

---

# Nederlandse samenvatting

## INLEIDING

De ziekte van Alzheimer is de meest voorkomende oorzaak van dementie. In 2030 zullen naar verwachting 75 miljoen mensen lijden aan deze ziekte. Hoewel al veel over de ziekte van Alzheimer bekend is, weet men niet hoe de ziekte precies ontstaat.

De heersende veronderstelling is als volgt. Jaren voordat de ziekte zich als dementie manifesteert hoopt zich amyloid- $\beta$  eiwit (of plaques) op in het hersenweefsel buiten de hersencellen. Vervolgens vormen zich eiwitkluwens van gefosforyleerd tau in de hersencellen. Deze twee processen leiden tot zenuwschade en celdood, waarna in de regel geheugenproblemen volgen.

Tot op heden zijn medicijnonderzoeken met anti-amyloid middelen, bij patiënten met een milde tot matige vorm van de ziekte van Alzheimer, niet geslaagd. Dat is waarschijnlijk omdat deze patiënten al forse onherstelbare hersenschade hebben. Tegenwoordig richt onderzoek zich daarom vooral op secundaire preventie: het vroeg opsporen van de ziekte met een oogmerk om vroeg tot behandeling over te kunnen gaan en zo het ziekteproces te remmen. Het stoppen of afremmen van amyloid- $\beta$  plaque-ophoping bij mensen zonder geheugenproblemen, zou ertoe kunnen leiden dat de tweede ziektefase, de vorming van gefosforyleerd tau, en daarmee de hersenschade, kan worden voorkomen.

Het primaire doel van dit proefschrift en het onderliggende onderzoek is het begin van het ziekteproces van de ziekte van Alzheimer inzichtelijk te maken. Wij hebben zowel amyloid- $\beta$  stapeling in gezonde eeneiige tweelingen onderzocht, als eiwitprofielen in de hersenvloeistof van patiënten met de ziekte van Alzheimer geanalyseerd.

### **Preklinische ziekte van Alzheimer**

Ongeveer 20% van de 60-jarigen en tot 40% van de 90-jarigen heeft amyloid- $\beta$  stapeling in het hersenweefsel maar (nog) geen geheugenproblemen. Dit wordt beschouwd als het eerste ziektestadium, ook wel de 'preklinische' ziekte van Alzheimer genoemd. In dit proefschrift worden achtereenvolgens een aantal discussiepunten ten aanzien van de definitie van 'preklinische ziekte van Alzheimer', de diagnostische procedures en het ziekteproces achter vroege amyloid- $\beta$  stapeling doorgenomen.

### **Het meten van amyloid stapeling**

De meest precieze manier om amyloid- $\beta$  stapeling te meten, is om na de dood het hersenweefsel te onderzoeken. Tegenwoordig kan amyloid- $\beta$  stapeling ook in levende mensen gemeten worden, met behulp van biomarkers. Biomarkers zijn meetbare indicatoren van een stof, in dit geval van amyloid- $\beta$ . Amyloid- $\beta$  stapeling in de hersenen wordt

gezien als verhoogde amyloid binding op een PET scan en als verlaagde concentratie van amyloid- $\beta$  1-42 in het hersenvocht. Deze twee manieren van meten komen grotendeels overeen, echter bij 15% van de mensen is dit niet het geval. Om deelnemers met preklinische ziekte van Alzheimer voor anti-amyloid medicijnonderzoek te werven, is het van groot belang om een betrouwbare amyloid- $\beta$  meting te kunnen doen.

