmten Regionen des Gehirns, was sich in Symptomen wie beeinträchtigter Planungsfähigkeit, Konzentrationsschwäche und Gedächtnisproblemen äußern kann (O'Brien & Thomas, 2015). Eine weitere wichtige Form der Demenz ist die Lewy-Körperchen-Demenz (LBD), die durch abnorme Proteinablagerungen, die so genannten Lewy-Körperchen, in den Nervenzellen verursacht wird. Die Betroffenen zeigen häufig Halluzinationen, motorische Störungen ähnlich wie bei der Parkinson-Krankheit

und Schwankungen der Aufmerksamkeit (McKeith et al., 2017). Frontotemporale Demenzen (FTD) umfassen eine Gruppe von Krankheiten, die durch eine Degeneration des Frontal- und Temporallappens des Gehirns gekennzeichnet sind. Sie treten häufig in jüngerem Alter auf und äußern sich in Persönlichkeitsveränderungen, Sprachstörungen und beeinträchtigtem Sozialverhalten (Bang et al., 2015).

2.2 Molekulare Mechanismen und Proteinaggregation

Die molekularen Mechanismen sind entscheidend für die Entstehung und Progression neurodegenerativer Erkrankungen wie Alzheimer. Die Amyloid-Hypothese besagt, dass die Anhäufung von Amyloid-Beta-Peptiden ein Schlüsselfaktor der Pathogenese ist und zur neuronalen Schädigung beiträgt (Hardy & Selkoe, 2002). Allerdings beruht die Krankheitsentwicklung nicht allein auf Aβ-Aggregation. Auch Fehlfunktionen der Tau-Protein-Verarbeitung und entzündliche Reaktionen spielen eine zentrale Rolle bei der neuronalen Dysfunktion und dem kognitiven Abbau (Querfurth & LaFerla, 2010). Ein entscheidender Mechanismus ist die Proteinaggregation, die toxische Spezies bildet. Studien zeigen, dass lösliche, nicht-fibrilläre Aβ1-42-Derivate eine stark neurotoxische Wirkung auf das zentrale Nervensystem haben und somit zur Krankheitsprogression beitragen (Lambert et al., 1998). Die Amyloid-Beta-Produktion erfolgt in zwei Schritten: Zunächst spaltet BACE1 das Amyloid-Vorläuferprotein (APP) und leitet so die Bildung von Aβ ein (Vassar et al., 1999). Anschließend übernimmt die Gamma-Sekretase die intramembranöse Spaltung des verbleibenden C-terminalen Fragments von APP, wodurch Amyloid-Beta-Peptide unterschiedlicher Länge entstehen (siehe *Abbildung 1*)(Wolfe et al., 1999).

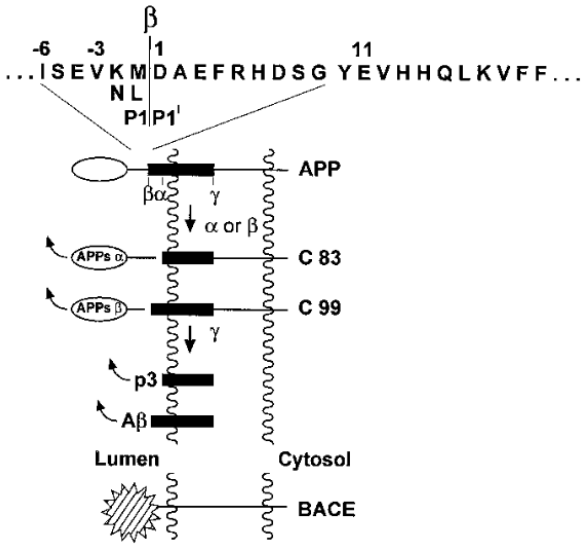

Abbildung 1: Spaltung von APP durch BACE1 und Gamma-Sekretase
Quelle: (Vassar et al., 1999)

Dabei entstehen hauptsächlich die beiden Varianten Aβ40 und Aβ42, die in ähnlichen Mengen produziert werden. Allerdings besitzt Aβ42 eine deutlich stärkere Neigung zur Aggregation und Fibrillenbildung, wodurch es als die pathogenere Spezies gilt und verstärkt zur Krankheitsentwicklung beiträgt (Selkoe & Schenk, 2003). Sobald sich Aβ fehlfaltet, beginnt ein pathologischer Prozess, der zur Bildung von Oligomeren und fibrillären Plaques führt. Diese Ablagerungen spielen eine Schlüsselrolle in der Neurodegeneration bei Alzheimer, da sie eine Reihe toxischer Effekte auslösen (Hardy & Selkoe, 2002). Eine gestörte Ausscheidung amyloidogener Peptide trägt zur Plaquebildung im Gehirn bei. Wenn diese Abbauprozesse nicht mehr effizient funktionieren, kommt es zu extrazellulären Ablagerungen von Amyloid-Beta, die letztlich die Entstehung von Plaques begünstigen (Selkoe, 2001). Diese Ablagerungen haben direkte neurotoxische Effekte. Amyloid-Beta beeinträchtigt die synaptische Funktion, indem es die Langzeitpotenzierung (LTP) und damit die Gedächtnisbildung stört. (Shankar et al., 2008) zeigten, dass bereits geringe Mengen an Amyloid-Beta-Dimeren die synaptische Effizienz erheblich reduzieren und so kognitive Defizite begünstigen. Neben Amyloid-Beta spielt auch das Tau-Protein eine zentrale Rolle bei neurodegenerativen Prozessen. Im gesunden Gehirn trägt Tau zur Stabilisierung von Mikrotubuli in Nervenzellen bei. Untersuchungen von (Drechsel et al., 1992) zeigten, dass Tau die Dynamik der Mikrotubuli reguliert, indem es deren Abbau reduziert und so zur Aufrechterhaltung der Zellstruktur beiträgt. Ein gestörtes Gleichgewicht zwischen Kinasen und Phosphatasen führt jedoch zur Hyperphosphorylierung von Tau, wodurch seine normale Funktion beeinträchtigt wird (Hanger et al., 2009). Ein entscheidender pathologischer Mechanismus bei Demenz ist jedoch die abnorme Hyperphosphorylierung von Tau, die seine normale Bindung an Mikrotubuli stört und letztlich zu einem Zusammenbruch des Zytoskeletts führt (G. Perry et al., 2013). Dies begünstigt die Bildung neurofibrillärer Tangles (NFTs). (Lee et al., 1991) zeigten, dass hyperphosphoryliertes Tau (A68) der Hauptbestandteil dieser abnormen Proteinstrukturen ist, die sich intrazellulär in Alzheimer-Neuronen ansammeln. Zudem stört abnormales Tau den axonalen Transport und beeinträchtigt die Mitochondrien, was oxidativen Stress verursacht und den Zelltod fördert (Spires-Jones & Hyman, 2014).

2.3 Oxidativer Stress und mitochondriale Dysfunktion

Oxidativer Stress gilt als zentraler Mechanismus bei verschiedenen pathologischen Prozessen, einschließlich neurodegenerativer Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit. Seine Definition beruht auf einem grundlegenden Ungleichgewicht zwischen der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und der Fähigkeit des Körpers, diese durch antioxidative Mechanismen zu neutralisieren. (Marrocco et al., 2017) beschreiben oxidativen Stress als ein pathologisches Ungleichgewicht, das

auftritt, wenn die Bildung von ROS die antioxidativen Abwehrkräfte des Körpers überfordert und somit zu Zellschäden führt. Die übermäßige Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) belastet nicht nur die zellulären Abwehrmechanismen, sondern kann bei Erreichen kritischer Konzentrationen auch schwerwiegende Folgen für die Zellfunktion haben. (Liu et al., 2018; Su et al., 2019) betonen, dass hohe ROS-Konzentrationen anormale Signalwege aktivieren, die eine Kaskade von schädlichen Prozessen auslösen können. Dazu gehören Lipidperoxidation, DNA-Schäden und Proteinveränderungen, die letztlich zu zellulärer Dysfunktion und dem Fortschreiten neurodegenerativer Erkrankungen beitragen. Die schädlichen Auswirkungen reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) auf das Gehirn werden durch die Aktivität von Antioxidanziensystemen gemildert. Eine Vielzahl von Antioxidantien, darunter Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GSH-Px) und Katalase (CAT), spielen eine entscheidende Rolle bei der Neutralisierung überschüssiger freier Radikale. Diese Antioxidantien wirken als Schutzmechanismen, indem sie potenziell schädliche ROS beseitigen und dadurch Gehirnschäden verhindern (siehe *Abbildung 2*) (Q. Wang et al., 2022).

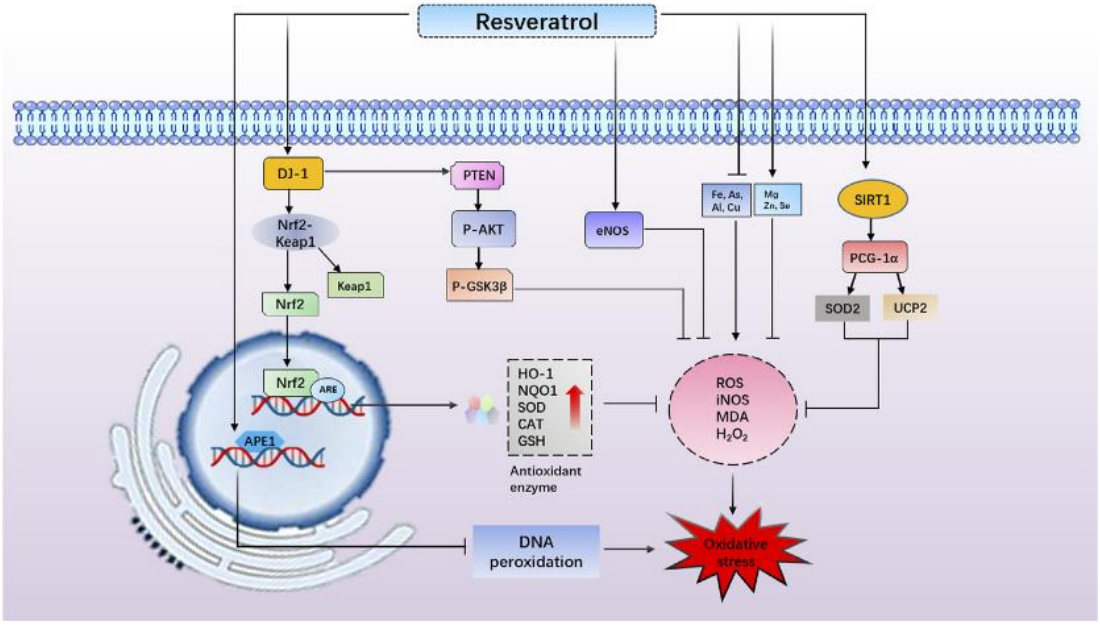

Abbildung 2: Wirkung von Resveratrol (RES) auf oxidativen Stress und antioxidative Enzyme. RES aktiviert Schutzmechanismen wie Superoxiddismutase (SOD), Glutathion (GSH) und Katalase (CAT), die schädliche reaktive Sauerstoffspezies (ROS) neutralisieren. Dadurch wird oxidativer Stress reduziert und die Zellfunktion geschützt.

Quelle: (Q. Wang et al., 2022)

Antioxidative Enzyme spielen eine entscheidende Rolle beim Schutz vor den schädlichen Auswirkungen reaktiver Sauerstoffspezies (ROS). Superoxiddismutase (SOD) gilt als erste Verteidigungslinie gegen Sauerstoffradikale. Das Enzym erfüllt eine

Doppelfunktion: Es reduziert die schädigende Wirkung von ROS und spielt gleichzeitig eine regulatorische Rolle im redoxabhängigen zellulären Signalweg (Y. Wang et al., 2018). Ein weiteres wichtiges antioxidatives Enzym ist die Glutathionperoxidase (GSH-Px), die eine zentrale Rolle beim Schutz vor oxidativen Schäden spielt. Dieses Enzym katalysiert die Umwandlung von Glutathion in seine oxidierte Form, wodurch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und Lipidperoxide wirksam neutralisiert werden (M. Wang et al., 2021). Ein weiteres wichtiges Enzym im antioxidativen Schutzsystem ist die Katalase (CAT), die als Marker-Enzym der Peroxisomen fungiert. Seine Hauptaufgabe ist es, Wasserstoffperoxid, ein zellschädigendes Nebenprodukt des Stoffwechsels, in unschädliche Stoffe wie Wasser und Sauerstoff umzuwandeln. Auf diese Weise trägt die CAT wesentlich zur Aufrechterhaltung der zellulären Homöostase bei (Nandi et al., 2019). Antioxidative Enzyme wie Katalase wirken zwar schützend gegen ROS, doch Mitochondrien, als Hauptquellen dieser reaktiven Spezies, spielen eine zentrale Rolle in der Entstehung von oxidativem Stress und dessen Auswirkungen. Mitochondrien spielen eine zentrale Rolle in der Zellfunktion, da sie nicht nur die Energieproduktion sicherstellen, sondern auch maßgeblich am oxidativen Stress beteiligt sind. Der enge Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und mitochondrialer Dysfunktion wird als Schlüsselfaktor in der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit angesehen. Eine der Hauptquellen für oxidativen Stress ist die mitochondriale Elektronentransportkette, bei der als Nebenprodukt reaktive Sauerstoffspezies (ROS) entstehen. (X. Wang et al., 2014) betonen, dass die Mitochondrien für etwa 90 % der endogenen ROS verantwortlich sind, da der unvermeidliche Elektronenverlust während des Elektronentransfers zur Bildung von Superoxidanionen führt, selbst bei Vorhandensein eines wirksamen Antioxidationssysteme. Abgesehen davon, dass Mitochondrien die Hauptquelle für endogene reaktive Sauerstoffspezies (ROS) sind, deuten Studien darauf hin, dass eine mitochondriale Dysfunktion nicht nur die ROS-Produktion weiter erhöht, sondern auch die Effizienz der ATP-Synthese deutlich verringert. Dysfunktionale Mitochondrien stellen somit eine wichtige Quelle für das bei der Alzheimer-Krankheit (AD) beobachtete oxidative Ungleichgewicht dar (Castellani et al., 2002; Gibson et al., 1998). Die Rolle der mitochondrialen Dysfunktion bei der Alzheimer-Krankheit wird zunehmend als ein zentraler und früher Mechanismus anerkannt. Wie (X. Wang et al., 2009) betonen, zeigen Studien, dass fast alle Aspekte der mitochondrialen Funktion bei der Alzheimer-Pathogenese beeinträchtigt sind, was ihre Bedeutung bei der Krankheitsentwicklung unterstreicht. Die strukturelle Schädigung der Mitochondrien ist eines der auffälligsten Merkmale in den besonders anfälligen Neuronen von Alzheimer-Patienten. Wie (Hirai et al., 2001) zeigen, weisen die Mitochondrien in den betroffenen Hirnarealen oft stark beeinträchtigte Strukturen auf, einschließlich gebrochener Kristae und eines

teilweisen oder fast vollständigen Verlusts ihrer inneren Architektur. Es wird angenommen, dass diese elektronenmikroskopisch sichtbar gemachten Schäden der bei der Alzheimer-Krankheit beobachteten erheblichen mitochondrialen Dysfunktion zugrunde liegen. Die bei Alzheimer-Patienten häufig beobachteten strukturellen Schäden an den Mitochondrien, wie sie von (Hirai et al., 2001) beschrieben wurden, bilden die Grundlage für die umfassenden mitochondrialen Funktionsstörungen. Diese Funktionsstörungen stehen in engem Zusammenhang mit einer erhöhten Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS). Wie (Yu et al., 2006) betonen, ist die übermäßige Fragmentierung (Spaltung) der Mitochondrien ein Schlüsselfaktor, der zur Entstehung dieser Schäden beiträgt. Obwohl der genaue Mechanismus, durch den die übermäßige Spaltung strukturelle Schäden an den Mitochondrien bei der Alzheimer-Krankheit verursacht, noch nicht vollständig geklärt ist, hat sich gezeigt, dass diese Fragmentierung ausreicht, um viele der bei der Alzheimer-Krankheit beobachteten schädlichen Folgen zu erklären, einschließlich des erhöhten oxidativen Stresses.

2.4 Entzündungsprozesse und Immunreaktionen

Entzündungsprozesse im zentralen Nervensystem (ZNS) spielen eine zentrale Rolle bei der Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen wie Demenz. Neuroinflammation, die durch eine Aktivierung des angeborenen Immunsystems gekennzeichnet ist, wird zunehmend als treibender Faktor für den fortschreitenden Verlust von Nervenzellen erkannt. Mikroglia, die Immunzellen des ZNS, und Astrozyten sind die Hauptakteure in diesem Prozess. Sie reagieren auf pathologische Reize mit der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen, die die neuronale Umgebung beeinflussen und langfristig zur Schädigung von Neuronen beitragen (Heneka et al., 2015; Heppner et al., 2015). Mikroglia sind in einem besonders frühen Stadium an neuroinflammatorischen Prozessen beteiligt. Während ihre Aktivierung in akuten Phasen eine schützende Wirkung haben kann, führt eine chronische Überstimulation zu einer übermäßigen Produktion von Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF-α), Interleukin-1β (IL-1β) und Interleukin-6 (IL-6). Diese Moleküle fördern Entzündungsreaktionen und oxidative Schäden, die die Pathogenese der Demenz vorantreiben (Colonna & Butovsky, 2017). Astrozyten unterstützen diese Prozesse, indem sie Entzündungssignale verstärken, aber auch indem sie die Funktion der Blut-Hirn-Schranke beeinflussen. Dysregulierte Astrozyten tragen zur Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke bei und ermöglichen peripheren Immunzellen das Eindringen in das ZNS (Sofroniew, 2015). Die Wechselwirkungen zwischen Neuroinflammation und pathologischen Proteinaggregaten, wie Amyloid-Beta-Plaques und Tau-Fibrillen, stehen im Mittelpunkt der Alzheimer-Krankheit. Amyloid-Beta-Ablagerungen aktivieren Mikroglia, was zu

einem Teufelskreis aus Entzündung und weiterer Aggregation führt (Venegas et al., 2017). Darüber hinaus deuten Studien darauf hin, dass die Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) durch aktivierte Mikroglia zur neuronalen Dysfunktion beiträgt und die Ausbreitung der Tau-Pathologie fördert (Bright et al., 2019). Neben den lokalen Entzündungsprozessen spielt auch die systemische Entzündung eine wichtige Rolle. Chronisch erhöhte Werte von proinflammatorischen Markern wie C-reaktives Protein (CRP) und Interleukin-6 im Blut wurden mit einem erhöhten Risiko für kognitive Beeinträchtigungen und Demenz in Verbindung gebracht (Walker et al., 2019). Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung eines umfassenden Verständnisses der Entzündungsmechanismen für die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze.

