

Nederlandse samenvatting

Ontsteking bij de ziekte van Alzheimer – *in vivo* kwantificatie

Achtergrond

De ziekte van Alzheimer is een neurodegeneratieve aandoening en de meest voorkomende vorm van dementie. Het is een aandoening welke gekenmerkt wordt door progressieve geheugenstoornissen, problemen met denken, handelen en taal en diverse neuropsychiatrische symptomen. De ziekte kenmerkt zich neuropathologisch door opeenhopingen in de hersenen van het eiwit amyloïd-beta ($A\beta$) en door neurofibrillaire tangles, bestaande uit tau-eiwit. $A\beta$ neerslagen ontstaan al in een zeer vroeg pre-klinisch stadium.

De diagnose ziekte van Alzheimer berust op internationale consensuscriteria, waarbij de diagnose met zekerheid pas te stellen is bij pathologisch-anatomisch onderzoek. Er zijn de laatste jaren diverse biomarkers ontwikkeld waarmee al in een vroeg stadium van de ziekte, tijdens het leven (ofwel *in vivo*), de structurele en moleculaire veranderingen in de hersenen, kunnen worden weergegeven. Voorbeelden van deze biomarkers zijn MRI markers, eiwitbepalingen in het hersenvocht en een positron emissie tomografie scan waarmee eiwitneerslagen gevisualiseerd kunnen worden ($[^{11}C]PIB-PET$).

Mild cognitive impairment (MCI) is een verzamelnaam voor een klinische toestand waarbij patiënten stoornissen in het cognitief functioneren (meestal het geheugen) hebben, meer dan op basis van leeftijd en opleidingsniveau verwacht mag worden. Deze stoornissen zijn nog niet ernstig genoeg om aan de criteria voor dementie te voldoen. Patiënten met MCI hebben een verhoogd risico op de ontwikkeling van de ziekte van Alzheimer (ongeveer 10 – 15% per jaar). Recent zijn nieuwe onderzoekscriteria ontwikkeld voor de ziekte van Alzheimer waarin biomarkers een rol spelen (Dubois et al.). Volgens deze criteria kan bij patiënten met MCI in combinatie met tenminste een afwijkende biomarker de diagnose ziekte van Alzheimer al gesteld worden.

Naast plaques en tangles worden ook geactiveerde microglia cellen gevonden in de hersenen bij de ziekte van Alzheimer. Microglia zorgen voornamelijk voor het opruimen van ongewenst materiaal in de hersenen, zoals virussen, bacteriën en amyloïd. Er zijn echter ook aanwijzingen dat microglia cellen juist betrokken zijn bij de vorming van neerslagen van A β . Een hypothese is dat het A β eiwit zelf een lokale immuunreactie op gang brengt, hetgeen resulteert in de aantrekking en activatie van microglia cellen. Microglia cellen produceren vervolgens diverse inflammatoire en neurotoxische factoren (ontstekingswitten) welke deze pathologische cascade verder versterken.

Positron emissie tomografie (PET) is een beeldvormende techniek welke het mogelijk maakt processen in het lichaam zichtbaar te maken door gebruik van een geringe hoeveelheid radioactieve stof. Bij het PET onderzoek zoals beschreven in dit proefschrift is gebruik gemaakt van een koolstof-11 gelabelde tracer, (*R*)-[¹¹C]PK11195, welke bindt aan geactiveerde microglia cellen. In het verleden zijn reeds enkele studies met (*R*)-[¹¹C]PK11195 verricht bij patiënten met MCI of de ziekte van Alzheimer, welke geen of verhoogde (*R*)-[¹¹C]PK11195 binding in MCI of de ziekte van Alzheimer lieten zien. Deze inconsistente resultaten zouden te maken kunnen hebben met verschil in groepsgrootte, scan techniek of methodologie. Juiste kwantificatie is belangrijk, aangezien het visualiseren van microglia activatie met (*R*)-[¹¹C]PK11195 PET meer inzicht kan geven in het ziekteproces en mogelijk in de toekomst ook van belang zou kunnen zijn bij het evalueren van therapieën gericht op preventie of vertraging van het ziekteproces.

Naast amyloïd eiwit bestaan plaques ook uit andere ontstekingswitten welke betrokken zijn bij het ziekteproces. Voorbeelden van witten welke betrokken zijn bij ontstekingsreacties in de hersenen zijn serum amyloïd P (SAP), interleukine-6 (IL-6) en acute fase witten als C-reactive protein (CRP) en α 1-antichymotrypsine (ACT). Deze witten kunnen in het bloed en hersenvocht bepaald worden. Er zijn aanwijzingen dat deze witten geassocieerd zijn met achteruitgang van de cognitieve functies. Het is dus van belang om verder te onderzoeken hoe inflammatoire processen betrokken zijn bij de ontwikkeling en het beloop van de ziekte van Alzheimer.