Voor het bepalen van amyloid- $\beta$  stapeling op PET beelden wordt meestal de visuele beoordeling van de opgetelde late semi-quantitative standardized uptake value ratio (SUVR) beelden gebruikt, gemaakt uit een 20 minuten durende scan. Eerdere studies laten een grote overeenkomst zien tussen visuele beoordelingen van SUVR beelden van verschillende raters en tussen de amyloid- $\beta$  stapeling op PET beelden en post-mortem hersenonderzoek. Echter, het visueel (kwalitatief) scoren van SUVR beelden kan leiden tot overschatting van amyloid- $\beta$  stapeling, in vergelijking met kwantitatieve 'non-displaceable binding potential' ( $BP_{ND}$ ) waardes.  $BP_{ND}$  PET beelden moeten worden gemaakt uit een 90 minuten durende scan, maar kunnen dan wel ook de klaring en bloedstroom door de hersenen meerekenen. Daarom zouden kwantitatieve  $BP_{ND}$  beelden een hogere betrouwbaarheid kunnen hebben, zelfs voor visuele beoordeling. Dit geldt vooral voor mensen in een zeer vroeg ziektestadium, met relatief weinig amyloid- $\beta$  plaques, aangezien de meeste ruis in PET scan gegevens zit in deze lage waardes. Voor [ $^{18}F$ ]amyloid-radioliganden is nog niet onderzocht of visuele beoordeling, het beantwoorden van de vraag of er amyloid- $\beta$  stapeling is, het best kan worden gedaan met SUVR of  $BP_{ND}$  beelden.

Amyloid- $\beta$  ontstaat door het knippen van het 'amyloid precursor proteïn' (APP) door BACE1 en daarna door gamma-secretase. Hierdoor ontstaan verschillende vormen van amyloid- $\beta$ , waaronder amyloid- $\beta$  1-42, 1-40, en 1-38, alle drie meetbaar in het hersenvocht, waarvan amyloid- $\beta$  1-42 het meest gevoelig is om te gaan stapelen. Recente resultaten van onderzoek bij mensen zonder en met milde geheugenproblemen tonen zeer variabele waardes van amyloid- $\beta$  1-42 in het hersenvocht. Deze waardes verschillen per centrum en per gebruikte testkit. Eén van de redenen hiervoor zou kunnen zijn dat de waardes van amyloid- $\beta$  1-42 niet alleen stapeling maar ook deels (en per testkit en centrum verschillende hoeveelheden van) amyloid- $\beta$  productie weergeven. Daarom is al vaker gesuggereerd dat het beter is om de ratio van amyloid- $\beta$  1-42/1-40 te gebruiken. Hierbij kan gecorrigeerd worden voor amyloid- $\beta$  productie, waardoor de ratio waardes een betere weerspiegeling van daadwerkelijke amyloid- $\beta$  stapeling zouden kunnen te zijn.

Amyloid- $\beta$  biomarkers op PET en in hersenvocht komen het minst overeen bij mensen zonder geheugenproblemen, waarschijnlijk doordat deze mensen in een zeer vroeg ziektestadium zitten. In dit stadium is amyloid- $\beta$  stapeling al wel gestart, maar nog niet zichtbaar als plaques op de PET beelden. Het is daarom nog onzeker welke van deze biomarkers de preklinische ziekte van Alzheimer het best weergeeft. Er is gesuggereerd dat amyloid- $\beta$  veranderingen het eerst meetbaar zijn in hersenvocht, maar dit moet nog verder onderzocht worden.

### **Prestatie op geheugentesten in preklinische ziekte van Alzheimer**

Eerdere onderzoeken hebben aangetoond dat amyloid- $\beta$  stapeling bij mensen zonder geheugenproblemen een relatie zou kunnen hebben met minder goede prestaties op geheugentesten en met meer geheugenklachten. Maar tot nu toe zijn de resultaten niet eenduidig, mogelijk door een grote variatie in gebruikte geheugentesten, de definitie van geheugenklachten en de manier waarop amyloid- $\beta$  is gemeten. We weten nog niet of de mogelijke relatie tussen amyloid- $\beta$  stapeling en prestaties op geheugentesten ook een gedeeld onderliggend proces weergeeft.