3 Grundlagen der Proteomik und De-Novo-Sequenzierung

3.1 Einführung in die Proteomik

Proteine sind die zentralen funktionellen Bausteine der Zelle und steuern nahezu alle biologischen Prozesse. Die Proteomik untersucht diese Proteine systematisch, um ihr Zusammenspiel und ihre Funktionen besser zu verstehen. Sie befasst sich mit der umfassenden Analyse von Proteinen und ihren Funktionen innerhalb einer Zelle. (Aebersold & Mann, 2003) beschreiben sie als ein Forschungsfeld, das darauf abzielt, das gesamte Proteinspektrum unter bestimmten biologischen Bedingungen zu erfassen und zu charakterisieren. Dies ermöglicht Einblicke in zelluläre Prozesse, die sich nicht allein aus genetischen Informationen ableiten lassen. In der biomedizinischen Forschung ist die Proteomik unverzichtbar geworden. Moderne Massenspektrometrie-Techniken haben die Analyse komplexer Proteingemische revolutioniert, indem sie eine präzise Identifikation und Quantifizierung ermöglichen. Dies verbessert das Verständnis von Krankheiten auf Proteinebene und fördert neue diagnostische sowie therapeutische Ansätze. Die Proteomik beschreibt die hohe Variabilität des Proteoms, die durch Mechanismen wie alternatives Spleißen und posttranslationale Modifikationen (PTMs) entsteht und die strukturelle sowie funktionelle Diversität von Proteinen erweitert (Smith & Kelleher, 2013). PTMs, insbesondere die Phosphorylierung, beeinflussen dabei die Struktur, Funktion und Interaktionen von Proteinen erheblich. Sie verändern die Ladung und modulieren die Aktivität sowie die Wechselwirkungen innerhalb der Zelle (Nishi et al., 2014). Diese Modifikationen sind essenziell für die Proteinfunktion, können aber durch Krankheiten gestört werden. (Hart et al., 2011) zeigten, dass Veränderungen in der O-GlcNAcylierung mit chronischen Erkrankungen assoziiert sind und Proteininteraktionen verändern. Auch Umweltstress, wie mitochondriale Schädigung, beeinflusst das Proteom. (Narendra et al., 2010) fanden heraus, dass die Kinase PINK1 unter Stressbedingungen stabilisiert wird und die Ubiquitin-Modifikation von Proteinen fördert, was deren Abbau reguliert. Dies zeigt, dass sowohl krankheitsbedingte als auch externe Faktoren PTMs beeinflussen und zur Proteom-Dynamik beitragen. Da posttranslationale Modifikationen (PTMs) die Proteom-Dynamik beeinflussen, stellen sie eine Herausforderung für die Massenspektrometrie (MS) dar, eine zentrale Methode zur Proteinidentifikation. (Eng et al., 1994) betonen, dass ein zuverlässiger Algorithmus zur Korrelation von Spektraldaten mit Proteinsequenzen essenziell ist, um Proteine in komplexen Proben valide nachzuweisen. Neben MS ist LC-MS/MS eine weitere zentrale Methode der Proteomanalyse. (Gillet et al., 2012) zeigen, dass die datenunabhängige Erfassung hierbei eine präzise und reproduzierbare Quantifizierung ermöglicht, da alle Ionen unabhängig erfasst werden und so eine konsistente Proteinanalyse gewährleistet wird. Desweiteren gilt die

Bottom-up-Proteomik als hochempfindliche Methode mit hohem Durchsatz zur groß angelegten Proteinidentifikation (Aebersold & Mann, 2003). Die Top-down-Proteomik hingegen erlaubt eine detaillierte Analyse intakter Proteine, einschließlich posttranslationaler Modifikationen und Isoformen (Catherman et al., 2014), was für die Identifikation früher Biomarker entscheidend ist. (Ray et al., 2007) zeigten, dass Veränderungen in Plasmaproteinen Alzheimer bereits vor klinischen Symptomen anzeigen können, wodurch periphere Biomarker vielversprechend für die frühe Diagnostik von Demenz sind. Ergänzend weisen proteomische Analysen darauf hin, dass ein Anstieg phosphorylierter Tau-Proteine mit dem Fortschreiten der Demenz korreliert (Y. Wang & Mandelkow, 2016). Diese Erkenntnisse unterstreichen die zentrale Rolle der Proteomik für die frühzeitige und präzise Diagnose neurodegenerativer Erkrankungen.

3.2 De-Novo-Sequenzierung

Die De-Novo-Sequenzierung in der Proteomik bestimmt die Aminosäuresequenz eines Peptids allein aus MS/MS-Spektren, ohne auf Datenbanken zurückzugreifen. (Ma et al., 2003) beschreiben sie als eine Methode, die Fragmentierungsmuster direkt analysiert, um neue, in Datenbanken nicht erfasste Sequenzen zu identifizieren – besonders nützlich bei unbekannten Proteinen. Im Gegensatz dazu vergleicht die datenbankgestützte Identifikation Spektren mit bekannten Sequenzen, was nur bei vorhandenen Einträgen funktioniert (Eng et al., 1994). Desweiteren ist die de-novo-Sequenzierung in der biomedizinischen Forschung essenziell, besonders zur schnellen Identifikation neuer Viren (Greninger et al., 2015). Eine präzise Messung von Fragmentionen spielt dabei eine entscheidende Rolle, da sie die zuverlässige Bestimmung von Peptidsequenzen ermöglicht. (Cox & Mann, 2008) betonten, dass selbst kleinste Abweichungen in der Massengenauigkeit wertvolle strukturelle Informationen liefern können. Diese Erkenntnis führte zur Entwicklung spezialisierter Software-Tools, die in groß angelegten Proteomikstudien eingesetzt werden, um die Genauigkeit und Aussagekraft der Analyseergebnisse weiter zu verbessern. (Roepstorff & Fohlman, 1984) beschrieben, dass dabei b-Ionen am N-Terminus und y-Ionen am C-Terminus entstehen – eine entscheidende Grundlage für die Peptidsequenzierung. In der De-novo-Sequenzierung kommen verschiedene Softwarelösungen zum Einsatz, die auf unterschiedlichen algorithmischen Ansätzen basieren. Ein Beispiel hierfür ist Novor (Ma, 2015), das innovative spektrale Graphalgorithmen nutzt, um eine Echtzeit-De-novo-Sequenzierung zu ermöglichen. Diese Methode verbessert die Effizienz der Analyse, indem sie die Rechenzeit verkürzt und den Workflow in der Proteomik optimiert. Ergänzend dazu zeigen (Tran et al., 2017), dass DeepNovo eine ähnlich hohe Genauigkeit wie herkömmliche datenbankgestützte Methoden erreicht, jedoch den Vorteil bietet, Peptidsequenzen unabhängig von vorhandenen Datenbanken zu

rekonstruieren. Dies verdeutlicht, dass moderne Algorithmen nicht nur die Geschwindigkeit, sondern auch die Flexibilität der Peptididentifikation erheblich verbessern. Dennoch bleibt die Sequenzbestimmung herausfordernd, da die komplexe Peptidfragmentierung zu uneindeutigen Ionenspektren führt (Ma et al., 2003). Daher sind fortschrittliche Algorithmen entscheidend, um Genauigkeit und Flexibilität der De-novo-Sequenzierung zu verbessern. Die Qualität der Massenspektren ist dabei entscheidend, da hochauflösende Spektren die Fragmentidentifikation erleichtern. Zudem können posttranslationale Modifikationen unklare Fragmentierungsmuster erzeugen und die Zuordnung erschweren (Chick et al., 2015). Auch die Peptidlänge beeinflusst die Fehlerquote, wobei kürzere Peptide meist präziser sequenziert werden können (Tran et al., 2017). Fortschrittliche Algorithmen sind daher essenziell, um diese Herausforderungen zu bewältigen und die Genauigkeit der De-novo-Sequenzierung zu verbessern. Fortschrittliche Algorithmen sowie die Standardisierung bioinformatischer Workflows sind daher entscheidend, um systematische Fehler zu minimieren und die Genauigkeit der De-novo-Sequenzierung zu verbessern (Chaisson et al., 2015). Klare Prozessabläufe erleichtern zudem den Vergleich zwischen Studien. Die De-novo-Sequenzierung wird in der Demenzforschung eingesetzt, um unbekannte Peptide zu identifizieren und mögliche virale Einflüsse zu untersuchen. Sie ermöglicht den Nachweis neuartiger Proteine ohne Referenzdatenbank. (Readhead et al., 2018) berichteten, dass in Alzheimer-Gehirngeweben vermehrt virale Peptide nachgewiesen wurden, was auf eine mögliche Beteiligung von Herpesviren hinweist.

4 Geschlechterunterschiede

4.1 Prävalenz und epidemiologische Daten

Demenzerkrankungen stellen eine wachsende gesundheitliche Herausforderung dar, wobei deutliche geschlechtsspezifische Unterschiede in der Häufigkeit der Diagnosen erkennbar sind. Zahlreiche epidemiologische Studien weisen darauf hin, dass Frauen häufiger betroffen sind als Männer. So berichten (Barnes & Yaffe, 2011), dass das Risiko für Frauen, an Alzheimer-Demenz zu erkranken, zwei- bis dreimal höher ist als für Männer. Dies führt dazu, dass der Anteil der Erkrankten bei Frauen signifikant größer ist, was die Bedeutung geschlechtsspezifischer Faktoren in der Demenzforschung unterstreicht. Die weltweiten Prävalenzraten spiegeln diese Unterschiede wider: Laut einer Metaanalyse von (Prince et al., 2013) sind 5–8 % der über 65-Jährigen von Demenz betroffen. (Jagger et al., 2000) zeigten in einer multizentrischen Studie, dass die Prävalenz in europäischen Ländern zwischen 4 % und 9 % variiert, was auf Unterschiede in Bevölkerungsstrukturen und diagnostischen Kriterien zurückzuführen ist. Auch in Nordamerika ist die Krankheitslast hoch: (Hebert et al., 2013) schätzten für 2013 rund 5,2 Millionen Alzheimer-Fälle in den USA, wobei Frauen aufgrund ihrer höheren Lebenserwartung besonders betroffen sind. Dies bestätigt die Ergebnisse von (Ott et al., 1998), die die höhere Demenzprävalenz bei Frauen ebenso teilweise mit ihrer längeren Lebenserwartung erklären. Neben sozialen und kulturellen Faktoren spielen somit auch biologische Aspekte eine Rolle, was eine differenzierte Betrachtung erfordert. In diesem Zusammenhang stellten (Mielke et al., 2014) fest, dass Frauen nicht nur eine höhere Prävalenz aufweisen, sondern auch eine stärkere Krankheitslast tragen. Sie zeigten im Untersuchungszeitraum mehr Symptome und einen schwereren klinischen Verlauf, was darauf hindeutet, dass geschlechtsspezifische biologische Faktoren eine entscheidende Rolle in der Krankheitsprogression spielen. Ebenso weisen sie darauf hin, dass Frauen häufig einen schnelleren kognitiven Abbau erleiden, insbesondere im Bereich des Gedächtnisverlusts, was die geschlechtsspezifische Demenzprogression weiter untermauert.

4.2 Biologische und hormonelle Faktoren

Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Gehirnstruktur und -funktion bilden eine wesentliche Grundlage für die Untersuchung biologischer und hormoneller Einflüsse auf neurodegenerative Erkrankungen. (Ruigrok et al., 2014) identifizierten in ihrer Metaanalyse deutliche Volumenunterschiede in bestimmten Hirnregionen wie dem Temporallappen und Hippocampus, die funktionelle Differenzen erklären könnten. Auch funktionelle Bildgebungsstudien zeigen, dass Männer und Frauen emotionale Reize unterschiedlich verarbeiten und dabei verschiedene neuronale Netzwerke aktivieren

(Sacher et al., 2013). Diese strukturellen und funktionellen Unterschiede könnten auch die Wirkung von Hormonen wie Östrogen beeinflussen. Estradiol besitzt neuroprotektive Eigenschaften, wirkt als Antioxidans und kann in niedrigen Konzentrationen die Hirndurchblutung verbessern. Seine Wirkung ist jedoch dosisabhängig und erfolgt sowohl über Östrogenrezeptoren als auch durch rezeptorunabhängige Mechanismen. Diese Prozesse beeinflussen die proteomischen Profile, die mit neuroprotektiven Effekten in verschiedenen Hirnregionen verbunden sind (Garcia-Segura et al., 2001). Der Rückgang des Östrogenspiegels wird nach der Menopause mit einem erhöhten Alzheimer-Risiko in Verbindung gebracht. Studien deuten darauf hin, dass eine Hormonersatztherapie (HRT) dieses Risiko senken könnte, da Frauen unter HRT ein geringeres relatives Risiko für AD aufwiesen. Diese Ergebnisse legen nahe, dass HRT kognitive Vorteile bieten kann und daher bei der Abwägung von Risiken und Nutzen berücksichtigt werden sollte (Kawas et al., 1997). Auch Testosteron könnte eine schützende Rolle spielen, indem es die Aggregation des Tau-Proteins, einem zentralen Faktor der Alzheimer-Krankheit, beeinflusst. Die genauen Mechanismen sind jedoch noch nicht vollständig erforscht (Lisco et al., 2020). Ein sinkender Testosteronspiegel kann die Gehirngesundheit unter anderem durch seine Wirkung auf die Blutgefäße beeinflussen. Testosteron trägt zur Erhaltung gesunder Blutgefäße bei, die für die Versorgung des Gehirns mit Sauerstoff und Nährstoffen essenziell sind. Ein niedriger Testosteronspiegel kann zu Gefäßschäden führen und die Durchblutung des Gehirns verringern, was wiederum kognitive Beeinträchtigungen begünstigt und das Demenzrisiko erhöht. Die Aufrechterhaltung eines stabilen Testosteronspiegels könnte daher eine unterstützende Rolle für die Gehirnfunktion und Durchblutung spielen (Aulston et al., 2013).

4.3 Genetische und epigenetische Unterschiede

Einflussreiche genetische Faktoren spielen eine wesentliche Rolle bei der Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen wie Demenz. Insbesondere geschlechtsspezifische Unterschiede in der Genexpression könnten zur unterschiedlichen Anfälligkeit für diese Erkrankungen beitragen. In diesem Zusammenhang rückt das Y-Chromosom in den Fokus, da es ausschließlich bei Männern vorkommt und Gene enthält, die sowohl für die Geschlechtsbestimmung als auch für männlich-spezifische Funktionen relevant sind. Neuere Studien weisen darauf hin, dass diese Gene möglicherweise auch an Prozessen beteiligt sind, die mit Demenz und kognitiver Resilienz in Verbindung stehen. Vor diesem Hintergrund ist die Untersuchung der Expressionsmuster und Funktionen Y-chromosomaler Gene wie SRY, TSPY, USP9Y und UTY von besonderem Interesse, da sie dazu beitragen kann, geschlechtsspezifische Unterschiede bei Alzheimer und anderen neurodegenerativen Erkrankungen besser zu

verstehen. Obwohl diese Gene vorrangig für ihre Rolle in der Hodenentwicklung und Spermatogenese bekannt sind, wurde ihre Expression auch im Gehirn nachgewiesen. Dies legt nahe, dass sie nicht nur in der Reproduktion, sondern auch in neuronalen Prozessen eine Funktion übernehmen und möglicherweise die Anfälligkeit für neurologische Erkrankungen beeinflussen (Boas et al., 2023; Pinares-Garcia et al., 2018). Ein zentrales Gen auf dem Y-Chromosom ist SRY, das eine entscheidende Rolle bei der männlichen Geschlechtsbestimmung spielt. Neben seiner Funktion in der Hodenentwicklung beeinflusst SRY auch dopaminerge Prozesse im Gehirn. Untersuchungen deuten darauf hin, dass eine gestörte Regulation dieses Gens mit neuropsychiatrischen und neurodegenerativen Erkrankungen wie ADHS und Parkinson in Verbindung stehen könnte. Dies unterstreicht die Bedeutung der Y-chromosomalen Genexpression für geschlechtsspezifische Unterschiede in der Anfälligkeit für neurologische Erkrankungen. Ebenso rücken die TSPY-Gene in den Fokus, die vorwiegend in den Hoden exprimiert werden und eine Rolle in der männlichen Fertilität spielen. Ob sie auch mit Demenzerkrankungen assoziiert sind, ist noch unklar und bedarf weiterer Forschung. Neben TSPY zählt auch USP9Y zu den bedeutenden Genen des Y-Chromosoms und spielt eine relevante Rolle in dessen genetischer Ausstattung, was seine potenzielle Bedeutung für neurodegenerative Erkrankungen unterstreicht (Skaletsky et al., 2003). Studien haben gezeigt, dass USP9Y eine Rolle in der Spermatogenese spielt (Bachtrog, 2013). Dabei deuten Untersuchungen darauf hin, dass USP9Y an Zellsignalprozessen beteiligt sein könnte. Daher ist es von Interesse, ob dieses Gen eine Funktion im Gehirn übernimmt oder möglicherweise mit der Entstehung von Demenz in Verbindung steht. Zukünftige Studien könnten die potenzielle Rolle von USP9Y bei neurodegenerativen Erkrankungen näher beleuchten (Hamley, 2012). In diesem Zusammenhang rückt auch UTY als weiteres relevantes Y-chromosomales Gen in den Fokus, da es ebenfalls eine bedeutende Rolle in diesen Prozessen spielen könnte (Pinares-Garcia et al., 2018). Das UTY-Gen kodiert für eine Histon-Demethylase und ist an der epigenetischen Regulation beteiligt. Obwohl seine genaue Funktion im Gehirn noch nicht vollständig verstanden ist, könnte die weitere Erforschung von UTY neue Erkenntnisse über die Mechanismen neurodegenerativer Erkrankungen liefern (Moore et al., 2013). In diesem Zusammenhang ist besonders interessant, dass Y-chromosomale Gene zwar primär mit der männlichen Entwicklung und Funktion assoziiert sind, jedoch in manchen Fällen auch in weiblichen Proben exprimiert werden können. Diese unerwartete Genaktivität könnte wichtige Hinweise auf geschlechtsspezifische Unterschiede in der Krankheitsentstehung liefern, insbesondere im Hinblick auf Demenz (Bachtrog, 2013). Ein möglicher Erklärungsansatz für das Auftreten von Y-chromosomalen Proteinen in weiblichen Proben sind genetische Anomalien. Da Y-chromosomale Gene normalerweise bei Frauen nicht aktiv

sind, könnte ihr Nachweis auf fehlerhafte Genexpression oder strukturelle Veränderungen im Erbgut zurückzuführen sein. Eine mögliche Ursache sind XY-Translokationen, bei denen Abschnitte des Y-Chromosoms fälschlicherweise mit dem X-Chromosom verbunden werden, was zur Expression dieser Gene in weiblichen Zellen führen kann. Dies kann zur Expression Y-chromosomaler Gene in weiblichen Zellen führen, bedingt durch fehlerhafte Chromosomenaufteilung und Rekombinationsprozesse. Obwohl selten, sind die genauen Auswirkungen dieser Fehlregulation noch unklar, könnten aber Zellfunktionsstörungen begünstigen (Ross et al., 2005). Zusätzlich können epigenetische Veränderungen oder regulatorische Modifikationen die Genaktivität ohne DNA-Veränderung beeinflussen. Umweltfaktoren oder krankheitsbedingte Prozesse könnten so eine untypische Aktivierung Y-chromosomaler Gene in weiblichen Zellen begünstigen (Bachtrog, 2013). Die X-Chromosomen-Inaktivierung (XCI) spielt eine zentrale Rolle, um die Genexpression zwischen Frauen mit zwei X-Chromosomen und Männern mit nur einem X-Chromosom auszugleichen. Bei Frauen wird eines der beiden X-Chromosomen größtenteils inaktiviert. Allerdings ist diese Inaktivierung nicht vollständig, da einige Gene auf dem inaktiven X-Chromosom (Xi) weiterhin exprimiert werden können (siehe *Abbildung 3*) (Ross et al., 2005; Tukiainen et al., 2017).