Doel

Het doel van dit proefschrift was om verschillende aspecten van inflammatie in veroudering en (vroege stadia van) de ziekte van Alzheimer te evalueren om zo meer inzicht te verkrijgen in het ontstaansmechanisme van de ziekte. Daartoe zijn twee benaderingen gebruikt:

- Het meten van ontstekingsmarkers in serum en hersenvocht (**hoofdstuk 2 en 3**)
- Het meten van microglia activatie met behulp van de PET tracer (R)-[¹¹C]PK11195 (**hoofdstuk 4, 5, 6 en 7**)

Opzet

Gedurende de afgelopen jaren zijn we bezig geweest met het verzamelen van gegevens voor deze studie. Hiertoe zijn gegevens van gezonde proefpersonen (zowel jongeren als ouderen), patiënten met milde cognitieve klachten en patiënten met de ziekte van Alzheimer verzameld. Bij een deel van de proefpersonen werd bloed en hersenvocht, middels een ruggenprik, afgenomen. Het hersenvocht staat in direct contact met de hersenen en de meetresultaten hiervan zijn daardoor een goede afspiegeling van processen in de hersenen. Bij de studies beschreven in het tweede deel van dit proefschrift, werd bij de proefpersonen een (R)-[¹¹C]PK11195 PET scan verricht welke een beeld geeft van de mate van activiteit van microgliacellen in de hersenen.

Ontstekingsmarkers in serum en hersenvocht

In het eerste deel van het proefschrift werd de aanwezigheid van ontstekingsmarkers in serum en hersenvocht van gezonde controles, patiënten met MCI en de ziekte van Alzheimer onderzocht. Allereerst (**hoofdstuk 2**) hebben we onderzocht of de ontstekingsmarkers IL-6, ACT en CRP vroeg bij het ziekteproces betrokken zijn. We vonden dat CRP verhoogd is in zowel hersenvocht als bloed van patiënten met MCI vergeleken met de ziekte van Alzheimer. Juist MCI patiënten met een zogenaamd laag risicoprofiel voor de

ziekte Alzheimer bleken een verhoogd CRP te hebben. IL-6 in het hersenvocht was ook verhoogd in deze groep MCI patiënten met een laagrisicoprofiel. Er waren geen verschillen in ACT niveaus tussen MCI en Alzheimer patiënten. Deze bevindingen suggereren dat bij patiënten in een vroege fase van de ziekte inflammatoire processen aanwezig zijn.

Vervolgens hebben we gekeken of SAP niveaus in het hersenvocht en serum iets zeggen over de verschillende stadia's van de ziekte (**hoofdstuk 3**). SAP wordt normaliter in lage hoeveelheden in de hersenen aangetroffen. Echter de productie neemt toe tijdens het ziekteproces. Onze resultaten laten zien dat SAP niveaus in hersenvocht van MCI patiënten welke klinisch verslechterden en de ziekte van Alzheimer ontwikkelden lager waren dan van patiënten welke klinisch stabiel bleven. Deze lage SAP waarden zouden het gevolg kunnen zijn van binding van SAP aan amyloïd in de hersenen waardoor er verlaagde hoeveelheden SAP in hersenvocht aanwezig zijn. SAP in het hersenvocht lijkt zo een goede weerspiegeling te zijn van de SAP niveaus in amyloïd plaques in de verschillende stadia van de ziekte.

Deze bevindingen onderbouwen de hypothese dat al in vroege stadia, voordat patiënten klinisch dement zijn, neuropathologische veranderingen in de hersenen voorkomen en dat hierbij ontstekingsprocessen betrokken zijn.