### **Het proces van amyloid- $\beta$ stapeling**

#### **Genen**

Eerdere onderzoeken waarin dementie door de ziekte van Alzheimer genomen werd als uitkomst, hebben aangetoond dat de maximale bijdrage van genetische factoren ongeveer 80% is. Deze resultaten suggereren dat er een grote genetische bijdrage is aan het ontwikkelen van de ziekte van Alzheimer. Dat wordt verder onderbouwd door de oplopende tweelinggelijkenis voor Alzheimer dementie bij oplopende duur waarin de tweelingen gevolgd werden (d.w.z. beide helften van een identieke tweeling zullen de ziekte van Alzheimer krijgen, echter een van hen heeft een beschermende factor, niet-gedeeld binnen het paar, waardoor de ziekte zich bij diegene pas later openbaart). Er is echter ook bewijs voor een aanmerkelijk effect van omgevingsinvloeden. Dit blijkt uit de verschillen in leeftijd waarop de ziekte zich openbaart in eenige tweelingen die concordant zijn voor Alzheimer dementie (d.w.z. beide helften van de tweeling hebben de ziekte van Alzheimer). Verder is er nog weinig bekend over de genetische achtergrond van amyloid- $\beta$  productie en stapeling in mensen zonder geheugenproblemen.

Het Apolipoproteïne-E (APOE)  $\epsilon 4$  allel is de grootste bekende genetische risicofactor voor de ziekte van Alzheimer. Hoewel het precieze onderliggende mechanisme niet bekend is, weten we wel dat mensen met een APOE  $\epsilon 4$  allel eerder amyloid- $\beta$  gaan stapelen. Ongeveer 25-40% van de patiënten met dementie op basis van de ziekte van Alzheimer hebben geen APOE  $\epsilon 4$  allel en voor deze patiënten is het ontstaansmechanisme van de ziekte nog minder duidelijk. Eerder onderzoek laat zien dat de apoE4 eiwit vorm gelinkt wordt aan verminderde amyloid klaring en verwerking, synaptogenese, glucose en cholesterol metabolisme in de hersenen. De concentraties van twee met de ziekte van Alzheimer geassocieerde eiwitten, namelijk beta-secretase-1 (BACE1) en chitinase-3-like proteïne-1 (YKL40), lijken APOE  $\epsilon 4$ -afhankelijk te zijn. Daarom zou het goed kunnen dat APOE  $\epsilon 4$  genotype ook andere eiwitten in het hersenvocht beïnvloedt. Het onderzoeken van eiwitexpressie in het hersenvocht kan mogelijk nieuwe inzichten geven in ontstaansmechanismes van de ziekte van Alzheimer en of deze APOE  $\epsilon 4$  genotype afhankelijk zijn.

Uit Genome Wide Association Studies blijkt dat neuro-inflammatie een grote rol speelt in het ontstaan en de ernst van de ziekte van Alzheimer, hierbij is ook een aantal Alzheimer risicogenen geïdentificeerd. Inflammatie lijkt iets te maken te hebben met het ontstaansmechanisme van de ziekte van Alzheimer, waaronder met amyloid- $\beta$  stapeling in de hersenen. Daarom zou het onderzoeken van inflammatie-eiwitten nieuwe inzichten kunnen geven in de rol van inflammatie in de ziekte van Alzheimer.

Tot slot wordt ongeveer 1% van de gevallen van de ziekte van Alzheimer veroorzaakt door een autosomaal dominante mutatie in amyloid- $\beta$  productiegenen amyloid precursor protein (APP), presenilin1 (PSEN1), of presenilin2 (PSEN2). Deze mutaties leiden tot een overproductie van amyloid- $\beta$  eiwitten, gevolgd door amyloid- $\beta$  stapeling. We weten niet of, en zo ja in welke ziektefase, overproductie van amyloid- $\beta$  ook een rol speelt bij amyloid- $\beta$  stapeling in de niet-erfelijke ziekte van Alzheimer. Onderzoeken met BACE1 remmers, die de amyloid- $\beta$  productie verminderen, waren eerder niet succesvol bij patiënten met gevorderde ziekte van Alzheimer en deze worden momenteel in de vroegste ziektefase getest. Om de beste interventiedoelen te vinden onderzoeken we de relatie tussen productie en stapeling van amyloid- $\beta$  bij mensen zonder geheugenproblemen.