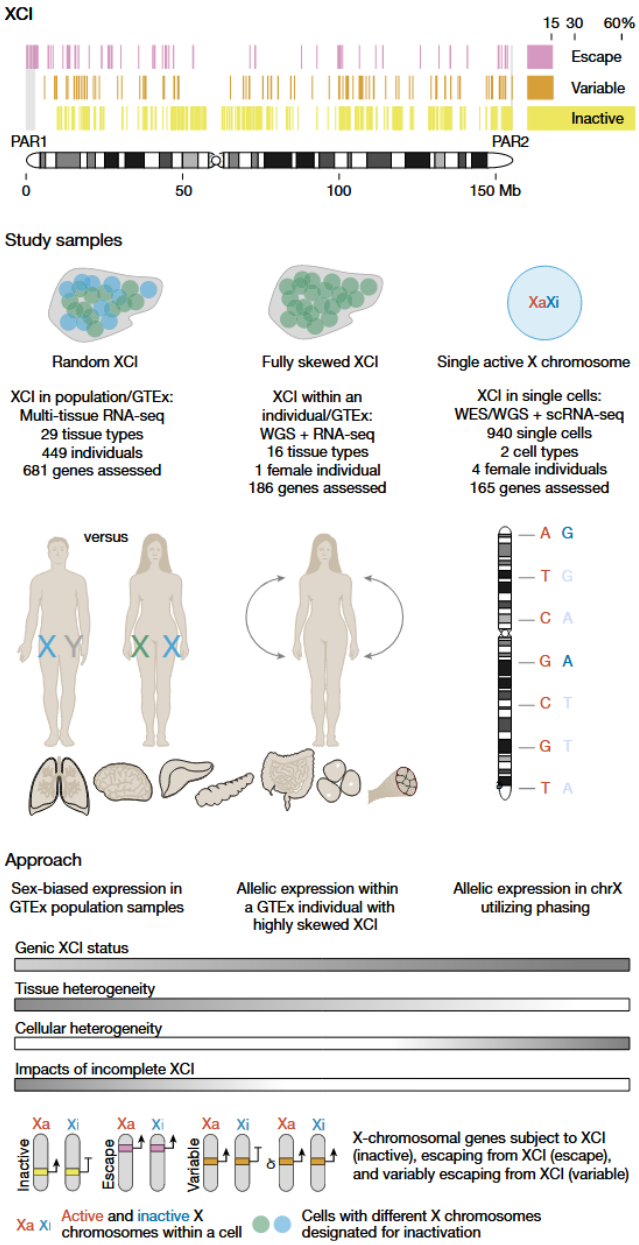

Abbildung 3: Schematische Darstellung der X-Chromosomen-Inaktivierung (XCI). Bei Frauen wird eines der beiden X-Chromosomen größtenteils inaktiviert (Xi), während das andere aktiv bleibt (Xa). Manche Gene entkommen jedoch der Inaktivierung („Escape"), was zu geschlechtsspezifischen Unterschieden in der Genexpression führen kann.

Quelle: (Tukiainen et al., 2017)

Eine unvollständige XCI kann geschlechtsspezifische Unterschiede in der Genexpression verursachen und so die Entwicklung von Demenz beeinflussen. Ein Beispiel hierfür ist das X-chromosomale Gen APOE, dessen Expression durch hormonelle Faktoren gesteuert wird. Da Frauen in klinischen Studien lange unterrepräsentiert waren, sind die geschlechtsspezifischen Auswirkungen von APOE auf die Krankheitsanfälligkeit, insbesondere im Zusammenhang mit Demenz, noch nicht vollständig verstanden (Fish, 2008; Tukiainen et al., 2017).

5 Virale Mechanismen und immunologische Hypothesen

5.1 Virale Beiträge zur Pathogenese der Demenz

Viren spielen eine zunehmend anerkannte Rolle bei der Entstehung und dem Fortschreiten neurodegenerativer Erkrankungen. Aufgrund ihrer Fähigkeit, das zentrale Nervensystem direkt oder indirekt zu beeinflussen, können sie eine Vielzahl von pathologischen Prozessen auslösen. Infektionen des zentralen Nervensystems, insbesondere solche mit chronischem, progressivem Verlauf, können erhebliche Schäden an betroffenen und benachbarten Zellen verursachen. Die Aktivierung von Entzündungsprozessen und Immunreaktionen des Wirts führen zu chronischen Beeinträchtigungen, die die Funktion und Lebensfähigkeit von Neuronen verändern. Darüber hinaus können bestimmte Krankheitserreger direkt neurotoxische Mechanismen auslösen (De Chiara et al., 2012). Wiederholte Zyklen der Erregerreplikation im zentralen Nervensystem verstärken diese Auswirkungen, indem sie funktionelle und molekulare Kennzeichen der Neurodegeneration hervorrufen. Dazu gehören die Fehlfaltung von Proteinen, die Ablagerung falsch gefalteter Proteinaggregate, oxidativer Stress und apoptotischer Zelltod. Diese durch Krankheitserreger verursachten Schäden akkumulieren sich im Laufe der Zeit und werden durch Stoffwechselstörungen, genetische Veränderungen und andere umweltbedingte Risikofaktoren weiter verschärft, was den neurodegenerativen Prozess beschleunigt (De Chiara et al., 2012). Zu diesen Erregern gehören Viren, Bakterien, Protozoen und ungewöhnliche Krankheitserreger wie Prionproteine, die das zentrale Nervensystem infizieren können. Sie können akute Infektionen verursachen, die potenziell tödlich sein können, oder sich zu chronischen Krankheiten entwickeln (Kristensson, 2011; McGavern & Kang, 2011). Bei immunkompetenten Menschen mit intakter Blut-Hirn-Schranke (BHS) ist dies jedoch stark eingeschränkt, da nur wenige Krankheitserreger das Gehirn über das Blut infizieren können. Die BHS und die Barriere des Liquorraums verhindern die unkontrollierte Diffusion von Gefäß- und Zellbestandteilen und bieten so einen wirksamen Schutz (De Chiara et al., 2012). Es gibt jedoch Ausnahmen, wie die Viren der Lentivirus-Familie, zu der auch HIV gehört. Diese überwinden die Blut-Hirn-Schranke durch den sogenannten "Trojanisches-Pferd-Mechanismus" (siehe *Abbildung 4*) (Haase, 1986; Peluso et al., 1985). Sie nutzen infizierte Leukozyten, um das Immunsystem zu umgehen und über den Blutkreislauf ins Gehirn zu gelangen.

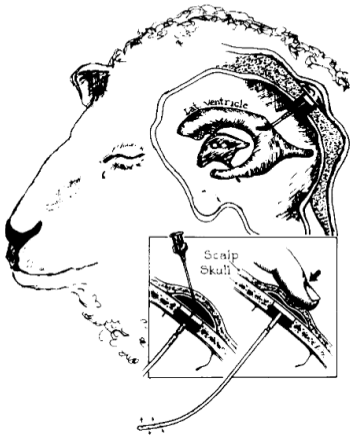

Abbildung 4: Der "Trojanisches-Pferd-Mechanismus" ermöglicht es Viren, die Blut-Hirn-Schranke (BHS) mithilfe infizierter Immunzellen zu überwinden und ins zentrale Nervensystem (ZNS) zu gelangen.

Quelle: (Peluso et al., 1985)

Neben diesem Mechanismus stellen periphere Nervenendigungen in der Haut und den Schleimhäuten einen weiteren Eintrittsweg für Viren dar, die das zentrale Nervensystem infizieren. Je nach spezifischer Ausprägung der viralen Rezeptoren greifen neurotrope Viren gezielt bestimmte periphere Nervenendigungen an, wie sensorische, motorische oder olfaktorische Neuronen. Nach der Infektion nutzen diese Viren zelluläre Strukturen wie axonale Mikrotubuli und von Mikrotubuli abhängige Motorproteine (Hirokawa & Noda, 2008) um über den retrograden axonalen Transport von der Zellperipherie zum Zellkörper zu gelangen. Dort nutzen sie die synthetische Maschinerie der Zelle für ihre Replikation und kehren anschließend durch anterograden Transport zur Zellperipherie zurück, um sich auf weitere Zielzellen auszubreiten (Hsieh et al., 2010). Ein Beispiel für die Auswirkungen solcher Infektionen liefert (Ng et al., 2010) die zeigen konnten, dass das H5N1-Virus menschliche astrozytäre und neuronale Zellen infiziert, was sowohl eine direkte Zellschädigung als auch die Aktivierung von pro-inflammatorischen Zytokinkaskaden auslöst. Eine erhöhte Expression von IL-6 undTNF-αmRNA wurde sowohl in astrozytären als auch in neuronalen Zellen (menschliche Glioblastom- und Neuroblastomzellen) 6 und 24 Stunden nach der Infektion festgestellt. Darüber hinaus führte die Behandlung mitTNF-αzur Apoptose sowie zu proinflammatorischen Zytokin- und Chemokin-Reaktionen, die Entzündungsreaktionen in differenzierten Zellen auslösten. In ähnlicher Weise hat sich gezeigt, dass HSV-1 deutliche Veränderungen der neuronalen Erregbarkeit und der intrazellulären Ca2+-Signalgebung verursacht, was zu einer Phosphorylierung von APP und einer intrazellulären Anhäufung vonAβin kortikalen Neuronen der Ratte führt (Piacentini et al., 2011). Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass HSV-1 amyloidogene Spaltungen von APP auslöst, die durch die Wirkung von β-Sekretase, γ-

Sekretase und Caspase-3-ähnlichen Enzymen vermittelt werden. Diese Prozesse führen zur Bildung und intrazellulären Akkumulation verschiedener APP-Fragmente, einschließlich monomerer und oligomerer Aβ-Formen, die für ihre neurotoxischen Eigenschaften bekannt sind (Chiara et al., 2010). Jüngste Studien legen jedoch nahe, dassAβ-Peptideauch antimikrobielle Eigenschaften haben (Soscia et al., 2010) und fungieren möglicherweise als Abwehrmoleküle des angeborenen Immunsystems. Dies unterstützt die Hypothese, dass Infektionserreger an der Pathogenese und Ätiologie der Alzheimer-Krankheit beteiligt sein könnten. Die Anhäufung von Aβ und die Bildung von Plaques könnte demnach auf eine Überproduktion von Aβ-Peptiden zurückzuführen sein, die als Abwehrmechanismus gegen pathogene neuroinvasive Erreger dient. Eine mögliche Verbindung wird durch HSV-1 hergestellt, das eine lebenslange latente Infektion in sensorischen Neuronen etablieren kann, insbesondere in den Zellkörpern, die die Region der Primärinfektion versorgen (Baringer & Swoveland, 1973). Diese Latenzphase ist durch das Vorhandensein eines funktionsfähigen viralen Genoms gekennzeichnet, ohne dass infektiöse Viren produziert werden. Während dieser Zeit sind die Latenz-assoziierten Transkripte (LATs) die einzigen dominanten Transkripte (Stevens et al., 1987) deren Rolle bei der Bildung von funktionellen Peptiden oder Proteinen nach wie vor Gegenstand wissenschaftlicher Debatten ist (Henderson et al., 2009). Die Reaktivierung aus der Latenzzeit kann jedoch durch verschiedene äußere Reize wie Stress oder Immunsuppression ausgelöst werden, die die Expression von Virusgenen aktivieren. Die neu gebildeten Virionen werden dann zu den ursprünglichen Infektionsstellen transportiert, wo sie bei manchen Menschen wiederkehrende herpetische Läsionen verursachen können. Interessanterweise gilt das APOE4-Allel als Risikofaktor für das Auftreten solcher wiederkehrender herpetischer Läsionen (Itzhaki et al., 1997; Koelle et al., 2010). (Carter, 2011) geht noch einen Schritt weiter und untersucht die Hypothese, dass die Aktivierung des Immunsystems durch andere Erreger, die mit der Alzheimer-Krankheit in Verbindung gebracht werden (z. B. *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae* und andere (Honjo et al., 2009) könnte das empfindliche Gleichgewicht zwischen HSV-1 und den neuronalen Wirtszellen stören. Eine solche Störung könnte nicht nur die virale Zerstörung fördern, sondern auch zu einem Verlust von Neuronen führen. Dies deutet darauf hin hin, dass die Aktivierung des Immunsystems ein starker Auslöser für neuronalen Zelltod durch entzündliche Mediatoren sein könnte (Conrady et al., 2010).

5.2 Immunreaktionen und Autoimmunität

Das Immunsystem spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung von neurodegenerativen Erkrankungen wie Demenz, wobei eine Dysregulation des Immunsystems das Fortschreiten der Krankheit fördern kann. Insbesondere die Autoimmunität hat sich

als beitragender Faktor erwiesen. Fehlgeleitete Immunreaktionen, die sich gegen körpereigene Antigene im Gehirn richten, können chronische Entzündungen, neuronale Schäden und kognitive Beeinträchtigungen auslösen (V. H. Perry & Holmes, 2014; Schwartz & Baruch, 2014). Im Zusammenhang mit Demenz werden Mikrogliazellen, die Immunzellen des zentralen Nervensystems (ZNS), durch fehlgefaltete Proteine wie Amyloid beta und Tau aktiviert. Diese Aktivierung führt zur Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen, Chemokinen und reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), die das Entzündungsmilieu verstärken und die neuronalen Schäden verschlimmern (Heneka et al., 2018). Langfristig können diese Prozesse neuronale Netzwerke stören, was zum Verlust von Synapsen und den kognitiven Beeinträchtigungen führt, die für die Alzheimer-Krankheit charakteristisch sind (Colonna & Butovsky, 2017). Auch Autoimmunmechanismen spielen eine wichtige Rolle, wie das Vorhandensein von hirnreaktiven Antikörpern zeigt. Diese Antikörper, die sich gegen neuronale oder synaptische Proteine richten, werden zunehmend bei Patienten mit Alzheimer und anderen Demenzerkrankungen nachgewiesen. Ihr Vorhandensein deutet auf eine gestörte Immuntoleranz hin, die mit einer Störung der Blut-Hirn-Schranke verbunden sein kann (Diamond et al., 2009). Darüber hinaus beeinflusst eine systemische Immunaktivierung, die durch Infektionen oder chronische Entzündungen ausgelöst wird, die Immunantwort im ZNS. Periphere Immunzellen können in das Gehirn eindringen, wenn die Blut-Hirn-Schranke beeinträchtigt ist, was lokale Entzündungen und neuronale Schäden verschlimmert (Walker et al., 2019). Diese bidirektionale Interaktion zwischen systemischer und zerebraler Immunität verdeutlicht die Komplexität von Immunreaktionen bei Demenz und wie Autoimmunprozesse als Verstärker der Neurodegeneration wirken können. Das Verständnis der Rolle von Immunreaktionen und Autoimmunität bei Demenz eröffnet Möglichkeiten für therapeutische Interventionen. Immunmodulierende Ansätze, wie monoklonale Antikörper gegen Amyloid beta oder Tau, werden als mögliche Behandlungsstrategien erforscht. Darüber hinaus könnten Therapien, die die Integrität der Blut-Hirn-Schranke wiederherstellen oder die systemische Immunaktivierung regulieren, dazu beitragen, das Fortschreiten der Krankheit zu verlangsamen (Schwartz & Baruch, 2014; Walker et al., 2019).

5.3 Nachweis und Identifizierung von Virus- und Immunsignaturen

Der Nachweis von viralen und immunologischen Signaturen bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Demenz ist ein wichtiges Forschungsgebiet. Virale Proteine und Komponenten des Immunsystems können eine zentrale Rolle beim Fortschreiten der Krankheit spielen, entweder als Auslöser oder als Verstärker einer chronischen Neuroinflammation. Die Erkennung solcher Signaturen in Proteomik-Datensätzen liefert wertvolle Erkenntnisse über ihre mögliche Beteiligung an der Pathogenese der

Demenz (De Chiara et al., 2012). Moderne Fortschritte in der Proteomik, einschließlich der De-novo-Sequenzierung, ermöglichen den Nachweis von viralen Peptiden und immunologischen Proteinen in menschlichem Hirngewebe. Studien haben gezeigt, dass virale Proteine, insbesondere vom Herpes-Simplex-Virus 1 (HSV-1), mit der Amyloid-Beta-Aggregation und neuronalen Schäden in Verbindung gebracht werden. So zeigten (Piacentini et al., 2011), dass HSV-1 die Phosphorylierung des Amyloid-Vorläuferproteins (APP) induzieren und die Amyloid-Beta-Akkumulation in Neuronen fördern kann, was auf eine mögliche Beteiligung von Viren an der Alzheimer-Pathologie hinweist. Neben viralen Markern spielen auch immunologische Signaturen wie Antikörper und Zytokine eine entscheidende Rolle bei der Neuroinflammation. Hirnreaktive Antikörper, die gegen neuronale Proteine oder Amyloid-beta gerichtet sind, wurden bei Alzheimer-Patienten nachgewiesen, was die Bedeutung von Autoimmunkomponenten im Krankheitsverlauf unterstreicht (Diamond et al., 2009). Darüber hinaus wurden erhöhte Werte von proinflammatorischen Zytokinen wie Interleukin-6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-α) festgestellt, die mit neuronalen Schäden und kognitivem Abbau korrelieren (Heneka et al., 2018). Proteomische Daten zeigen auch eine Interaktion zwischen dem Immunsystem und Virusinfektionen. (Soscia et al., 2010) schlugen vor, dass Amyloid-Beta antimikrobielle Eigenschaften hat und Teil der angeborenen Immunabwehr des Gehirns gegen Krankheitserreger ist. Diese Hypothese legt nahe, dass die Ablagerung von Amyloid-Beta eine Reaktion auf chronische Virusinfektionen wie HSV-1 sein könnte, was den Zusammenhang zwischen viraler Aktivität und der Entstehung von Demenz weiter untermauert. Trotz dieser Erkenntnisse ist es nach wie vor schwierig, virale und immunologische Signaturen, die spezifisch für Demenz sind, von denen zu unterscheiden, die mit allgemeinen Entzündungen oder anderen Krankheiten in Verbindung stehen. Fortgeschrittene computergestützte Analysewerkzeuge und integrative Ansätze sind unerlässlich, um diese Biomarker in komplexen Proteomdatensätzen präzise zu identifizieren und zu charakterisieren (Venegas et al., 2017).