Kwantificatie van (R)-[¹¹C]PK11195 binding

Alvorens (R)-[¹¹C]PK11195 binding in normale veroudering en de ziekte van Alzheimer te meten, hebben we diverse methodes om (R)-[¹¹C]PK11195 binding te kwantificeren geanalyseerd (**hoofdstuk 4 en 5**). Voor de analyse van (R)-[¹¹C]PK11195 PET scans zijn diverse analyse methodes beschikbaar. Met behulp van farmacokinetische modellen kunnen de uitkomstmaten (onder andere bindingspotentiaal) bepaald worden. Er wordt hierbij onderscheid gemaakt tussen twee soorten farmacokinetische modellen, te weten “plasma input”, waarbij gebruik wordt gemaakt van metingen in het arteriële bloed, en “reference tissue”, waarbij een referentiegebied zonder aantoonbare binding gebruikt wordt. In het algemeen wordt bij deze farmacokinetische modellen gebruik gemaakt van niet-lineaire regressie. Nadeel van deze niet-lineaire modellen is dat ze tijdsintensief en gevoelig voor

ruis zijn. Er zijn ook lineaire methodes, welke veel sneller, minder gevoelig voor ruis, maar soms minder nauwkeurig zijn. Met deze, zogenaamde parametrische, methodes kunnen analyses op voxel niveau worden uitgevoerd. Eerst hebben we de resultaten van diverse parametrische methodes vergeleken met de resultaten van niet-lineaire regressie methodes **(hoofdstuk 4)**. Zowel parametrische methodes gebaseerd op plasma input als op reference tissue bleken accurate waardes te geven. De beste resultaten werden verkregen met een methode die “receptor parametric mapping” (RPM) wordt genoemd. Vervolgens hebben we **(hoofdstuk 5)** onderzocht welke parametrische methode de meest betrouwbare resultaten geeft bij analyses op voxel niveau: de methode gebaseerd op plasma input of de methode gebaseerd op reference tissue input. We vonden dat de RPM methode (reference tissue) de meest sensitieve methode is om verschillen in (R) - ^{11}C PK11195 binding aan te tonen.

Kwantificatie van (R) - ^{11}C PK11195 binding in normale veroudering en de ziekte van Alzheimer

Uiteindelijk hebben we (R) - ^{11}C PK11195 binding geëvalueerd in gezonde proefpersonen en bij patiënten met de ziekte van Alzheimer. Bij normale veroudering **(hoofdstuk 6)** vonden we (R) - ^{11}C PK11195 binding in diverse hersenstructuren, te weten de frontaal kwab, anterieure en posterieure cingulaire cortex, mediale inferieure temporaal kwab, insula, hippocampus, entorhinale cortex, thalamus, parietaal en occipitaal kwab. Deze gebieden komen grotendeels overeen met regio's waarvan bekend is dat er weefselverlies optreedt bij veroudering. In de temporaal kwab is eerder ook met pathologisch onderzoek aangetoond dat er bij normale veroudering microglia activatie optreedt. De klinische relevantie van deze bevindingen is echter nog niet duidelijk. Mogelijk worden neurodegeneratieve veranderingen in de hersenen voorafgegaan door dysfunctie van microglia cellen.

Tenslotte hebben we (R) - ^{11}C PK11195 binding geëvalueerd bij patiënten met de ziekte van Alzheimer **(hoofdstuk 7)**. Op voxel niveau werd een hogere (R) - ^{11}C PK11195 binding gevonden in de occipitaal kwab bij patiënten met de ziekte van Alzheimer. Dit werd alleen gevonden bij patiënten met Alzheimer dementie, niet bij patiënten welke nog niet

voldeden aan de criteria voor dementie. Er bleek ook geen verschil te zijn in (*R*)-[¹¹C]PK11195 binding tussen patiënten welke klinisch verslechterden en patiënten welke klinisch stabiel bleven. Vervolgens hebben we onderzocht of (*R*)-[¹¹C]PK11195 binding geassocieerd is met de bevindingen bij neuropsychologisch onderzoek. Er bleek geen correlatie te zijn tussen (*R*)-[¹¹C]PK11195 binding en cognitief functioneren. Concluderend blijken patiënten met milde cognitieve stoornissen geen hogere (*R*)-[¹¹C]PK11195 binding te hebben. Deze resultaten bevestigen dat er sprake is van microglia activatie bij de ziekte van Alzheimer, maar dat dit slechts een subtiel fenomeen is.

Conclusie

Bovenstaande resultaten laten zien dat ontstekingsprocessen betrokken zijn bij de ziekte van Alzheimer. De aanwezigheid van ontstekingsmarkers in het hersenvocht van patiënten met milde cognitieve klachten suggereert dat deze processen in een vroeg stadium van de ziekte een rol spelen. Dit hebben we echter niet kunnen bevestigen met moleculaire beeldvorming van microglia activatie met behulp van (*R*)-[¹¹C]PK11195 PET bij patiënten met milde cognitieve stoornissen. Wel hebben we verhoogde (*R*)-[¹¹C]PK11195 binding aangetoond bij patiënten met de ziekte van Alzheimer, hetgeen impliceert dat microglia activatie een rol speelt bij de ziekte van Alzheimer.