### **Omgeving**

Uit eerder onderzoek is gebleken dat er verschillende omgevingsfactoren zijn, die mogelijk invloed hebben op het ontwikkelen van amyloid- $\beta$  stapeling. Hieronder vallen bijvoorbeeld opleidingsniveau, medische voorgeschiedenis en leefstijlfactoren zoals roken, alcohol en voedingsgewoontes. Hoewel omgevingsfactoren mogelijk aangepast kunnen worden, ontbreekt tot op heden bewijs dat dit daadwerkelijk beschermt tegen het ontwikkelen van de ziekte van Alzheimer. Verder is nog niet goed bekend wat de invloed van omgevingsfactoren is op Alzheimer biomarkers.

### **Doel van dit proefschrift**

Dit proefschrift heeft twee hoofddoelen:

I. Hoe kan de diagnose voor preklinische ziekte van Alzheimer het beste worden gesteld, wat is de meest accurate methode om [ $^{18}$ F]flutemetamol PET beelden visueel te beoordelen, met  $BP_{ND}$  of SUVR beelden, en zijn amyloid- $\beta$  maten in hersenvocht en op PET beelden te vergelijken bij mensen zonder geheugenproblemen?

II. Hoe zit het ziekteproces achter de ziekte van Alzheimer in elkaar, heeft amyloid- $\beta$  productie invloed op amyloid- $\beta$  stapeling in de vroege fase van de ziekte van Alzheimer, zijn er APOE-afhankelijke moleculaire processen die te maken hebben met amyloid- $\beta$  stapeling, en is amyloid- $\beta$  stapeling gerelateerd aan geheugenfunctie in preklinische ziekte van Alzheimer?

## RESULTATEN

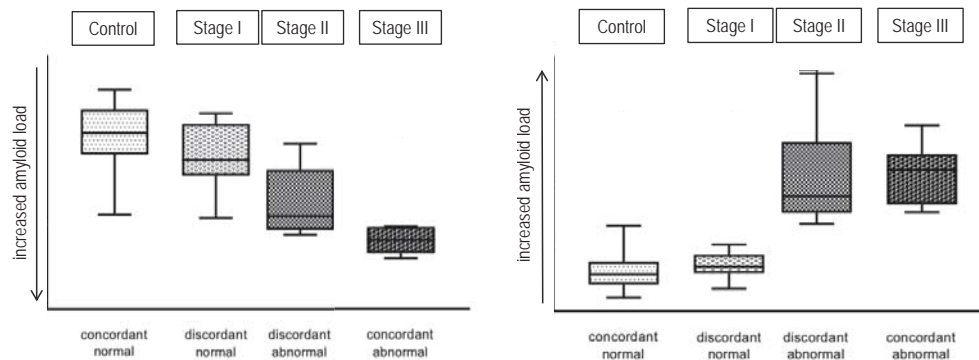
### Deel I. Preklinische ziekte van Alzheimer

In **hoofdstuk 3** hebben we onderzocht welke van de twee methoden ( $BP_{ND}$  of SUVr beelden) om [ $^{18}F$ ]flutemetamol PET beelden te scoren het meest accuraat is voor het visueel beoordelen van amyloid- $\beta$  stapeling bij mensen zonder geheugenproblemen. Visuele beoordeling wordt meestal uitgevoerd op opgetelde late beelden of SUV-beelden verkregen van statische PET-acquisitie, maar SUVr kan, in vergelijking met kwantitatieve dynamische  $BP_{ND}$  afbeeldingen, de amyloid- $\beta$  stapeling overschatten. De beoordelingen van de PET-afbeeldingen op basis van  $BP_{ND}$  kwamen beter overeen tussen de beoordelaars dan bij SUVr. Daarnaast lijkt het erop dat statische SUVr afbeeldingen inderdaad de werkelijke amyloid- $\beta$  stapeling overschatten. Voor het rekruteren van gezonde mensen met amyloid- $\beta$  stapeling voor medicatie onderzoek zou daarom, ondanks de langere scanduur voor het verkrijgen van  $BP_{ND}$  afbeeldingen, overwogen kunnen worden om dynamische amyloid PET-scans te verrichten.