6 Methodik

6.1 Beschreibung der durchgeführten Studie

Die in dieser Arbeit verwendeten Rohdatensätze stammen aus dem PRIDE-Archiv (Proteomics Identifications Database). Die Auswahl der Daten erfolgte gezielt, um eine umfassende Analyse neurodegenerativer Erkrankungen zu ermöglichen. In dieser Arbeit wurden insgesamt 150 Proben (Raw-Dateien) aus verschiedenen PRIDE-Datensätzen analysiert, um proteomische Veränderungen bei neurodegenerativen Erkrankungen zu untersuchen. Die Proben stammen aus postmortalen Gehirngeweben, Liquorproben und Zellkulturmodellen. Die untersuchten Krankheiten umfassen Alzheimer-Krankheit (AD), Frontotemporale Demenz (FTD), Lewy-Body-Demenz (DLB), Parkinson-Krankheit (PD), Progressive Supranukleäre Paralyse (PSP) und Amyotrophe Lateralsklerose (ALS). Die Auswahl der Proben erfolgte gezielt, um geschlechtsspezifische Unterschiede und krankheitsspezifische Veränderungen im Proteom zu erfassen. Die Alzheimer-Proben (50) umfassten postmortale Gehirngewebe aus dem Frontalcortex, wobei sowohl frühe (MCI) als auch fortgeschrittene Stadien berücksichtigt wurden. Methoden wie LC-MS/MS und TMT-Labeling ermöglichten eine detaillierte Analyse synaptischer und Tau-assoziierter Proteine. Besonders auffällig war eine verstärkte Ubiquitylation von Tau in männlichen Patientenproben (PXD009199), während in weiblichen Proben vermehrt mitochondriale Dysfunktionen beobachtet wurden (PXD010560). Zusätzlich wurden präklinische und symptomatische Alzheimer-Proben verglichen, um Proteomveränderungen im Krankheitsverlauf zu untersuchen (PXD020020). Die FTD-Proben (40) beinhalteten sowohl Liquorproben (PXD012178) als auch postmortale Gehirngewebe (PXD012131). In den Liquorproben konnten synaptische Proteine als potenzielle Biomarker für frühe FTD-Stadien identifiziert werden. Besonders relevant war der Vergleich zwischen präsymptomatischen und symptomatischen Mutationsträgern, um krankheitsbedingte Veränderungen frühzeitig zu detektieren. Die Gehirnproben wurden regionenspezifisch analysiert, um geschlechtsspezifische Unterschiede in der Proteinexpression zu untersuchen. Für die Lewy-Body-Demenz (25 Proben) wurden Gehirnproben aus dem olfaktorischen Bulbus (PXD016069) untersucht, da diese Region eine zentrale Rolle in der DLB-Pathogenese spielt. Hier zeigte sich eine erhöhte Expression von α-Synuclein sowie eine Dysregulation des Ubiquitin-Proteasom-Systems. Zusätzliche Vergleiche zwischen DLB-, Alzheimer- und Parkinson-Proben (PXD011446) ermöglichten die Identifikation gemeinsamer und krankheitsspezifischer Proteomanalysen. Die Parkinson-Proben (15) wurden mit Alzheimer- und PSP-Proben verglichen (PXD011446), um Proteinsignaturen zu identifizieren, die für neurodegenerative Erkrankungen charakteristisch sind. Diese Daten tragen dazu bei, krankheitsspezifische Biomarker zu

bestimmen, die für eine differenzierte Diagnose genutzt werden könnten. Für PSP (10 Proben) wurden postmortale Gehirnproben aus PXD011446 analysiert, um Proteinveränderungen im Vergleich zu anderen Demenzformen zu untersuchen. Besonders auffällig war die Dysregulation von Proteinen, die mit neuronaler Degeneration und mikroglialer Aktivierung in Verbindung stehen. Die ALS-Proben (10) wurden ebenfalls mit PSP- und Parkinson-Proben verglichen, um proteomische Gemeinsamkeiten und Unterschiede zu erfassen. Dabei konnten potenzielle Biomarker für ALS identifiziert werden, die sich durch spezifische Veränderungen in der Proteinexpression auszeichnen. Zusammenfassend ermöglichen die analysierten 150 Proben eine detaillierte Untersuchung neurodegenerativer Erkrankungen. Die Kombination aus postmortalen Gehirnproben, Liquorproben und Zellkulturmodellen bietet eine umfassende Basis für weiterführende Analysen zur Identifikation von Biomarkern und potenziellen Therapieansätzen. Diese Ergebnisse liefern wertvolle Einblicke in geschlechtsspezifische und krankheitsspezifische Proteomanalysen, die für zukünftige diagnostische und therapeutische Strategien von Bedeutung sind.

6.2 Analyse der De-Novo-Sequenzierung

Die de novo Sequenzierung wurde mit den Tools Casanovo, DeepNovo und Novor durchgeführt, um Peptidsequenzen direkt aus den Rohdaten zu extrahieren. Da jedes dieser Programme unterschiedliche algorithmische Ansätze nutzt, wurden ihre Vorhersagen kombiniert, um die Zuverlässigkeit der Peptididentifikation zu maximieren und Fehlklassifikationen zu minimieren.

Die generierten Peptidlisten wurden pro Rohdatensatz konsolidiert und in das FASTA-Format überführt. Diese standardisierten Listen bildeten die Grundlage für die Erweiterung der Referenzproteomdatenbank. Die Sequenzen wurden mit bestehenden Proteindatenbanken abgeglichen, um bekannte Peptide zu identifizieren. Peptide, die nicht in diesen Datenbanken enthalten waren, wurden als potenziell neue Sequenzen markiert und in eine erweiterte Proteomdatenbank integriert. Anschließend wurden die ursprünglichen Rohdaten erneut mit dieser erweiterten Datenbank analysiert, um sowohl bekannte als auch neu identifizierte Peptide zuverlässig zu detektieren. Diese erneute Analyse diente der Validierung der erweiterten Datenbank und ermöglichte eine genauere Einordnung der Peptidsequenzen.

6.2.1 Bestimmung der Häufigkeit der Peptidvorhersagen

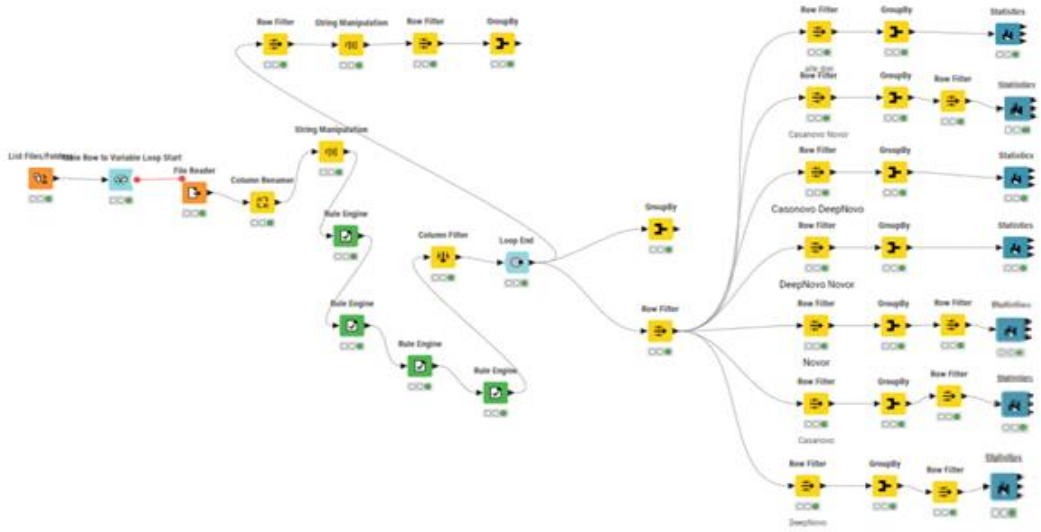

Abbildung 5: KNIME-Workflow zur Verteilung der Peptidvorhersagen durch die De-Novo-Sequenzierungstools Casanovo, DeepNovo und Novor

Quelle: Eigene Darstellung

Die Analyse der Peptidvorhersagen wurde durch einen „KNIME-Workflow“ realisiert (siehe *Abbildung 5*), um Peptide zu identifizieren, die von mehreren De-Novo-Tools vorhergesagt wurden. Ziel dieser Analyse ist es, die Konsistenz der Vorhersagen zu bewerten und relevante Sequenzen zu priorisieren. Dazu wurden die Peptidvorhersagen aus verschiedenen Quellen eingelesen, standardisiert und für die Analyse vorbereitet. Anschließend wurden die Peptidsequenzen gruppiert, um jene zu bestimmen, die von mehreren Tools vorhergesagt wurden. Die Häufigkeit dieser Vorhersagen wurde berechnet, um die Konsistenz der Ergebnisse zu validieren.

Eine zentrale Forschungsfrage dieser Arbeit ist, ob das biologische Geschlecht anhand von Proteindaten zuverlässig bestimmt werden kann. Diese Analyse liefert eine Grundlage dafür, indem sie die Wiederholbarkeit der Peptidvorhersagen überprüft. Peptide, die geschlechtsspezifische Proteine repräsentieren und mehrfach vorhergesagt wurden, können als potenzielle Marker für die Geschlechtsbestimmung dienen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung ermöglichen es, geschlechtsspezifische Muster in den Proteindaten zu erkennen und deren Relevanz für die Geschlechtszuordnung zu bewerten.

6.2.2 Verfahren zur Geschlechtsbestimmung

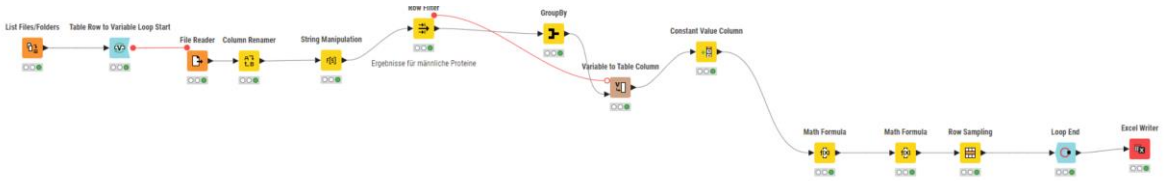

Abbildung 6: KNIME-Workflow zur Geschlechtsbestimmung anhand Y-chromosomaler Peptide

Quelle: Eigene Darstellung

Abbildung 7: KNIME-Workflow zur Identifikation proteotypischer Y-chromosomaler Peptide

Quelle: Eigene Darstellung

Die Bestimmung des biologischen Geschlechts anhand von Proteindaten erfolgt durch die Identifikation spezifischer Peptide, die geschlechtschromosomalen Proteinen zugeordnet werden können. Dazu wurde ein „KNIME-Workflow“ entwickelt (siehe *Abbildung 6*), der Peptidlisten systematisch nach bekannten geschlechtsspezifischen Markern analysiert. Der Workflow beginnt mit dem Import und der Aufbereitung der Daten, wobei Peptidsequenzen aus verschiedenen Quellen eingelesen, standardisiert und aufbereitet werden. Anschließend erfolgt die Identifikation geschlechtsspezifischer Peptide durch einen Abgleich mit bekannten Markern wie *SRY, TSPY, USP9Y, UTY* für männliche Proben. Peptide, die mit diesen Proteinen übereinstimmen, werden als Indikatoren für das männliche Geschlecht klassifiziert. Fehlen diese Peptide, wird die Probe als potenziell weiblich eingeordnet.

Zusätzlich wurden *proteotypische Y-chromosomale Peptide* analysiert, die eine besonders hohe Spezifität für das männliche Geschlecht aufweisen (siehe *Abbildung 7*). Diese Peptide wurden gezielt extrahiert und gefiltert, um eine hohe Genauigkeit bei der Geschlechtsbestimmung sicherzustellen. Durch den Einsatz von *String-Manipulation- und Row-Filter-Methoden* konnten diese Sequenzen isoliert und separat ausgewertet werden. Die prototypischen Y-chromosomalen Peptide dienen als besonders verlässliche Marker, da sie ausschließlich auf dem Y-Chromosom kodierte Proteine repräsentieren und keine Überlappung mit weiblichen Sequenzen aufweisen. Nach der Kategorisierung der Peptide erfolgt eine statistische Auswertung, um die

Zuverlässigkeit der Geschlechtsbestimmung zu überprüfen. Dabei wird analysiert, wie häufig geschlechtsspezifische Peptide in den Proben vorkommen und ob eine eindeutige Trennung zwischen männlichen und weiblichen Proben möglich ist. Diese Methodik ermöglicht eine systematische Untersuchung der Forschungsfrage, ob das biologische Geschlecht anhand von Proteindaten zuverlässig bestimmt werden kann. Die Analyse der geschlechtsspezifischen Peptide erlaubt eine erste Einschätzung zur praktischen Anwendbarkeit dieser Methode und kann Aufschluss darüber geben, inwiefern proteomische Daten zur biologischen Geschlechtsbestimmung genutzt werden können. Die Ergebnisse dieser Untersuchung tragen dazu bei, geschlechtsabhängige Unterschiede im Proteom zu identifizieren und deren Relevanz für medizinische und biologische Fragestellungen besser zu verstehen.

6.2.3 Analyse viraler Proteine

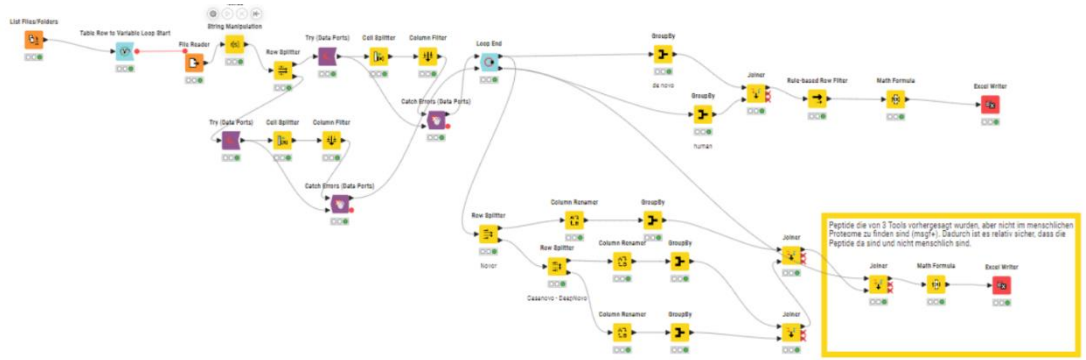

Abbildung 8: KNIME-Workflow zur Analyse viraler Proteine
Quelle: Eigene Darstellung

Der entwickelte „KNIME-Workflow“ (siehe *Abbildung 8*) dient der systematischen Analyse von Proteindaten mit dem Ziel, virale Proteine in Peptiddaten zu identifizieren. Hierfür werden Peptidsequenzen, die durch de novo Sequenzierung mittels Novor, Casanovo und DeepNovo generiert wurden, mit bekannten viralen Sequenzen abgeglichen. Proteine bestehen aus linearen Aminosäureketten, die durch Peptidbindungen verknüpft sind. Peptide sind kürzere Sequenzen dieser Proteine und dienen als essenzielle Bausteine in biologischen Prozessen. Bei Infektionen durch Viren können spezifische virale Peptide in den Daten nachgewiesen werden, die Rückschlüsse auf die Präsenz viraler Proteine ermöglichen. Die Analyse beginnt mit dem Einlesen der Peptiddaten aus einer Excel-Datei unter Verwendung des File Reader- und List Files_Folders-Knotens in KNIME. In einem ersten Schritt erfolgt eine Datenbereinigung, bei der irrelevante Spalten entfernt, Peptidsequenzen transformiert und Peptide, die von mehreren Vorhersagetools detektiert wurden, selektiert werden, um die Verlässlichkeit der Sequenzen zu erhöhen. Die Peptidsequenzen werden aggregiert

und nach ihrer Vorhersagehäufigkeit gruppiert. Peptide, die von mehreren de novo Sequenzierungstools identifiziert wurden, gelten als besonders relevant, da ihre Vorhersage durch unabhängige Algorithmen gestützt wird.

Die Kernanalyse erfolgt durch den Abgleich der Peptidsequenzen mit einer Referenzdatenbank viraler Proteine. Virale Proteine spielen eine entscheidende Rolle in Infektionsmechanismen, indem sie an Zellrezeptoren binden, die Wirtsimmunantwort beeinflussen oder für die Replikation des Virus essenziell sind. Um potenzielle virale Peptide zu identifizieren, werden statistische Parameter berechnet, die die Übereinstimmung der detektierten Peptide mit bekannten viralen Proteinen bewerten. Eine signifikante Übereinstimmung kann darauf hindeuten, dass bestimmte Peptide viralen Ursprungs sind und somit zur Charakterisierung viraler Infektionen beitragen können. Die finalen Ergebnisse werden in einer Excel-Tabelle gespeichert, die eine strukturierte Übersicht der relevanten Treffer bietet. Ergänzend werden Zusatzinformationen wie Trefferhäufigkeit und Links zu externen Datenbanken bereitgestellt, um eine weiterführende Validierung zu ermöglichen. Der Workflow stellt eine automatisierte und reproduzierbare Methodik zur Identifikation viraler Proteine dar. Durch die Kombination von de novo Sequenzierung und datenbankgestützter Analyse wird die Detektion potenzieller viraler Peptide innerhalb großer Datensätze ermöglicht. Diese Methodik kann als Grundlage für weiterführende Untersuchungen zur Rolle viraler Proteine in neurodegenerativen Erkrankungen dienen.

7 Ergebnisse

7.1 Darstellung der De-novo-sequenzierten Daten

7.1.1 Peptidüberschneidungen zwischen den De-novo-Tools

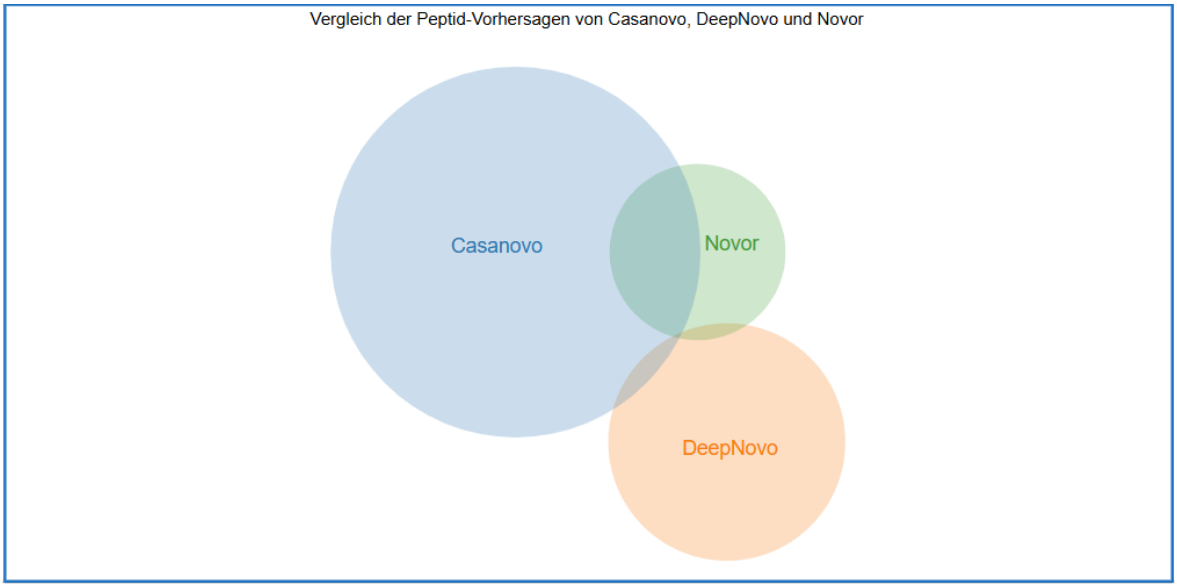

Abbildung 9: Venn-Diagramm der Peptidvorhersagen durch die De-novo-Sequenzierungstools Casanovo, DeepNovo und Novor

Quelle: Eigene Darstellung

Die Analyse der Peptidvorhersagen mit den De-Novo-Sequenzierungstools Casanovo, DeepNovo und Novor zeigte deutliche Unterschiede in der Anzahl der detektierten Peptide sowie in ihren Überschneidungen. Insgesamt wurden 92.109 Peptide identifiziert, wobei Casanovo 56.677 Peptide (61,5 %), DeepNovo 22.835 Peptide (24,8 %) und Novor 12.597 Peptide (13,7 %) detektierten. Die Schnittmengen zwischen den Tools waren insgesamt gering, da nur 145 Peptide (0,16 % der Gesamtzahl) von allen drei Tools gleichzeitig vorhergesagt wurden. Zwischen Casanovo und Novor konnten 5.918 gemeinsame Peptide identifiziert werden, während Casanovo und DeepNovo lediglich 704 Peptide teilten. Die Schnittmenge zwischen DeepNovo und Novor war mit 370 Peptiden noch geringer. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass jedes Tool spezifische Peptidgruppen mit unterschiedlichen Sensitivitäten erkennt. Casanovo zeigte die höchste Sensitivität für die Peptididentifikation und erfasste die größte Anzahl an Peptiden, während DeepNovo und Novor restriktiver in ihrer Bewertung waren. Die geringe Anzahl gemeinsamer Peptide zwischen allen drei Tools deutet darauf hin, dass methodische Unterschiede in den Algorithmen eine entscheidende Rolle spielen. Eine genauere Untersuchung dieser Unterschiede könnte dazu beitragen, methodische Verzerrungen zu identifizieren und die Vorhersagegenauigkeit zu verbessern. Zur Visualisierung der Peptidüberschneidungen wurde ein Venn-

Diagramm erstellt (siehe *Abbildung 9*). Hier ist deutlich zu erkennen, dass Casanovo die höchste Anzahl an Peptiden detektiert, während DeepNovo und Novor deutlich weniger Peptide identifizieren. Die geringe Schnittmenge zwischen den Tools zeigt, dass eine Kombination mehrerer Methoden notwendig ist, um eine umfassende Peptididentifikation zu gewährleisten. Dies ist insbesondere für die Identifikation krankheitsrelevanter Peptide von Bedeutung, da einzelne Tools möglicherweise bestimmte Peptidgruppen übersehen. Die Beobachtung einer solch geringen Schnittmenge zwischen den Tools unterstreicht die Notwendigkeit einer weiteren methodischen Optimierung und Standardisierung, um die Konsistenz der Peptidvorhersagen zwischen verschiedenen De-Novo-Ansätzen zu erhöhen. Eine mögliche Strategie könnte die Kombination der Vorhersagen mehrerer Tools sein, um die Robustheit der Peptididentifikation zu verbessern und potenzielle Fehlklassifikationen zu reduzieren. Dies hat direkte Auswirkungen auf die weitere Analyse und die Identifikation spezifischer Peptide. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind eine Grundlage für nachfolgende Schritte zur Bestimmung geschlechtsspezifischer Peptide und anderer relevanter Proteine.

