

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Gedurende de afgelopen eeuw heeft men zich enorme wetenschappelijke inspanningen getroost om het ontstaan en het verloop van de ziekte van Alzheimer (Alzheimer's Disease, AD) beter te kunnen begrijpen. Dit onderzoek heeft ons geleerd dat het hier een zeer complexe en heterogene aandoening betreft, met een verwoestende uitwerking, niet alleen op de patiënt en zijn omgeving, maar ook op de maatschappij als geheel. Een verder begrip van het AD-ziekteproces op moleculair niveau kan leiden tot een beter inzicht in de mogelijkheden voor het ontwikkelen van alternatieve therapieën die de ziekte kunnen remmen. Bovendien kan een groter inzicht mogelijk licht werpen op moleculen die als nieuwe 'biomarkers' kunnen worden ingezet bij het zo vroeg mogelijk voorspellen van het optreden van de ziekte.

Het is daarom van het grootste belang om te komen tot een identificatie van eiwitmoleculen die een rol spelen bij de AD-pathogenese, en een opheldering van hun functionele verbanden (in 'moleculaire paden': cellulaire signaal- of werkingsroutes van onderling interagerende eiwitten). In het laatste decennium heeft het bepalen van zeer gedetailleerde, weefsel- of celspecifieke eiwitprofielen ('proteomen') met behulp van hoogwaardige massaspectrometers een hoge vlucht genomen. Als geen ander stelt deze 'proteomics'-techniek de onderzoeker in staat om zonder hypothese vooraf verschillende situaties met elkaar te vergelijken, en afwijkende (eiwit)patronen te onderkennen bij tal van ziekten (zoals neurodegeneratieve aandoeningen)- afwijkingen die mogelijk in het geheel niet werden geanticipeerd. Met behulp van 'proteomics' hebben we inmiddels een reeks nieuwe kandidaat-biomarkers voor vroege AD-diagnose geïdentificeerd die mogelijk ook een causale rol spelen. Tot deze groep behoren de eiwitten BRI2 (BRICHOS Domain Containing 2B, ook bekend als ITM2B, integral membrane protein 2B) en AGRN (agrine).

Het doel van het in dit proefschrift beschreven onderzoek was om nieuwe, mogelijk bij het ontstaan van AD betrokken kenmerken van AD te onthullen, uitgaande van bovengenoemde kandidaateiwitten. Daarnaast werd gekeken of de via 'proteomics' geïdentificeerde groep van eiwitten die in AD afwijkt en tezamen een zogenaamde 'signature' voor AD vormen ook kan worden teruggevonden in ruggemergvocht (cerebrospinal fluid, CSF). Dergelijke eiwitten zouden bij uitstek dienst kunnen doen als 'biomarkers' voor vroege AD-diagnose.

Het eerste deel van dit proefschrift richt zich op het belang van een disfunctioneren van het BRI2-eiwit voor de belangrijkste moleculaire paden die zijn betrokken bij AD. Dit kan

leiden tot een aangepaste hypothese omtrent het ontstaan van de ziekte (**hoofdstuk 2**). In overeenstemming met deze hypothese ontdekten we in postmortem weefsel van AD-patiënten in verschillende ziektestadia veranderingen in het niveau van zowel het BRI2-eiwit zelf als van eiwitten die betrokken zijn bij het bewerken van BRI2 tot een bio-actief molecuul. Bovendien ontdekten we dat de vorming van BRI2-APP-complexen, al eerder beschreven in cel- en muizenmodellen, ook optreedt in menselijk hersenweefsel, maar in mindere mate in AD-patiënten ten opzichte van gezonde controles (**hoofdstuk 3**). Opmerkelijk genoeg vonden we dat de veranderingen in het BRI2-niveau in postmortem weefsel is gecorreleerd met veranderingen in de expressie en de activiteit van het eiwit IDE (Insulin-Degrading Enzyme), een enzym dat ondermeer is betrokken bij de afbraak van bèta-amyloid (A β) peptides die worden gevonden in plaques binnen het brein van AD-patiënten (**hoofdstuk 4**).

De resultaten beschreven in hoofdstuk 3 suggereerden het bestaan van grotere BRI2-bevattende structuren in AD-weefsel en vormden de basis voor een vervolgstudie waarin we het effect onderzochten van de aanwezigheid van grote recombinante BRI2-structuren op moleculaire paden geassocieerd met AD-pathogenese, zoals apoptose (geprogrammeerde celdood) en de 'unfolded protein response' (UPR, cellulaire reactie op niet goed gevouwen eiwitten), of op de afknotting of fosforylering van het van 'tangles' bekende tau-eiwit (**hoofdstuk 5**).