In **hoofdstuk 4 en 6** hebben we de hersenvocht ratio amyloid- $\beta$  1-42/1-40 en PET  $BP_{ND}$ -waarden gebruikt om de relatie tussen deze twee amyloid- $\beta$  stapelingsmarkers te beoordelen. In **hoofdstuk 4** vonden we een redelijk sterke associatie tussen ratio amyloid- $\beta$  1-42/1-40 in het hersenvocht en PET- $BP_{ND}$ . Bovendien waren de cross-twin cross-trait correlaties tussen ratio amyloid- $\beta$  1-42/1-40 in het hersenvocht en PET- $BP_{ND}$  ook statistisch significant. Dit zou er goed op kunnen wijzen dat deze twee markers hetzelfde biologische proces van amyloid- $\beta$  stapeling meten. Daarnaast zagen we in **hoofdstuk 6** met het gebruik van het tweeling discordantie model (discordantie wil zeggen dat een helft van de tweeling geen amyloid- $\beta$  stapeling heeft en de andere helft wel, zie Figuur 1) als een stadiëringsmodel voor amyloid- $\beta$  pathologie zagen we eenzelfde dosis effect voor amyloid- $\beta$  hoeveelheden gemeten in hersenvocht en op PET.

### Deel II. Ziekteproces achter de ziekte van Alzheimer

In **hoofdstuk 4** hebben we onderzocht of er een verband bestaat tussen amyloid- $\beta$  productie en stapeling in de preklinische fase van de ziekte van Alzheimer. We hebben hiervoor drie markers gebruikt als maat voor productie van amyloid- $\beta$  (BACE1, amyloid- $\beta$  40, amyloid- $\beta$  38 in hersenvocht) en twee manieren om de hoeveelheid amyloid- $\beta$  stapeling te meten (ratio amyloid- $\beta$  1-42/1-40 en [ $^{18}F$ ] flutemetamol  $BP_{ND}$ ). We vonden een zwakke, maar significante, relatie tussen hogere waardes van BACE1 (productie) en lagere waardes van de ratio amyloid- $\beta$  1-42/1-40 (stapeling), met een trend op cross-twin cross-trait analyse. Dit suggereert dat deze relatie een gedeelde biologische achtergrond heeft. Dit zagen we ook terug in het tweeling discordantie model: in beide tweelingen van een discordant paar zijn



**Figuur 1. Tweeling discordantiemodel als hypothetisch ziektestadiummodel**

Boxplots voor de verhouding amyloid- $\beta$  1-42/1-40 (links) en [<sup>18</sup>F] flutemetamol BP<sub>ND</sub> (rechts) die de amyloid- $\beta$  stapeling tonen verdeeld over de status van tweeling discordantie. Hypothetisch model voor ernst van amyloid- $\beta$  stapeling: tweelingen van een paar die beiden een normale PET-scan hebben (concordant normaal, controle), de helft van een tweeling van een discordant paar met normaal amyloid- $\beta$  (discordant normaal, stadium I), de helft van een tweeling van een discordant paar met abnormaal amyloid- $\beta$  (discordant abnormaal, stadium II) en tweelingparen die beiden een abnormale PET-scan hebben (concordant abnormaal, fase III). Van links naar rechts met geleidelijk toenemende amyloid- $\beta$  stapeling van controlegroep tot stadium I, II en III.

de BACE1 waardes verhoogd ten opzichte van die van concordant normale tweelingen. Dit zou erop kunnen wijzen dat de BACE1 waardes omhoog gaan vlak voordat de amyloid- $\beta$  stapeling op PET beelden zichtbaar is.