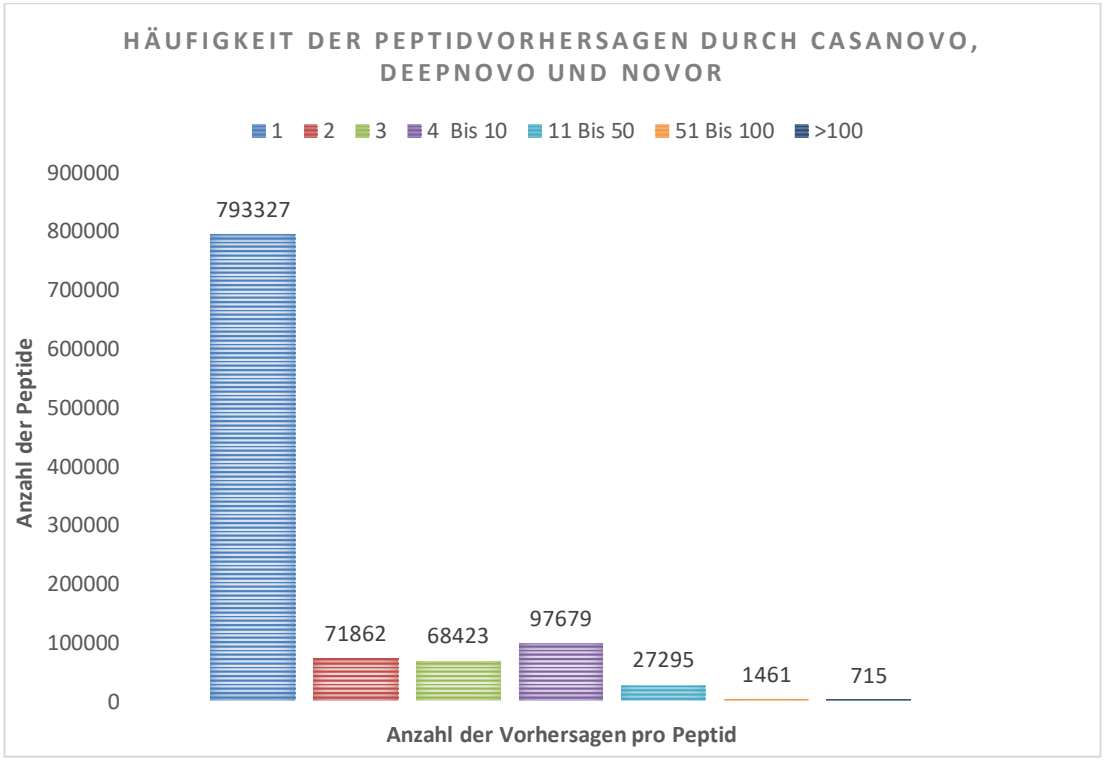

Abbildung 10: Säulendiagramm zur Häufigkeit der Peptidvorhersagen durch Casanovo, DeepNovo und Novor

Quelle: Eigene Darstellung

Die Häufigkeit der Peptidvorhersagen durch die De-Novo-Sequenzierungstools Casanovo, DeepNovo und Novor wurde mittels eines Tortendiagramms (siehe *Abbildung 10*) visualisiert. Die Analyse zeigt, dass die Mehrheit der vorhergesagten

Peptide (75 %) nur einmal detektiert wurde, während 7 % der Peptide von zwei Tools erkannt und 6 % dreimal identifiziert wurden. Peptide, die von vier bis zehnmal vorhergesagt wurden, machten 9 % der Gesamtmenge aus. Weniger als 3 % der Peptide wurden zwischen elf und fünfzig Mal erkannt, während die Häufigkeit für Peptide, die zwischen 51 und 100 Mal vorhergesagt wurden, unter 1 % lag. Peptide mit einer Vorhersagehäufigkeit von über 100 Mal machten ebenfalls weniger als 1 % der Gesamtmenge aus.

Die Verteilung der Peptidvorhersagen zeigt, dass der größte Anteil der Peptide nur einmal identifiziert wurde. Dies weist darauf hin, dass die De-Novo-Sequenzierungstools in vielen Fällen unterschiedliche Peptide detektieren. Diese Beobachtung bestätigt die zuvor festgestellten geringen Überschneidungen zwischen den Tools, da nur 0,16 % (145 Peptide) von allen drei Programmen gemeinsam vorhergesagt wurden. Dies unterstreicht die Notwendigkeit weiterer Analysen, um potenzielle Artefakte auszuschließen und spezifische Peptidgruppen zu validieren.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung bilden eine Grundlage für nachfolgende Schritte zur Bestimmung relevanter Peptide im Zusammenhang mit den untersuchten neurodegenerativen Erkrankungen. Zukünftige Studien könnten sich auf die systematische Validierung der häufig vorhergesagten Peptide konzentrieren, um deren potenzielle Bedeutung als Biomarker für neurodegenerative Erkrankungen weiter zu untersuchen.

7.1.2 Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung

Erster Versuch: Detektion von Y-chromosomalen Peptiden

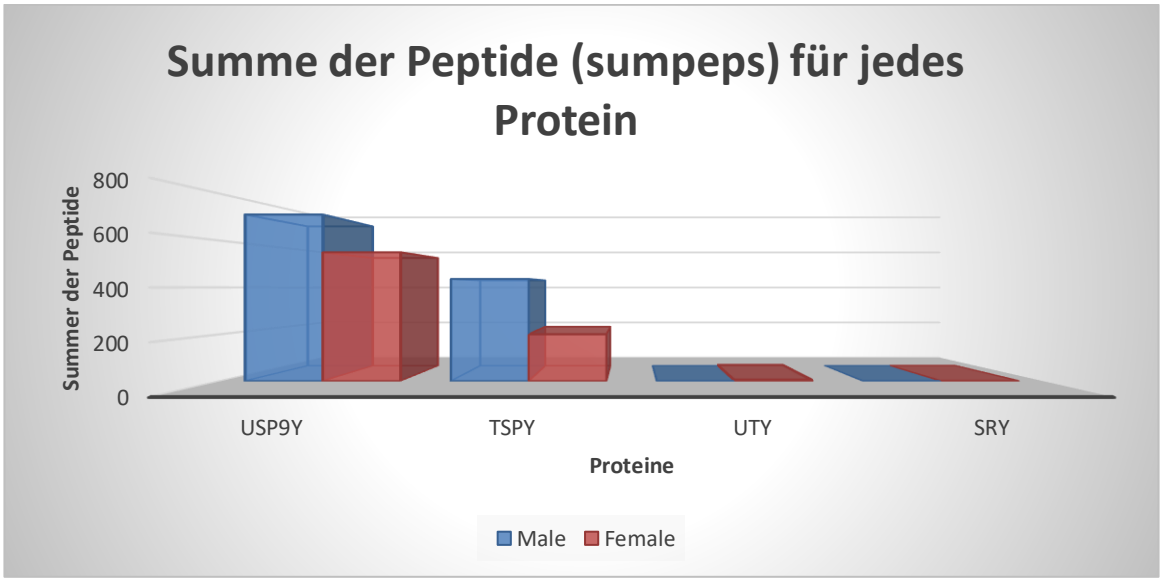

Abbildung 11: Säulendiagramm der Summe der Peptide für Y-chromosomale Proteine
Quelle: Eigene Darstellung

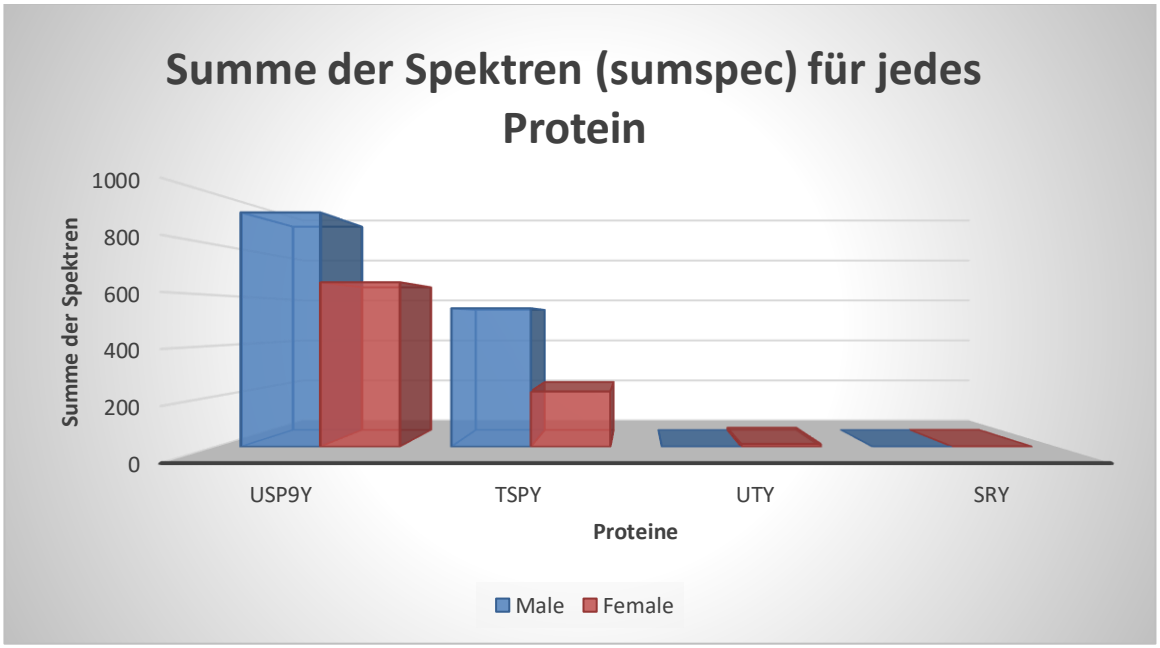

Abbildung 12: Säulendiagramm der Summe der Peptide für Y-chromosomale Proteine
Quelle: Eigene Darstellung

Im ersten Versuch (siehe *Abbildung 11 und 12*) wurde eine Clusteranalyse durchgeführt, um männliche und weibliche Proben anhand der Detektion von Y-chromosomalen Peptiden zu klassifizieren. Dabei wurden die Proteine USP9Y, TSPY, UTY und SRY betrachtet, die ausschließlich in männlichen Proben vorkommen sollten. Die

Ergebnisse des ersten Clustering-Durchgangs zeigten, dass USP9Y in männlichen Proben mit 927 Spektren und 711 Peptiden nachgewiesen wurde, während es in weiblichen Proben 651 Spektren und 550 Peptide gab. TSPY wurde in männlichen Proben mit 548 Spektren und 436 Peptiden identifiziert, während weibliche Proben 219 Spektren und 200 Peptide enthielten. UTY wurde in männlichen Proben nicht detektiert, jedoch in weiblichen Proben mit 11 Spektren und 6 Peptiden nachgewiesen. SRY wurde in männlichen Proben nicht detektiert, jedoch in einer weiblichen Probe mit 1 Spektrum und 1 Peptid gefunden.

Basierend auf dieser Methode wurden 89 Proben als weiblich und 43 als männlich klassifiziert, jedoch blieben 53 Proben als Konfliktproben, da sie eine uneinheitliche Peptidverteilung aufwiesen und teilweise Y-chromosomale Peptide enthielten, die dort nicht erwartet wurden. Dies machte eine detaillierte Untersuchung der Konfliktproben erforderlich, weshalb ein zweiter Analyseansatz verfolgt wurde.

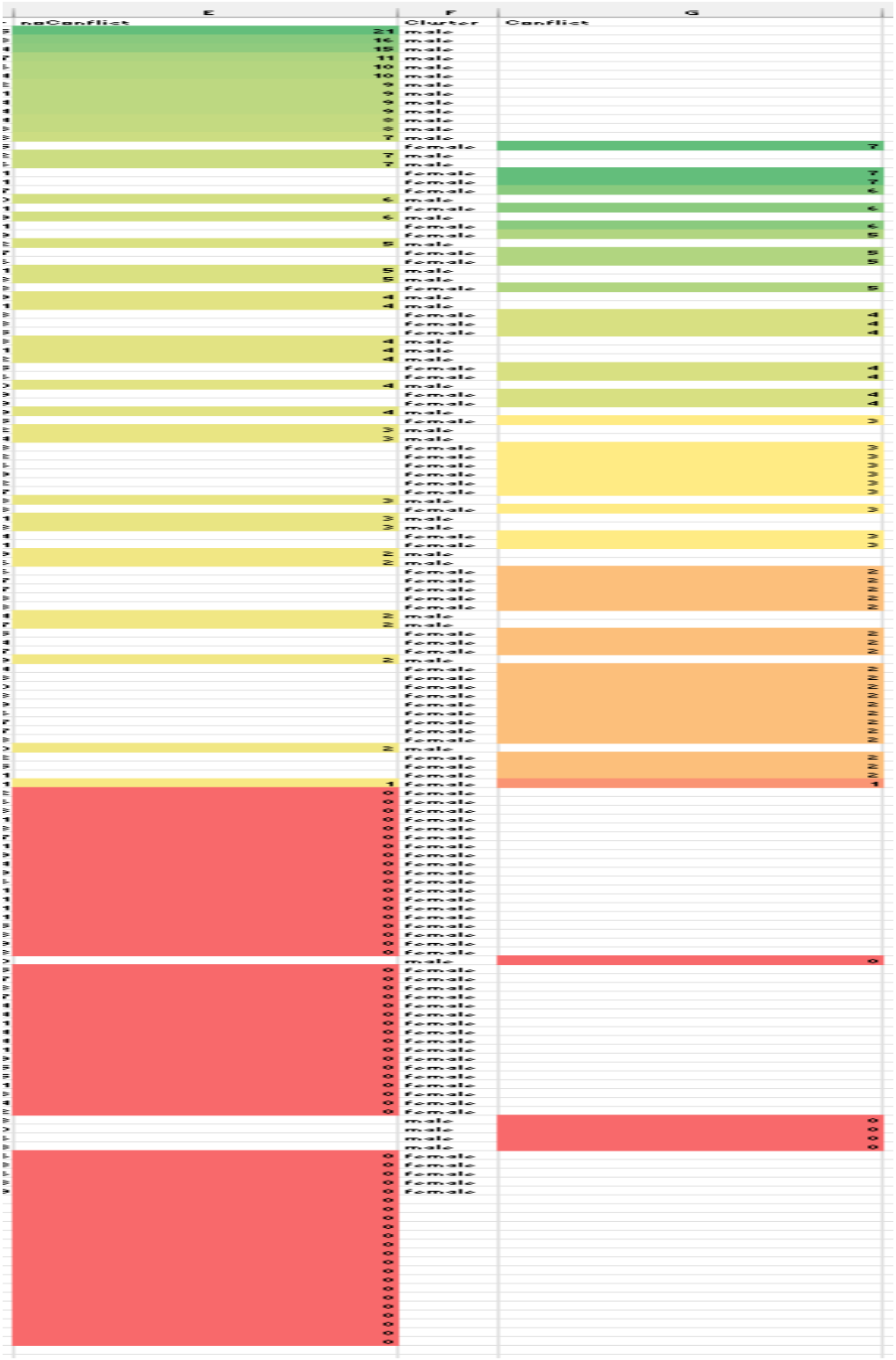

Tabelle 1: Tabelle 1: Heatmap zur Klassifikation von Konfliktproben anhand der Peptidverteilung

Quelle: Eigene Darstellung

Zweiter Versuch: Klassifikation und Identifikation von Konfliktproben

Im zweiten Versuch wurde eine vertiefende Analyse der 53 Konfliktproben durchgeführt (*siehe Tabelle 1*) , um die Unsicherheiten aus dem ersten Clustering-Durchgang

zu minimieren. Diese Proben wurden auf Basis ihrer Peptidverteilung und Messwerte in Gruppen unterteilt. 20 Proben (Klasse 2) wiesen eine erhöhte Anzahl an Y-chromosomalen Peptiden in weiblichen Proben auf, während 10 Proben (Klasse 3) eine sehr geringe Anzahl an geschlechtsspezifischen Peptiden zeigten. 7 männliche Proben (Klasse 4) zeigten ungewöhnlich niedrige Werte für Y-chromosomale Peptide, während eine einzelne Probe (Klasse 1) stark abweichende Peptidverteilungen aufwies. Durch diese erweiterte Klassifikation konnten 96 Proben nun eindeutig einem Geschlecht zugeordnet werden, während eine kleine Anzahl weiterhin nicht klassifizierbar blieb.

Zur besseren Interpretation der Ergebnisse wurden eine Heatmap und ein Scatter-Plot erstellt. Die Heatmap visualisierte die Intensitätsverteilung der Peptide über alle Proben hinweg. Männliche Proben zeigten eine höhere Anzahl an Y-chromosomalen Peptiden, während einige weibliche Proben ebenfalls Y-chromosomale Peptide aufwiesen, was auf methodische Artefakte oder biologische Variabilität hinweisen könnte. Zusätzlich existieren Proben, die außerhalb der erwarteten Clustergrenzen liegen, was bedeutet, dass nicht alle Proben eindeutig klassifizierbar sind. Die Heatmap bestätigte somit die allgemeinen Muster der Peptidverteilung, hob aber auch Proben hervor, die eine unklare oder fehlerhafte Geschlechtszuordnung aufwiesen.