Een ander resultaat beschreven in hoofdstuk 3 betreft een dramatisch veranderd niveau van één van de BRI2-bewerkende enzymen, SPPL2B (Signal Peptide Peptidase Like 2B) in hersenweefsel van AD-patiënten. Het SPPL2B-eiwit is een relatief nieuw ontdekt transmembraanprotease waarvan de relatie met AD niet was geanticipeerd. Daarom hebben we de expressie van SPPL2B uitgebreid bestudeerd in postmortem weefsel van zowel AD-patiënten en gezonde controles als patiënten die leden aan andere ziektes geassocieerd met defecte eiwitvouwing, zoals frontotemporale dementie en de ziekte van Parkinson (**hoofdstuk 6**). We ontdekten ook een associatie van de SPPL2B-expressie met die van het tau-eiwit in verschillende tau-gerelateerde aandoeningen ('tauopathies'). Een eerste evaluatie van SPPL2B in CSF leerde ons dat het niveau van dit eiwit niet alleen lager is in AD-patiënten ten opzichte van controles zonder dementie, maar ook correleert met het niveau van A β -peptides en het optreden van cognitieve stoornissen.

In het laatste deel van dit proefschrift richten we ons op onderzoek naar het potentieel dat eiwitten zoals BRI2 en agrine hebben als in CSF te detecteren 'biomarkers' voor vroege diagnose van AD. Dit was aannemelijk aangezien veranderingen in het niveau van beide eiwitten al eerder zijn gerapporteerd voor hersenweefsel¹²⁷ en CSF¹²⁸ van AD-patiënten. Om een dergelijk potentieel te kunnen onderzoeken is een standaardprocedure (SOP,

Standard Operating Procedure) voor het hanteren en in een biobank opslaan van grote verzamelingen (cohorts) CSF absoluut vereist om accurate resultaten te kunnen genereren die ook door andere onderzoeksgroepen kunnen worden verkregen in een vergelijkbare studie. Als onderdeel van het BIOMARKAPD-consortium dat is gericht op het formuleren van internationaal geldende SOP's hebben we eerdere aanbevelingen voor de CSF-gebaseerde analyse van 'biomarkers' voor AD en de ziekte van Parkinson bijgewerkt en samengevoegd (**hoofdstuk 7**). Vervolgens hebben we eerst een nieuwe, specifieke immuunbepaling voor het BRI2-niveau in CSF-monsters ontwikkeld (**hoofdstuk 8**). Met deze bepaling is het niveau van BRI2 geanalyseerd in een 'case-control' studie met CSF van AD-patiënten en controles zonder dementie, en in een longitudinale studie waarin naast deze eerste twee groepen ook twee groepen waren opgenomen met een milde cognitieve stoornis (MCI-S, stabiel; MCI-AD, op weg naar ontwikkeling van AD). Ook werd de associatie van het BRI2-niveau met klassieke 'biomarkers' voor AD onderzocht. In het laatste hoofdstuk beschrijven we onderzoek waarin wordt geëvalueerd of de veranderingen in agrine in AD-weefsel ook tot uiting komen in CSF, en of er een relatie is met klassieke AD 'markers'. Hierbij is gebruik gemaakt van een commerciële immuunbepaling (**hoofdstuk 9**).

Samenvattend: dit proefschrift beschrijft de analyse van nieuwe eiwit-'signatures' voor vroege stadia van AD. De resultaten vormen de basis voor toekomstig onderzoek dat is gericht op het begrijpen van de rol van veranderingen in (het niveau van) BRI2 en SPPL2B in de pathogenese van AD. Dit kan leiden tot nieuwe inzichten die zouden kunnen uitmonden in nieuwe preventieve en ziekteremmende therapieën. Daarnaast vragen de door ons waargenomen sterke veranderingen in SPPL2B-niveaus in AD-patiënten ten opzichte van gezonde individuen om de ontwikkeling van veel gevoeligere technieken voor de *in vitro*- en/of *in vivo*-detectie van SPPL2B in CSF of in hersenweefsel. Hierbij valt te denken aan immuunbepalingen en imaging-technieken. Dit zal in de toekomst het potentieel duidelijk kunnen maken van SPPL2B als diagnostische 'biomarker' voor AD.