Daarnaast vonden we in **hoofdstuk 4** dat 15% van de tweelingen discordant was voor de aanwezigheid van amyloid- $\beta$  pathologie, dit wijst op een substantiële bijdrage van omgevingsfactoren aan het ontwikkelen ervan. Dit werd verder onderbouwd door lagere tweeling correlaties (de overeenkomst voor een marker binnen een tweelingpaar) voor amyloid- $\beta$  stapelings markers (0.52-0.54) dan voor productie markers (0.79-0.86). Dit wijst erop dat, in tegenstelling tot bij amyloid- $\beta$  productie, amyloid- $\beta$  stapeling beïnvloed wordt door omgevingsfactoren. En die factoren zijn mogelijk beïnvloedbaar.

In **hoofdstuk 5** hebben we onderzocht of het bezit van een APOE  $\epsilon$ 4 allel in patiënten met amyloid- $\beta$  pathologie geassocieerd is met specifieke eiwitexpressiepatronen in het hersenvocht. De aanwezigheid van APOE  $\epsilon$ 4 afhankelijke eiwitexpressie zou meer duidelijkheid kunnen geven over de mogelijke verschillende onderliggende ziekteprocessen bij de ziekte van Alzheimer. In APOE  $\epsilon$ 4 dragers met amyloid- $\beta$  pathologie vonden we bij deelnemers met een normaal geheugen veranderde concentraties van eiwitten die betrokken zijn bij de complementroute en glycolyse. Bij patiënten met een matige geheugenstoornis vonden we lagere concentraties van eiwitten die betrokken zijn bij synapsstructuur en -functie. De niet-dragers van een APOE  $\epsilon$ 4 allel met amyloid- $\beta$

pathologie en een normale geheugenfunctie vertoonden lagere concentraties van eiwitten die betrokken zijn bij synapsstructuur en -functie. En patiënten met een matig gestoord geheugen vertoonden lagere concentraties van eiwitten betrokken bij complement en andere ontstekingsprocessen. Dit wijst erop dat het ziekteproces van de ziekte van Alzheimer afhankelijk is van het APOE-genotype en dat behandeling voor de ziekte van Alzheimer mogelijk moet worden afgestemd op het APOE-genotype en de ernst van de geheugenstoornis. APOE  $\epsilon$ 4-dragers met een normale geheugenfunctie, maar (nog) zonder amyloid- $\beta$  pathologie lieten subtiel verhoogde BACE1 waardes zien in hersenvocht, ten opzichte van deelnemers zonder APOE  $\epsilon$ 4 allel.

In **hoofdstuk 6** vonden we dat amyloid- $\beta$  stapeling geassocieerd is met visuele geheugenprestaties bij mensen met een normaal geheugen. Met het tweeling discordantie model, wederom gebruikt als model voor de ernst van amyloid- $\beta$  stapeling, zagen we dat het geheugen voor vormen en gezichts-naam combinaties in het begin van amyloid- $\beta$  stapeling minder goed lijkt te worden. Dit ondersteunt het idee dat amyloid- $\beta$  stapeling leidt tot subtiele geheugenstoornissen in zeer vroege stadia van de ziekte van Alzheimer. We vonden twee verschillende patronen van geheugenprestaties; voor de complexe Rey figuur zagen we dat mensen in het verder gevorderde stadium (concordant abnormaal, stadium III) slechter scoorden op deze taak, terwijl voor de gezichts-naam associatie taak mensen in de vroegste fase (discordant met normaal amyloid- $\beta$ , stadium I) juist lager leken te scoren. Dit zou erop kunnen wijzen dat de laatstgenoemde taak kan fungeren als een instrument voor het screenen van mensen op een verhoogd risico op amyloid- $\beta$  pathologie, maar dit moet nog verder worden onderzocht.