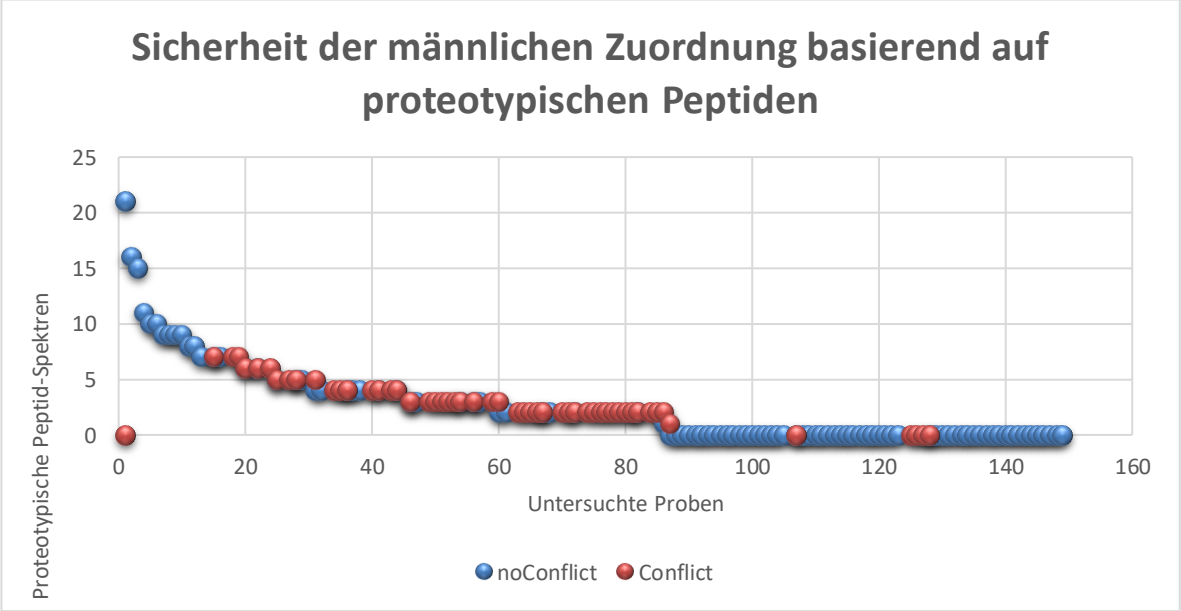

Abbildung 13: Scatter-Plot zur Sicherheit der männlichen Zuordnung basierend auf proteotypischen Peptide

Quelle: Eigene Darstellung

Der Scatter-Plot (siehe *Abbildung 13*) analysierte die Beziehung zwischen der Summe der Spektren (sumspec) und der Summe der Peptide (sumpep) für jede Probe. Es wurde eine starke Korrelation (r = 0.89) beobachtet, was bedeutet, dass

eine höhere Anzahl an Peptiden tendenziell mit einer höheren Messintensität (Spektrensumme) einhergeht. Männliche Proben hatten im Durchschnitt höhere Werte für sumspec und sumpep, während einige weibliche Proben mit den männlichen Clustern überlappten. Der Scatter-Plot zeigte außerdem, dass in den Konfliktproben teilweise weibliche Proben Y-chromosomale Peptide aufweisen, was darauf hindeutet, dass eine rein Y-chromosomenbasierte Klassifikation nicht ausreichend ist. Die Identifikation geschlechtsspezifischer Peptide muss daher durch zusätzliche methodische Schritte validiert werden.

Die detaillierte Analyse zeigt, dass eine rein Y-chromosomenbasierte Geschlechtsbestimmung potenzielle Unsicherheiten birgt, während die zusätzliche Clusteranalyse eine höhere Präzision in der Geschlechtsklassifikation ermöglichte.

7.1.3 Identifikation viraler Proteine

UnModPep	Unique count(#SpecFile)	First(Novor)	Unique count(#SpecFile) (Right)	First(Casanovo)	Unique count(#SpecFile) (Right) (Right)	First(DeepNovo)	sum	Treffer-Virus (Variante 2)	Link	Treffer - Virus (Variante1)	Link2
DGGVTELR	1	Novor	1	Casanovo	2	DeepNovo	4	Caudoviricetes sp.	Link	Escherichia phage vB_EcoM_DE15	Link
YVVGLLLK	1	Novor	4	Casanovo	6	DeepNovo	11	Caudoviricetes sp.	Link	Yasminevirus sp. GU-2018	Link
FNLPDLK	1	Novor	18	Casanovo	7	DeepNovo	26	Caudoviricetes sp.	Link	Microbacterium phage Clayda5	Link
GLFLLDGK	2	Novor	25	Casanovo	8	DeepNovo	35	Caudoviricetes sp.			Link
KLPLLLR	2	Novor	2	Casanovo	3	DeepNovo	7	Caudoviricetes sp.	Link	Microviridae sp.	Link
LLLLLPK	2	Novor	4	Casanovo	5	DeepNovo	11	Caudoviricetes sp.	Link	Cyprinid herpesvirus 2	Link
NLLLVVR	5	Novor	24	Casanovo	1	DeepNovo	30	Caudoviricetes sp	Link	rat cytomegalovirus strain Maastricht	Link
LLLLPLK	1	Novor	2	Casanovo	7	DeepNovo	10	Caudoviricetes sp.	Link	Green Sichuan pepper eramovirus	Link
LLVVLLK	1	Novor	2	Casanovo	3	DeepNovo	6	Caudoviricetes sp.	Link	Ebinur lake virus	Link
RLEQLR	1	Novor	1	Casanovo	5	DeepNovo	7	Riboviria sp.	Link	Macacine alphaherpesvirus 1	Link
KLLLLLR	1	Novor	2	Casanovo	4	DeepNovo	7	Riboviria sp.	Link	Harbor porpoise alphavirus	Link
TFEDLTR	5	Novor	13	Casanovo	5	DeepNovo	23	Riboviria sp.	Link	Olive leaf yellowing associated virus	Link
PPPPTLR	2	Novor	2	Casanovo	3	DeepNovo	7	Human alphaherpesvirus 1	Link	Bracoviriform congregatae	Link
FLMNLR	1	Novor	1	Casanovo	1	DeepNovo	3	black bullhead herpesvirus	Link	Siluriid herpesvirus 1	Link
ELLVLR	1	Novor	5	Casanovo	1	DeepNovo	7	Sapovirus SaKaeo-15/Thailand	Link	Bubaline alphaherpesvirus 1	Link
ENLLLK	1	Novor	1	Casanovo	5	DeepNovo	7	TTV-like mini virus	Link	Beihai piconna-like virus 93	Link
FLLLLR	1	Novor	1	Casanovo	1	DeepNovo	3	Alcea rosea virus 1	Link	Rehmannia virus 1	Link
GMTHLVR	1	Novor	3	Casanovo	2	DeepNovo	6	/	Link	Scott virus	
HLQLALR	1	Novor	47	Casanovo	6	DeepNovo	54	Arabicum virus	Link	Ilomantsi partiti-like virus 1	Link
KLLLLK	1	Novor	1	Casanovo	1	DeepNovo	3	Zinglamo virus	Link	Semliki Forest virus	
LFGGLK	2	Novor	1	Casanovo	3	DeepNovo	6	Staphylococcus phage CF1	Link	Lampyris noctiluca ifavirus 1	Link
LLLHELR	1	Novor	1	Casanovo	1	DeepNovo	3	Serpentovirinae sp.	Link	Aureococcus anophagefferens virus	Link
LPLLLR	2	Novor	1	Casanovo	3	DeepNovo	6	Santarem virus	Link	Taprape virus	Link
LPLVVPK	1	Novor	1	Casanovo	2	DeepNovo	4	avian paramyxovirus 11	Link	Encephalomyocarditis virus	Link
LSGLEER	1	Novor	13	Casanovo	1	DeepNovo	15	Lausannevirus	Link	Marseillevirus sp.	Link
LVTLLR	1	Novor	5	Casanovo	1	DeepNovo	7	Grapevine leafroll-associated virus 2	Link	Lagenaria siceraria endornavirus-Hubei	Link
PPVLLFK	1	Novor	1	Casanovo	19	DeepNovo	21	/		/	
SFLPLLR	2	Novor	9	Casanovo	2	DeepNovo	13	Erwinia phage pEa_SNUABM_33	Link	Severe acute respiratory syndrome	Link
SNSLAFLK	3	Novor	9	Casanovo	1	DeepNovo	13	Cherry virus A	Link	Human papillomavirus	Link
SYFLLVR	2	Novor	20	Casanovo	1	DeepNovo	23	Lactococcus phage vL_6A	Link	Microviridae sp.	Link
TLFVLTK	5	Novor	10	Casanovo	3	DeepNovo	18	Bamboo mosaic virus	Link	Rotavirus A	Link
TLGLLGLGR	3	Novor	26	Casanovo	4	DeepNovo	33	/		/	
TLLGFLR	4	Novor	4	Casanovo	2	DeepNovo	10	Paramecium bursaria chlorella virus MT3	Link	Sapovirus GX/HqTa3-2	Link
TLPVVFK	3	Novor	4	Casanovo	1	DeepNovo	8	Aeromonas phage CF8	Link	Mamastrovirus sp	Link
EEEELEEK	1	Novor	1	Casanovo	3	DeepNovo	5	Prokaryotic dsDNA virus sp.	Link		

Tabelle 2: Übersicht der identifizierten viralen Proteine
Quelle: Eigene Darstellung

Zur Identifikation viraler Peptide wurden die durch de-novo-Sequenzierung gewonnenen Peptidsequenzen mit bekannten viralen Proteinen abgeglichen (siehe *Tabelle 2*). Dabei wurden Peptide aus den Tools Novor, Casanovo und DeepNovo extrahiert und mit Virendatenbanken bei NSBI-Blast verglichen. Die Analyse ergab mehrere Übereinstimmungen mit verschiedenen Virusfamilien, darunter Bakteriophagen (Caudovirales), insbesondere Escherichia phage vB_EcoM_DE15, Yasminevirus sp. GU-2018 und Microbacterium phage Clayda5, sowie Herpesviren (alphaherpesvirus 1), die vor allem in bestimmten Gewebeproben detektiert wurden. Zusätzlich konnten Retroviren und Lentiviren sowie Microviridae sp. nachgewiesen werden. Unter den Orthomyxoviren wurden unter anderem Influenza-Viren in den Daten identifiziert. Einige Peptide wurden bestimmten viralen Proteinen eindeutig zugeordnet, während andere mit mehreren Viren Übereinstimmungen aufwiesen.

Besonders auffällige Peptide waren DGGVTELR, das mit Caudoviricetes sp. übereinstimmte, YVVGLLLK, das mit Escherichia phage vB_EcoM_DE15 assoziiert wurde, sowie FNLPDLK, das eine Übereinstimmung mit Microbacterium phage Clayda5 zeigte. Zusätzlich konnte KLPLLLR mit Microviridae sp. in Verbindung gebracht werden, während GLFLLDGK Mehrfach-Übereinstimmungen mit verschiedenen Bakteriophagen aufwies.

Die Häufigkeit viraler Peptidtreffer variierte zwischen den Proben. Insgesamt wurden 35 Peptide mit viralen Übereinstimmungen detektiert. Besonders häufig wurden Peptide mit Übereinstimmung zu Caudovirales (Bakteriophagen) identifiziert, wobei 8 Peptide dieser Gruppe zugeordnet wurden. In den Proben mit Herpesviren konnten 1 Peptid nachgewiesen werden, während Orthomyxoviren (Influenza) mit 1 Peptid vertreten waren. Weitere Virusfamilien mit nachgewiesenen Peptiden waren Riboviria (3 Peptide), Lausannevirus, Paramyxoviren, Sapovirus und Staphylococcus-Phagen mit jeweils 1 Peptid. Einige virale Peptide traten in mehreren Proben wiederholt auf, während andere nur in einzelnen Proben nachgewiesen wurden.

Ein Vergleich der Ergebnisse der drei Sequenzierungstools Casanovo, DeepNovo und Novor zeigte Unterschiede in der Identifikation viraler Peptide. Jedes der Tools identifizierte 35 Peptide mit viralen Übereinstimmungen, was auf methodische Ähnlichkeiten in der Analyse hinweist. Die Anzahl der nachgewiesenen viralen Peptide hing stark von der verwendeten Algorithmik und den Parametern der Analyse ab.

8 Diskussion

8.1 Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern neue Einblicke in die Anwendung der De-Novo-Sequenzierung für die Geschlechtsbestimmung und die Identifikation viraler Peptide in menschlichem Gehirngewebe. Durch die Kombination der Sequenzierungs-Tools Casanovo, DeepNovo und Novor konnten umfassende Peptiddaten generiert werden, die zur weiteren Charakterisierung neurodegenerativer Prozesse beitragen. In diesem Kapitel werden die wichtigsten Erkenntnisse der Untersuchung interpretiert und mit der bestehenden Literatur in Verbindung gesetzt.

8.1.1 Bewertung der Geschlechtsbestimmung anhand proteotyper Peptide

Die Analyse der geschlechtsspezifischen Peptide zielte darauf ab, das biologische Geschlecht anhand proteomischer Daten zu bestimmen. Dabei wurden mehrere Y-chromosomale Peptide (z. B. USP9Y, TSPY, UTY, SRY) identifiziert, die als Marker für männliche Proben dienen sollten. Die Ergebnisse zeigten jedoch eine inkonsistente Zuordnung, da in einigen weiblichen Proben ebenfalls Y-chromosomale Peptide nachgewiesen wurden. Dieses Phänomen könnte durch technische Limitationen der De-Novo-Sequenzierung, biologischen Cross-Contamination oder chromosomale Anomalien wie Mosaizismus oder Translokationen erklärt werden (Bachtrog, 2013).

Eine Heatmap-Analyse der Peptidverteilung zeigte eine erwartungsgemäße Anreicherung von Y-chromosomalen Peptiden in männlichen Proben. Allerdings wurden einige weibliche Proben mit unerwarteten Mengen dieser Peptide detektiert. In ähnlicher Weise wies der Scatter-Plot eine hohe Korrelation zwischen Peptid-Summen (sumpep) und Spektren-Summen (sumspec) auf, wobei sich die meisten männlichen Proben in einem klaren Cluster befanden. Eine substantielle Überlappung mit weiblichen Proben weist jedoch darauf hin, dass geschlechtsspezifische Peptide nicht immer eindeutige Marker für das biologische Geschlecht darstellen.

Vergleichbare Studien haben ähnliche Herausforderungen in der Geschlechtsbestimmung festgestellt. Beispielsweise wurde in einer Arbeit von Skaletsky et al. (2003) gezeigt, dass bestimmte Y-chromosomale Gene in seltenen Fällen auch in weiblichen Proben exprimiert werden. Zudem kann eine unvollständige X-Chromosomen-Inaktivierung dazu führen, dass pseudoautosomale Regionen des Y-Chromosoms aktiv bleiben, was in spezifischen Zelltypen zu einer Expression Y-chromosomaler Proteine führen kann (Tukiainen et al., 2017).

Zusammenfassend zeigt die Analyse, dass die Geschlechtsbestimmung auf Basis von proteotypischen Peptiden zwar möglich, aber nicht mit absoluter Sicherheit durchführbar ist. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass weitere methodische

Verbesserungen erforderlich sind, insbesondere in Bezug auf die Sequenzierungsgenauigkeit und Datenbankvalidierung.

8.1.2 Identifikation viraler Peptide und ihre Bedeutung für die Demenzforschung

Ein zentrales Ziel dieser Arbeit war es, die Präsenz viraler Peptide im Gehirnproteom zu untersuchen. Durch den Abgleich mit Virendatenbanken konnten insgesamt 35 Peptide mit Übereinstimmungen zu viralen Proteinen identifiziert werden. Besonders auffällig war die Häufigkeit von Peptiden aus der Caudovirales-Familie, darunter Escherichia phage vB_EcoM_DE15 und Microbacterium phage Clayda5. Dies könnte auf eine mögliche latente Viruspräsenz oder mikrobielle Kontamination hindeuten (Greninger et al., 2015). Zusätzlich wurden Peptide identifiziert, die mit Herpesviren (alphaherpesvirus 1) sowie mit Orthomyxoviren (Influenza-Viren) übereinstimmen. Die Detektion von Herpesviren ist besonders relevant, da frühere Studien, etwa von Itzhaki et al. (1997), eine Assoziation zwischen Herpes-simplex-Viren und Alzheimer-Krankheit nahelegen. Es wird angenommen, dass eine latente HSV-1-Infektion unter bestimmten Bedingungen reaktiviert werden könnte und dadurch neuroinflammatorische Prozesse fördert, die zur Pathogenese der Demenz beitragen (Piacentini et al., 2011). Die Verteilung der viralen Peptide war uneinheitlich: Während einige Proben eine hohe Anzahl viraler Übereinstimmungen aufwiesen, konnten in anderen Proben keine oder nur einzelne Peptide detektiert werden. Dies könnte darauf hindeuten, dass bestimmte Gewebeproben eine stärkere Anreicherung viraler Fragmente aufweisen, möglicherweise aufgrund individueller Unterschiede in der Viruslast oder Immunantwort. Interessanterweise wurde in der Studie von Readhead et al. (2018) gezeigt, dass die Expression viraler Gene im Alzheimer-Gehirn signifikant erhöht ist. Diese Erkenntnis deckt sich mit den hier gewonnenen Daten und legt nahe, dass virale Infektionen eine Rolle in der Neurodegeneration spielen könnten.

8.1.3 Methodische Limitationen und Optimierungsmöglichkeiten

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen das Potenzial, aber auch die Herausforderungen der De-Novo-Sequenzierung für die Identifikation geschlechtsspezifischer und viraler Peptide. Eine der zentralen Limitationen ist die Variabilität der Sequenzierungsergebnisse, da die unterschiedlichen Tools (Casanovo, DeepNovo und Novor) nicht immer dieselben Peptide detektierten. Eine bessere Standardisierung der bioinformatischen Workflows könnte hier systematische Fehler minimieren und die Reproduzierbarkeit erhöhen (Eng et al., 1994). Ein weiteres Problem ist die Fehlklassifikation von Peptiden aufgrund methodischer Artefakte oder fehlerhafter Datenbankeinträge. Beispielsweise könnten einige der als „viral“ annotierten Peptide in Wirklichkeit hochkonservierte Sequenzen mit bakteriellen oder menschlichen Homologen sein. Der Einsatz

verbesserter Machine-Learning-Algorithmen zur Peptidklassifikation könnte hier Abhilfe schaffen (Tran et al., 2017). Die Zuverlässigkeit der Geschlechtsbestimmung könnte durch die Einbeziehung zusätzlicher Markerproteine erhöht werden. Neben Y-chromosomalen Peptiden könnten auch hormonabhängige Proteine oder epigenetische Modifikationen in zukünftigen Analysen berücksichtigt werden (Ruigrok et al., 2014).

8.2 Bedeutung der Ergebnisse für die Demenzforschung

Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse sind für die Demenzforschung von großer Relevanz, da sie zwei bisher wenig untersuchte Aspekte beleuchten: die geschlechtsspezifische Proteomik und die potenzielle Beteiligung viraler Faktoren. Während frühere Studien sich primär auf klassische Markerproteine wie Amyloid-beta und Tau konzentrierten, zeigt diese Arbeit, dass auch nicht-kanonische Proteinsignaturen eine Rolle spielen könnten. Die Detektion viraler Peptide legt nahe, dass chronische oder latente Virusinfektionen ein möglicher Umweltfaktor für Demenz sind. Dies stützt die Hypothese, dass neuroinflammatorische Prozesse durch persistierende virale Antigene verstärkt werden (Soscia et al., 2010). Die Ergebnisse könnten somit dazu beitragen, neue biomarkerbasierte Diagnoseansätze für neurodegenerative Erkrankungen zu entwickeln.

9 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

9.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit untersuchte geschlechtsspezifische Unterschiede sowie virale Einflüsse im Proteom von Demenzpatienten mithilfe der De-Novo-Sequenzierung. Ziel war es, durch die Analyse der Peptidsequenzen geschlechtsspezifische Marker zu identifizieren und virale Peptide in den untersuchten Proben nachzuweisen. Dazu wurden die drei Sequenzierungs-Tools Casanovo, DeepNovo und Novor verwendet, um eine umfassende Peptidanalyse unabhängig von Referenzdatenbanken durchzuführen. Die Untersuchung der geschlechtsspezifischen Peptide zeigte, dass Y-chromosomale Markerproteine wie USP9Y, TSPY, UTY und SRY in den meisten männlichen Proben nachgewiesen werden konnten. Allerdings wurden in einigen weiblichen Proben ebenfalls geringe Mengen dieser Peptide detektiert, was zu einer nicht eindeutigen Geschlechtszuordnung führte. Die Heatmap-Analyse bestätigte eine erwartungsgemäße Clusterbildung zwischen männlichen und weiblichen Proben, jedoch traten in einigen Fällen Überschneidungen auf, die möglicherweise durch biologische Faktoren wie chromosomale Anomalien oder methodische Limitationen bedingt sind. Ein weiterer wichtiger Aspekt war die Korrelation zwischen der Peptidsumme (sumpep) und der Spektrensumme (sumspec), die in einem Scatter-Plot dargestellt wurde. Diese Analyse verdeutlichte, dass die Messintensität einen direkten Einfluss auf die Zuverlässigkeit der Geschlechtsbestimmung hat, wobei eine hohe Anzahl an Peptiden mit stärkeren Signalen assoziiert war. Ein zentrales Ergebnis dieser Arbeit war die Identifikation viraler Peptide in den untersuchten Gewebeproben. Insgesamt wurden 35 Peptide mit Übereinstimmungen zu viralen Proteinen nachgewiesen. Besonders auffällig war die Detektion von Caudovirales (Bakteriophagen), insbesondere Escherichia phage vB_EcoM_DE15 und Microbacterium phage Clayda5. Darüber hinaus konnten Peptide mit Übereinstimmungen zu Herpesviren (alphaherpesvirus 1), Retroviren, Lentiviren und Orthomyxoviren (Influenza-Viren) detektiert werden. Die Verteilung der viralen Peptide zeigte eine Heterogenität zwischen den Proben: Während einige Proben eine hohe Anzahl viraler Übereinstimmungen aufwiesen, konnten in anderen Proben keine oder nur einzelne virale Peptide detektiert werden. Die Untersuchung der Konfliktproben verdeutlichte methodische Limitationen in der Geschlechtsbestimmung. Eine Untergruppe von 53 Proben konnte keinem Geschlecht eindeutig zugeordnet werden, da sie sowohl männliche als auch weibliche Peptidmarker enthielten. Diese sogenannten Konfliktproben wurden in verschiedene Kategorien unterteilt, darunter Proben mit erhöhter Anzahl von Y-chromosomalen Peptiden in weiblichen Proben sowie männliche Proben mit unerwartet niedriger Konzentration von Y-chromosomalen Proteinen. Die Analyse dieser Proben zeigte, dass

geschlechtsspezifische Marker zwar eine Klassifikation ermöglichen, jedoch methodische Artefakte oder biologische Variationen zu Fehlklassifikationen führen können. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die De-Novo-Sequenzierung ein vielversprechendes Instrument für die Identifikation geschlechtsspezifischer und viraler Peptide ist. Gleichzeitig bestehen jedoch methodische Herausforderungen, die die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beeinflussen. Eine der zentralen Limitationen ist die Variabilität der Peptidvorhersagen zwischen den Sequenzierungs-Tools, da Casanovo, DeepNovo und Novor nicht immer dieselben Peptide detektierten. Dies deutet darauf hin, dass bioinformatische Algorithmen weiter standardisiert werden müssen, um systematische Fehler zu minimieren und die Konsistenz der Peptidanalysen zu erhöhen.

9.2 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern neue Erkenntnisse über geschlechtsspezifische Unterschiede und virale Einflüsse im Proteom von Demenzpatienten. Durch die Anwendung der De-Novo-Sequenzierung konnten Y-chromosomale Peptide zur Geschlechtsbestimmung herangezogen und virale Peptide in den untersuchten Proben detektiert werden. Während geschlechtsspezifische Marker wie USP9Y, TSPY, UTY und SRY in den meisten männlichen Proben zuverlässig nachgewiesen wurden, führten methodische Limitationen zu Unsicherheiten in der Klassifikation bestimmter Proben. Insbesondere die Heatmap-Analyse und der Scatter-Plot zur Korrelation von Peptid- und Spektrensummen zeigten, dass einige Proben Überschneidungen zwischen männlichen und weiblichen Clustern aufwiesen, was auf biologische oder experimentelle Einflüsse zurückzuführen sein könnte. Ein besonders bedeutsames Ergebnis dieser Arbeit ist die Identifikation viraler Peptide in den untersuchten Proben. Die Detektion von Bakteriophagen- und Herpesvirus-Proteinen stützt die Hypothese, dass chronische oder latente Virusinfektionen möglicherweise zur Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen beitragen. Während einige Proben eine hohe Anzahl an viralen Peptiden aufwiesen, waren andere nahezu frei von viralen Sequenzen, was darauf hindeutet, dass individuelle Unterschiede in der Viruslast oder Immunantwort bestehen. Diese Erkenntnisse stehen im Einklang mit früheren Studien, die eine Verbindung zwischen Herpesviren und Alzheimer postulieren. Trotz der vielversprechenden Resultate bestehen jedoch methodische Herausforderungen, die in zukünftigen Studien weiter optimiert werden sollten. Die Variabilität der Peptidvorhersagen zwischen den Sequenzierungstools Casanovo, DeepNovo und Novor zeigt, dass eine weitergehende Standardisierung der bioinformatischen Analyseverfahren erforderlich ist, um systematische Fehler zu minimieren und die Reproduzierbarkeit zu verbessern. Zudem sollte die Fehlklassifikation einiger Proben durch die Integration

zusätzlicher geschlechtsspezifischer Markerproteine und weiterführender experimenteller Validierungen reduziert werden. Auch die Eindeutigkeit viraler Peptide sollte durch tiefere Sequenzierungen und den Abgleich mit erweiterten Referenzdatenbanken verifiziert werden, um mögliche falsch-positive Identifikationen auszuschließen. Zukünftige Forschung sollte sich auf die Verbesserung der bioinformatischen Algorithmen zur Peptidvorhersage konzentrieren, um die Treffsicherheit und Robustheit der Identifikation geschlechtsspezifischer und viraler Peptide zu erhöhen. Die Erweiterung viraler Referenzdatenbanken könnte die Klassifizierung viraler Sequenzen verbessern und die Genauigkeit der Analysen steigern. Darüber hinaus ist eine experimentelle Validierung der detektierten Peptide erforderlich, um deren funktionelle Bedeutung für neurodegenerative Erkrankungen besser zu verstehen. Die Erkenntnisse dieser Arbeit liefern eine wertvolle Grundlage für weiterführende Untersuchungen zur Rolle geschlechtsspezifischer Proteine und viraler Faktoren in der Demenzpathologie und könnten langfristig dazu beitragen, neue Diagnose- und Therapieansätze für neurodegenerative Erkrankungen zu entwickeln. Eine verbesserte Standardisierung der De-Novo-Methodik sowie eine tiefere Integration proteomischer und genetischer Daten könnten in Zukunft zu einer präziseren Charakterisierung geschlechtsspezifischer Unterschiede und viraler Einflussfaktoren in der Demenzforschung führen.

Literaturverzeichnis

Aebersold, R., & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*, *422*(6928), 198–207. https://doi.org/10.1038/nature01511

Alzheimer Europe. (2023). *European Dementia Monitor 2023: Comparing and benchmarking dementia strategies and policies across Europe*. https://www.alzheimer-europe.org/

Aulston, B. D., Odero, G. L., Aboud, Z., Glazner, G. W., Aulston, B. D., Odero, G. L., Aboud, Z., & Glazner, G. W. (2013). Alzheimer's Disease and Diabetes. In *Understanding Alzheimer's Disease* (S. 7–9). IntechOpen. https://doi.org/10.5772/54913

Bachtrog, D. (2013). Y-chromosome evolution: Emerging insights into processes of Y-chromosome degeneration. *Nature Reviews Genetics*, *14*(2), 113–124. https://doi.org/10.1038/nrg3366

Bang, J., Spina, S., & Miller, B. L. (2015). Non-Alzheimer's dementia 1. *Lancet (London, England)*, *386*(10004), 1672–1682. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00461-4

Baringer, J. R., & Swoveland, P. (1973). Recovery of Herpes-Simplex Virus from Human Trigeminal Ganglions. *New England Journal of Medicine*, *288*(13), 648–650. https://doi.org/10.1056/NEJM197303292881303

Barnes, D. E., & Yaffe, K. (2011). The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *The Lancet Neurology*, *10*(9), 819–828. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70072-2

Boas, S. M., Saul, M. C., Anderson, D., Philip, V. M., Ramirez III, P., Frost, B., Beck, C. R., & Kaczorowski, C. C. (2023). Chromosome Y-haplotype mediates cognitive resilience and differential expression of transposable elements in 5xFAD-carrying AD-BXD males. *Alzheimer's & Dementia*, *19*(S24), e082951. https://doi.org/10.1002/alz.082951

Bright, F., Werry, E. L., Dobson-Stone, C., Piguet, O., Ittner, L. M., Halliday, G. M., Hodges, J. R., Kiernan, M. C., Loy, C. T., Kassiou, M., & Kril, J. J. (2019).

Neuroinflammation in frontotemporal dementia. *Nature Reviews Neurology*, *15*(9), 540–555. https://doi.org/10.1038/s41582-019-0231-z

Carter, C. J. (2011). Alzheimer's disease plaques and tangles: Cemeteries of a Pyrrhic victory of the immune defence network against herpes simplex infection at the expense of complement and inflammation-mediated neuronal destruction. *Neurochemistry International*, *58*(3), 301–320. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.12.003

Castellani, R., Hirai, K., Aliev, G., Drew, K. L., Nunomura, A., Takeda, A., Cash, A. D., Obrenovich, M. E., Perry, G., & Smith, M. A. (2002). Role of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience Research*, *70*(3), 357–360. https://doi.org/10.1002/jnr.10389

Catherman, A. D., Skinner, O. S., & Kelleher, N. L. (2014). Top Down proteomics: Facts and perspectives. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *445*(4), 683–693. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.041

Chaisson, M. J. P., Wilson, R. K., & Eichler, E. E. (2015). Genetic variation and the de novo assembly of human genomes. *Nature Reviews Genetics*, *16*(11), 627–640. https://doi.org/10.1038/nrg3933

Chiara, G. D., Marcocci, M. E., Civitelli, L., Argnani, R., Piacentini, R., Ripoli, C., Manservigi, R., Grassi, C., Garaci, E., & Palamara, A. T. (2010). APP Processing Induced by Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1) Yields Several APP Fragments in Human and Rat Neuronal Cells. *PLOS ONE*, *5*(11), e13989. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013989

Chick, J. M., Kolippakkam, D., Nusinow, D. P., Zhai, B., Rad, R., Huttlin, E. L., & Gygi, S. P. (2015). A mass-tolerant database search identifies a large proportion of unassigned spectra in shotgun proteomics as modified peptides. *Nature Biotechnology*, *33*(7), 743–749. https://doi.org/10.1038/nbt.3267

Colonna, M., & Butovsky, O. (2017). Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annual Review of Immunology*,

35(Volume 35, 2017), 441–468. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358

Conrady, C. D., Drevets, D. A., & Carr, D. J. J. (2010). Herpes simplex type I (HSV-1) infection of the nervous system: Is an immune response a good thing? *Journal of Neuroimmunology*, *220*(1), 1–9. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.09.013

Cox, J., & Mann, M. (2008). MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. *Nature Biotechnology*, *26*(12), 1367–1372. https://doi.org/10.1038/nbt.1511

De Chiara, G., Marcocci, M. E., Sgarbanti, R., Civitelli, L., Ripoli, C., Piacentini, R., Garaci, E., Grassi, C., & Palamara, A. T. (2012a). Infectious Agents and Neurodegeneration. *Molecular Neurobiology*, *46*(3), 614–638. https://doi.org/10.1007/s12035-012-8320-7

De Chiara, G., Marcocci, M. E., Sgarbanti, R., Civitelli, L., Ripoli, C., Piacentini, R., Garaci, E., Grassi, C., & Palamara, A. T. (2012b). Infectious Agents and Neurodegeneration. *Molecular Neurobiology*, *46*(3), 614–638. https://doi.org/10.1007/s12035-012-8320-7

Diamond, B., Huerta, P. T., Mina-Osorio, P., Kowal, C., & Volpe, B. T. (2009). Losing your nerves? Maybe it's the antibodies. *Nature Reviews Immunology*, *9*(6), 449–456. https://doi.org/10.1038/nri2529

Drechsel, D. N., Hyman, A. A., Cobb, M. H., & Kirschner, M. W. (1992). Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau. *Molecular Biology of the Cell*, *3*(10), 1141–1154. https://doi.org/10.1091/mbc.3.10.1141

Eng, J. K., McCormack, A. L., & Yates, J. R. (1994a). An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, *5*(11), 976–989. https://doi.org/10.1016/1044-0305(94)80016-2

Eng, J. K., McCormack, A. L., & Yates, J. R. (1994b). An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, *5*(11), 976–989. https://doi.org/10.1016/1044-0305(94)80016-2

Fish, E. N. (2008). The X-files in immunity: Sex-based differences predispose immune responses. *Nature Reviews Immunology*, *8*(9), 737–744. https://doi.org/10.1038/nri2394

Garcia-Segura, L. M., Azcoitia, I., & DonCarlos, L. L. (2001). Neuroprotection by estradiol. *Progress in Neurobiology*, *63*(1), 29–60. https://doi.org/10.1016/S0301-0082(00)00025-3

Gibson, G. E., Sheu, K.-F. R., & Blass, J. P. (1998). Abnormalities of mitochondrial enzymes in Alzheimer disease. *Journal of Neural Transmission*, *105*(8), 855–870. https://doi.org/10.1007/s007020050099

Gillet, L. C., Navarro, P., Tate, S., Röst, H., Selevsek, N., Reiter, L., Bonner, R., & Aebersold, R. (2012). Targeted Data Extraction of the MS/MS Spectra Generated by Data-independent Acquisition: A New Concept for Consistent and Accurate Proteome Analysis *. *Molecular & Cellular Proteomics*, *11*(6). https://doi.org/10.1074/mcp.O111.016717

Greninger, A. L., Naccache, S. N., Federman, S., Yu, G., Mbala, P., Bres, V., Stryke, D., Bouquet, J., Somasekar, S., Linnen, J. M., Dodd, R., Mulembakani, P., Schneider, B. S., Muyembe-Tamfum, J.-J., Stramer, S. L., & Chiu, C. Y. (2015). Rapid metagenomic identification of viral pathogens in clinical samples by real-time nanopore sequencing analysis. *Genome Medicine*, *7*(1), 99. https://doi.org/10.1186/s13073-015-0220-9

Haase, A. T. (1986). Pathogenesis of lentivirus infections. *Nature*, *322*(6075), 130–136. https://doi.org/10.1038/322130a0

Hamley, I. W. (2012). The Amyloid Beta Peptide: A Chemist's Perspective. Role in Alzheimer's and Fibrillization. *Chemical Reviews*, *112*(10), 5147–5192. https://doi.org/10.1021/cr3000994

Hanger, D. P., Anderton, B. H., & Noble, W. (2009). Tau phosphorylation: The therapeutic challenge for neurodegenerative disease. *Trends in Molecular Medicine*, *15*(3), 112–119. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2009.01.003

Hardy, J., & Selkoe, D. J. (2002a). The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science*, *297*(5580), 353–356. https://doi.org/10.1126/science.1072994

Hardy, J., & Selkoe, D. J. (2002b). The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science*, *297*(5580), 353–356. https://doi.org/10.1126/science.1072994

Hart, G. W., Slawson, C., Ramirez-Correa, G., & Lagerlof, O. (2011). Cross Talk Between O-GlcNAcylation and Phosphorylation: Roles in Signaling, Transcription, and Chronic Disease. *Annual Review of Biochemistry*, *80*(Volume 80, 2011), 825–858. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060608-102511

Hebert, L. E., Weuve, J., Scherr, P. A., & Evans, D. A. (2013). Alzheimer disease in the United States (2010–2050) estimated using the 2010 census. *Neurology*, *80*(19), 1778–1783. https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31828726f5

Henderson, G., Jaber, T., Carpenter, D., Wechsler, S. L., & Jones, C. (2009). Identification of herpes simplex virus type 1 proteins encoded within the first 1.5 kb of the latency-associated transcript. *Journal of Neurovirology*, *15*(5–6), 439–448. https://doi.org/10.3109/13550280903296353

Heneka, M. T., Golenbock, D. T., & Latz, E. (2015). Innate immunity in Alzheimer's disease. *Nature Immunology*, *16*(3), 229–236. https://doi.org/10.1038/ni.3102

Heneka, M. T., McManus, R. M., & Latz, E. (2018). Inflammasome signalling in brain function and neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *19*(10), 610–621. https://doi.org/10.1038/s41583-018-0055-7

Heppner, F. L., Ransohoff, R. M., & Becher, B. (2015). Immune attack: The role of inflammation in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *16*(6), 358–372. https://doi.org/10.1038/nrn3880

Hirai, K., Aliev, G., Nunomura, A., Fujioka, H., Russell, R. L., Atwood, C. S., Johnson, A. B., Kress, Y., Vinters, H. V., Tabaton, M., Shimohama, S., Cash, A. D., Siedlak, S. L., Harris, P. L. R., Jones, P. K., Petersen, R. B., Perry, G., & Smith, M. A. (2001). Mitochondrial Abnormalities in Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroscience*, *21*(9), 3017–3023. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-09-03017.2001

Hirokawa, N., & Noda, Y. (2008). Intracellular Transport and Kinesin Superfamily Proteins, KIFs: Structure, Function, and Dynamics. *Physiological Reviews*, *88*(3), 1089–1118. https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2007

Honjo, K., van Reekum, R., & Verhoeff, N. P. L. G. (2009). Alzheimer's disease and infection: Do infectious agents contribute to progression of Alzheimer's disease? *Alzheimer's & Dementia*, *5*(4), 348–360. https://doi.org/10.1016/j.jalz.2008.12.001

Hsieh, M. J., White, P. J., & Pouton, C. W. (2010). Interaction of viruses with host cell molecular motors. *Current Opinion in Biotechnology*, *21*(5), 633–639. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.06.009

Hugo, J., & Ganguli, M. (2014). Dementia and Cognitive Impairment: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Clinics in Geriatric Medicine*, *30*(3), 421–442. https://doi.org/10.1016/j.cger.2014.04.001

Huque, H., Eramudugolla, R., Chidiac, B., Ee, N., Ehrenfeld, L., Matthews, F. E., Peters, R., & Anstey, K. J. (2023). Could Country-Level Factors Explain Sex Differences in Dementia Incidence and Prevalence? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*, *91*(4), 1231–1241. https://doi.org/10.3233/JAD-220724

Itzhaki, R. F., Lin, W.-R., Shang, D., Wilcock, G. K., Faragher, B., & Jamieson, G. A. (1997). Herpes simplex virus type 1 in brain and risk of Alzheimer's disease. *The Lancet*, *349*(9047), 241–244. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)10149-5

Jagger, C., Andersen, K., Breteler, M. M., Copeland, J. R., Helmer, C., Baldereschi, M., Fratiglioni, L., Lobo, A., Soininen, H., Hofman, A., & Launer, L. J. (2000). Prognosis with dementia in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology*, *54*(11 Suppl 5), S16-20.

Kawas, C., Resnick, S., Morrison, A., Brookmeyer, R., Corrada, M., Zonderman, A., Bacal, C., Lingle, D. D., & Metter, E. (1997). A prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease. *Neurology*, *48*(6), 1517–1521. https://doi.org/10.1212/WNL.48.6.1517

Koelle, D. M., Magaret, A., Warren, T., Schellenberg, G. D., & Wald, A. (2010). APOE genotype is associated with oral herpetic lesions but not genital or oral herpes simplex virus shedding. *Sexually Transmitted Infections*, *86*(3), 202–206. https://doi.org/10.1136/sti.2009.039735

Kristensson, K. (2011). Microbes' roadmap to neurons. *Nature Reviews Neuroscience*, *12*(6), 345–357. https://doi.org/10.1038/nrn3029

Kuljiš, R. O. (2010). Grand challenges in dementia 2010. *Frontiers in Neurology*, *1*. https://doi.org/10.3389/fneur.2010.00004

Lambert, M. P., Barlow, A. K., Chromy, B. A., Edwards, C., Freed, R., Liosatos, M., Morgan, T. E., Rozovsky, I., Trommer, B., Viola, K. L., Wals, P., Zhang, C., Finch, C. E., Krafft, G. A., & Klein, W. L. (1998). Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Aβ1–42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(11), 6448–6453. https://doi.org/10.1073/pnas.95.11.6448

Lee, V. M.-Y., Balin, B. J., Otvos, L., & Trojanowski, J. Q. (1991). A68: A Major Subunit of Paired Helical Filaments and Derivatized Forms of Normal Tau. *Science*, *251*(4994), 675–678. https://doi.org/10.1126/science.1899488

Lisco, G., Giagulli, V. A., De Tullio, A., De Pergola, G., Guastamacchia, E., & Triggiani, V. (2020). Age-Related Male Hypogonadism and Cognitive Impairment

in the Elderly: Focus on the Effects of Testosterone Replacement Therapy on Cognition. *Geriatrics*, *5*(4), Article 4. https://doi.org/10.3390/geriatrics5040076

Liu, X., Davis, C. M., & Alkayed, N. J. (2018). P450 Eicosanoids and Reactive Oxygen Species Interplay in Brain Injury and Neuroprotection. *Antioxidants & Redox Signaling*, *28*(10), 987–1007. https://doi.org/10.1089/ars.2017.7056

Livingston, G., Sommerlad, A., Orgeta, V., Costafreda, S. G., Huntley, J., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., Burns, A., Cohen-Mansfield, J., Cooper, C., Fox, N., Gitlin, L. N., Howard, R., Kales, H. C., Larson, E. B., Ritchie, K., Rockwood, K., Sampson, E. L., … Mukadam, N. (2017). Dementia prevention, intervention, and care. *The Lancet*, *390*(10113), 2673–2734. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31363-6

Ma, B. (2015). Novor: Real-Time Peptide de Novo Sequencing Software. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, *26*(11), 1885–1894. https://doi.org/10.1007/s13361-015-1204-0

Ma, B., Zhang, K., Hendrie, C., Liang, C., Li, M., Doherty-Kirby, A., & Lajoie, G. (2003). PEAKS: Powerful software for peptide de novo sequencing by tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *17*(20), 2337–2342. https://doi.org/10.1002/rcm.1196

Marrocco, I., Altieri, F., & Peluso, I. (2017). Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2017*(1), 6501046. https://doi.org/10.1155/2017/6501046

McGavern, D. B., & Kang, S. S. (2011). Illuminating viral infections in the nervous system. *Nature Reviews Immunology*, *11*(5), Article 5. https://doi.org/10.1038/nri2971

McKeith, I. G., Boeve, B. F., Dickson, D. W., Halliday, G., Taylor, J.-P., Weintraub, D., Aarsland, D., Galvin, J., Attems, J., Ballard, C. G., Bayston, A., Beach, T. G., Blanc, F., Bohnen, N., Bonanni, L., Bras, J., Brundin, P., Burn, D., Chen-Plotkin, A., … Kosaka, K. (2017). Diagnosis and management of dementia with

Lewy bodies. *Neurology*, *89*(1), 88–100. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004058

Mielke, M. M., Vemuri, P., & Rocca, W. A. (2014). Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: Assessing sex and gender differences. *Clinical Epidemiology*, *6*, 37–48. https://doi.org/10.2147/CLEP.S37929

Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*, *38*(1), 23–38. https://doi.org/10.1038/npp.2012.112

Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*(1), 9613090. https://doi.org/10.1155/2019/9613090

Narendra, D. P., Jin, S. M., Tanaka, A., Suen, D.-F., Gautier, C. A., Shen, J., Cookson, M. R., & Youle, R. J. (2010). PINK1 Is Selectively Stabilized on Impaired Mitochondria to Activate Parkin. *PLOS Biology*, *8*(1), e1000298. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000298

Ng, Y. P., Lee, S. M. Y., Cheung, T. K. W., Nicholls, J. M., Peiris, J. S. M., & Ip, N. Y. (2010). Avian influenza H5N1 virus induces cytopathy and proinflammatory cytokine responses in human astrocytic and neuronal cell lines. *Neuroscience*, *168*(3), 613–623. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.04.013

Nichols, E., Steinmetz, J. D., Vollset, S. E., Fukutaki, K., Chalek, J., Abd-Allah, F., Abdoli, A., Abualhasan, A., Abu-Gharbieh, E., Akram, T. T., Hamad, H. A., Alahdab, F., Alanezi, F. M., Alipour, V., Almustanyir, S., Amu, H., Ansari, I., Arabloo, J., Ashraf, T., … Vos, T. (2022). Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: An analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Public Health*, *7*(2), e105–e125. https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00249-8

Nishi, H., Shaytan, A., & Panchenko, A. R. (2014). Physicochemical mechanisms of protein regulation by phosphorylation. *Frontiers in Genetics*, *5*. https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00270

O'Brien, J. T., & Thomas, A. (2015). Vascular dementia. *The Lancet*, *386*(10004), 1698–1706. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00463-8

Ott, A., Breteler, M. M. B., Harskamp, F. van, Stijnen, T., & Hofman, A. (1998). Incidence and Risk of Dementia: The Rotterdam study. *American Journal of Epidemiology*, *147*(6), 574–580. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009489

Peluso, R., Haase, A., Stowring, L., Edwards, M., & Ventura, P. (1985). A Trojan Horse mechanism for the spread of visna virus in monocytes. *Virology*, *147*(1), 231–236. https://doi.org/10.1016/0042-6822(85)90246-6

Perry, G., Zhu, X., Smith, M. A., Sorensen, A., Avila, J., Wang, J.-Z., Xia, Y.-Y., Grundke-Iqbal, I., & Iqbal, K. (2013). Abnormal Hyperphosphorylation of Tau: Sites, Regulation, and Molecular Mechanism of Neurofibrillary Degeneration. *Journal of Alzheimer's Disease*, *33*(s1), S123–S139. https://doi.org/10.3233/JAD-2012-129031

Perry, V. H., & Holmes, C. (2014). Microglial priming in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology*, *10*(4), 217–224. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.38

Piacentini, R., Civitelli, L., Ripoli, C., Marcocci, M. E., De Chiara, G., Garaci, E., Azzena, G. B., Palamara, A. T., & Grassi, C. (2011a). HSV-1 promotes Ca2+-mediated APP phosphorylation and Aβ accumulation in rat cortical neurons. *Neurobiology of Aging*, *32*(12), 2323.e13-2323.e26. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.06.009

Piacentini, R., Civitelli, L., Ripoli, C., Marcocci, M. E., De Chiara, G., Garaci, E., Azzena, G. B., Palamara, A. T., & Grassi, C. (2011b). HSV-1 promotes Ca2+-mediated APP phosphorylation and Aβ accumulation in rat cortical neurons. *Neurobiology of Aging*, *32*(12), 2323.e13-2323.e26. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.06.009

Pinares-Garcia, P., Stratikopoulos, M., Zagato, A., Loke, H., & Lee, J. (2018). Sex: A Significant Risk Factor for Neurodevelopmental and Neurodegenerative

Disorders. *Brain Sciences*, *8*(8), Article 8. https://doi.org/10.3390/brainsci8080154

Prince, M., Bryce, R., Albanese, E., Wimo, A., Ribeiro, W., & Ferri, C. P. (2013). The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimer's & Dementia*, *9*(1), 63-75.e2. https://doi.org/10.1016/j.jalz.2012.11.007

Prince, M., Wimo, A., Guerchet, M., Ali, G.-C., Wu, Y.-T., & Prina, M. (2015). *World Alzheimer Report 2015: The global impact of dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends*. https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2015/

Querfurth, H. W., & LaFerla, F. M. (2010). Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, *362*(4), 329–344. https://doi.org/10.1056/NEJMra0909142

Ray, S., Britschgi, M., Herbert, C., Takeda-Uchimura, Y., Boxer, A., Blennow, K., Friedman, L. F., Galasko, D. R., Jutel, M., Karydas, A., Kaye, J. A., Leszek, J., Miller, B. L., Minthon, L., Quinn, J. F., Rabinovici, G. D., Robinson, W. H., Sabbagh, M. N., So, Y. T., … Wyss-Coray, T. (2007). Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nature Medicine*, *13*(11), 1359–1362. https://doi.org/10.1038/nm1653

Readhead, B., Haure-Mirande, J.-V., Funk, C. C., Richards, M. A., Shannon, P., Haroutunian, V., Sano, M., Liang, W. S., Beckmann, N. D., Price, N. D., Reiman, E. M., Schadt, E. E., Ehrlich, M. E., Gandy, S., & Dudley, J. T. (2018). Multiscale Analysis of Independent Alzheimer's Cohorts Finds Disruption of Molecular, Genetic, and Clinical Networks by Human Herpesvirus. *Neuron*, *99*(1), 64-82.e7. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.05.023

Robert Koch-Institut. (2023). *Demenzerkrankungen in Deutschland: Epidemiologie, Trends und Herausforderungen. Journal of Health Monitoring 3/2023.* https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsJ/Focus/JHealthMonit_2023_03_Demenz.pdf?__blob=publicationFile

Roepstorff, P., & Fohlman, J. (1984). Letter to the editors. *Biomedical Mass Spectrometry*, *11*(11), 601–601. https://doi.org/10.1002/bms.1200111109

Ross, M. T., Grafham, D. V., Coffey, A. J., Scherer, S., McLay, K., Muzny, D., Platzer, M., Howell, G. R., Burrows, C., Bird, C. P., Frankish, A., Lovell, F. L., Howe, K. L., Ashurst, J. L., Fulton, R. S., Sudbrak, R., Wen, G., Jones, M. C., Hurles, M. E., … Bentley, D. R. (2005). The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature*, *434*(7031), 325–337. https://doi.org/10.1038/nature03440

Ruigrok, A. N. V., Salimi-Khorshidi, G., Lai, M.-C., Baron-Cohen, S., Lombardo, M. V., Tait, R. J., & Suckling, J. (2014). A meta-analysis of sex differences in human brain structure. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *39*, 34–50. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.12.004

Sacher, J., Neumann, J., Okon-Singer, H., Gotowiec, S., & Villringer, A. (2013). Sexual dimorphism in the human brain: Evidence from neuroimaging. *Magnetic Resonance Imaging*, *31*(3), 366–375. https://doi.org/10.1016/j.mri.2012.06.007

Schwartz, M., & Baruch, K. (2014). The resolution of neuroinflammation in neurodegeneration: Leukocyte recruitment via the choroid plexus. *The EMBO Journal*, *33*(1), 7–22. https://doi.org/10.1002/embj.201386609

Selkoe, D. J. (2001). Alzheimer's Disease: Genes, Proteins, and Therapy. *Physiological Reviews*, *81*(2), 741–766. https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.741

Selkoe, D. J., & Schenk, D. (2003). Alzheimer's Disease: Molecular Understanding Predicts Amyloid-Based Therapeutics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *43*(Volume 43, 2003), 545–584. https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140248

Shankar, G. M., Li, S., Mehta, T. H., Garcia-Munoz, A., Shepardson, N. E., Smith, I., Brett, F. M., Farrell, M. A., Rowan, M. J., Lemere, C. A., Regan, C. M., Walsh, D. M., Sabatini, B. L., & Selkoe, D. J. (2008). Amyloid-β protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nature Medicine*, *14*(8), 837–842. https://doi.org/10.1038/nm1782

Skaletsky, H., Kuroda-Kawaguchi, T., Minx, P. J., Cordum, H. S., Hillier, L., Brown, L. G., Repping, S., Pyntikova, T., Ali, J., Bieri, T., Chinwalla, A., Delehaunty, A., Delehaunty, K., Du, H., Fewell, G., Fulton, L., Fulton, R., Graves, T., Hou, S.-F., … Page, D. C. (2003). The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*, *423*(6942), 825–837. https://doi.org/10.1038/nature01722

Smith, L. M., & Kelleher, N. L. (2013). Proteoform: A single term describing protein complexity. *Nature Methods*, *10*(3), 186–187. https://doi.org/10.1038/nmeth.2369

Sofroniew, M. V. (2015). Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nature Reviews Neuroscience*, *16*(5), 249–263. https://doi.org/10.1038/nrn3898

Soscia, S. J., Kirby, J. E., Washicosky, K. J., Tucker, S. M., Ingelsson, M., Hyman, B., Burton, M. A., Goldstein, L. E., Duong, S., Tanzi, R. E., & Moir, R. D. (2010a). The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid β-Protein Is an Antimicrobial Peptide. *PLOS ONE*, *5*(3), e9505. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009505

Soscia, S. J., Kirby, J. E., Washicosky, K. J., Tucker, S. M., Ingelsson, M., Hyman, B., Burton, M. A., Goldstein, L. E., Duong, S., Tanzi, R. E., & Moir, R. D. (2010b). The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid β-Protein Is an Antimicrobial Peptide. *PLOS ONE*, *5*(3), e9505. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009505

Spires-Jones, T. L., & Hyman, B. T. (2014). The Intersection of Amyloid Beta and Tau at Synapses in Alzheimer's Disease. *Neuron*, *82*(4), 756–771. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.05.004

Stevens, J. G., Wagner, E. K., Devi-Rao, G. B., Cook, M. L., & Feldman, L. T. (1987). RNA Complementary to a Herpesvirus α Gene mRNA Is Prominent in Latently Infected Neurons. *Science*, *235*(4792), 1056–1059. https://doi.org/10.1126/science.2434993

Su, L.-J., Zhang, J.-H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., Jiang, F., & Peng, Z.-Y. (2019). Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*(1), 5080843. https://doi.org/10.1155/2019/5080843

Tran, N. H., Zhang, X., Xin, L., Shan, B., & Li, M. (2017). De novo peptide sequencing by deep learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(31), 8247–8252. https://doi.org/10.1073/pnas.1705691114

Tukiainen, T., Villani, A.-C., Yen, A., Rivas, M. A., Marshall, J. L., Satija, R., Aguirre, M., Gauthier, L., Fleharty, M., Kirby, A., Cummings, B. B., Castel, S. E., Karczewski, K. J., Aguet, F., Byrnes, A., Lappalainen, T., Aviv Regev, Ardlie, K. G., Hacohen, N., & MacArthur, D. G. (2017). Landscape of X chromosome inactivation across human tissues. *Nature*, *550*(7675), 244–248. https://doi.org/10.1038/nature24265

Vassar, R., Bennett, B. D., Babu-Khan, S., Kahn, S., Mendiaz, E. A., Denis, P., Teplow, D. B., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R., Luo, Y., Fisher, S., Fuller, J., Edenson, S., Lile, J., Jarosinski, M. A., Biere, A. L., Curran, E., Burgess, T., … Citron, M. (1999). β-Secretase Cleavage of Alzheimer's Amyloid Precursor Protein by the Transmembrane Aspartic Protease BACE. *Science*, *286*(5440), 735–741. https://doi.org/10.1126/science.286.5440.735

Venegas, C., Kumar, S., Franklin, B. S., Dierkes, T., Brinkschulte, R., Tejera, D., Vieira-Saecker, A., Schwartz, S., Santarelli, F., Kummer, M. P., Griep, A., Gelpi, E., Beilharz, M., Riedel, D., Golenbock, D. T., Geyer, M., Walter, J., Latz, E., & Heneka, M. T. (2017). Microglia-derived ASC specks cross-seed amyloid-β in Alzheimer's disease. *Nature*, *552*(7685), 355–361. https://doi.org/10.1038/nature25158

Walker, K. A., Ficek, B. N., & Westbrook, R. (2019). Understanding the Role of Systemic Inflammation in Alzheimer's Disease. *ACS Chemical Neuroscience*, *10*(8), 3340–3342. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.9b00333

Wang, M., Zhang, X., Jia, W., Zhang, C., Boczek, T., Harding, M., Liu, Y., Li, M., Zhang, S., Lei, S., Zhang, D., & Guo, F. (2021). Circulating glutathione peroxidase and superoxide dismutase levels in patients with epilepsy: A meta-analysis. *Seizure - European Journal of Epilepsy*, *91*, 278–286. https://doi.org/10.1016/j.seizure.2021.07.001

Wang, Q., Yu, Q., & Wu, M. (2022). Antioxidant and neuroprotective actions of resveratrol in cerebrovascular diseases. *Frontiers in Pharmacology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.948889

Wang, X., Su, B., Zheng, L., Perry, G., Smith, M. A., & Zhu, X. (2009). The role of abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, *109*(s1), 153–159. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.05867.x

Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H., & Zhu, X. (2014). Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Biochimica et biophysica acta*, *1842*(8), 1240–1247. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.10.015

Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, *217*(6), 1915–1928. https://doi.org/10.1083/jcb.201708007

Wang, Y., & Mandelkow, E. (2016). Tau in physiology and pathology. *Nature Reviews Neuroscience*, *17*(1), 22–35. https://doi.org/10.1038/nrn.2015.1

Wolfe, M. S., Xia, W., Ostaszewski, B. L., Diehl, T. S., Kimberly, W. T., & Selkoe, D. J. (1999). Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and γ-secretase activity. *Nature*, *398*(6727), 513–517. https://doi.org/10.1038/19077

Woods, B., Rai, H. K., Elliott, E., Aguirre, E., Orrell, M., & Spector, A. (2023). Cognitive stimulation to improve cognitive functioning in people with dementia—Woods, B - 2023 | Cochrane Library. *Cochrane Library*, *Issue 1*, 7–15. https://doi.org/10.1002/14651858.CD005562.pub3

World Health Organization. (2023, März 15). *Dementia* [Fact sheet]. WHO Fact Sheet on Dementia. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia

Yu, T., Robotham, J. L., & Yoon, Y. (2006). Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(8), 2653–2658. https://doi.org/10.1073/pnas.0511154103

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig, ohne fremde Hilfe und nur unter Benutzung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegen.

Düsseldorf, den 24.02.2025

Ort, Datum

Unterschrift