

VU Research Portal

Cerebrospinal fluid biomarkers in dementia with Lewy bodies

van Steenoven, I.

2020

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

van Steenoven, I. (2020). *Cerebrospinal fluid biomarkers in dementia with Lewy bodies: towards a biological diagnosis*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Dementie is een algemeen begrip voor de achteruitgang in het denkvermogen (cognitie) die leidt tot problemen in het dagelijks leven. Er zijn verschillende vormen van dementie. Na de ziekte van Alzheimer (Engels: *Alzheimer's disease*, AD) is dementie met Lewy lichaampjes (Engels: *Dementia with Lewy bodies*, DLB) de meest voorkomende vorm van dementie op oudere leeftijd. Deze vorm van dementie is vernoemd naar de neuroloog Fritz Heinrich Lewy die in 1912 voor het eerst bepaalde eiwitophopingen (de zogenaamde Lewy lichaampjes) in de hersencellen van patiënten met de ziekte van Parkinson (Engels: *Parkinson's disease*, PD) beschreef. Echter, pas in 1996 werd de term '*Dementia with Lewy Bodies*' geïntroduceerd. De oorzaak van DLB is onbekend. De ziekte begint meestal tussen het 50ste en 80ste levensjaar en komt vaker voor bij mannen. DLB is tot nu toe niet te genezen, wel zijn er geneesmiddelen die een duidelijke verlichting van symptomen kunnen geven.

Dementie met Lewy lichaampjes: pathologische kenmerken en ziektemanifestatie

Pathologische kenmerken

In de hersenen van patiënten met DLB worden na het overlijden de zogenaamde Lewy lichaampjes aangetroffen. Lewy lichaampjes zijn samengeklonterde eiwitten in hersencellen die voornamelijk bestaan uit een afwijkende vorm van het eiwit α -synucleïne. De aanwezigheid van Lewy lichaampjes in de hersencellen verstoren de werking wat uiteindelijk kan resulteren in het afsterven van deze cellen. DLB is verwant aan de ziekte van Parkinson, waarbij ook Lewy lichaampjes in de hersenen worden gevonden. Bij DLB zijn de eiwitophopingen verspreid over de gehele hersenschors. Bij de ziekte van Parkinson zitten de afwijkingen voornamelijk diep in de hersenen in het deel dat de beweging (substantia nigra) aanstuurt. Recentelijk is aangetoond dat niet alleen de Lewy lichaampjes, maar ook andere vormen van het eiwit α -synucleïne mogelijk een rol spelen in het ziekteproces. Ze beïnvloeden de signaaloverdracht tussen hersencellen (de 'synaptische transmissie') en de afgifte van signaalstoffen die impulsen afgeven tussen hersencellen (de 'neurotransmitters').

In een groot aantal (ongeveer 50%) van de patiënten met DLB worden naast Lewy lichaampjes ook eiwitophopingen van de bekende Alzheimer eiwitten (amyloïd- β en tau) gevonden, respectievelijk amyloïd- β plaques en neurofibrillaire tangles genaamd. De impact van deze bijkomende Alzheimerafwijkingen op het ziekteproces is nog niet volledig duidelijk, maar lijken invloed te hebben op de ziektemanifestatie en een negatief effect op het beloop bij DLB.

Ziektemanifestatie

DLB begint vaak geleidelijk en heeft een uitgebreid palet aan symptomen. In het begin zijn er met name problemen met trager reageren, verminderde aandacht, moeite met plannen maken, overzicht houden en initiatief nemen (executieve functies) en verminderd ruimtelijk inzicht. Het geheugen functioneert vaak nog relatief goed in een vroege fase van deze ziekte. Kenmerkend voor DLB is dat de symptomen van uur tot uur en van dag tot dag kunnen wisselen. Andere symptomen zijn visuele hallucinaties en motorische/verbale onrust die voortkomt uit het uitleven van dromen. Patiënten met DLB hebben daarnaast ook symptomen die voorkomen bij de ziekte van Parkinson, zoals stijfheid van de romp en ledematen, traagheid van bewegingen, vlakke gelaatsuitdrukking, gebogen lichaamshouding en een zachte stem. Er zijn nog meer klachten die kunnen voorkomen bij DLB. Enkele voorbeelden hiervan zijn autonome functiestoornissen (orthostatische hypotensie, obstipatie en een verminderde blaascontrole), wanen en depressie.

Dementie met Lewy bodies: diagnostische uitdaging

Op dit moment kan DLB alleen met zekerheid na het overlijden worden vastgesteld. Bij leven wordt de ziekte gediagnosticeerd op basis van diagnostische criteria, die bestaan uit klinische kenmerken en biomarkers (box 1). DLB is niet altijd gemakkelijk te herkennen vanwege het heterogene ziektebeeld en overlap in symptomen met de ziekte van Parkinson en de ziekte van Alzheimer. Vooral in een vroeg stadium van de ziekte wordt regelmatig een onjuiste diagnose gesteld. Bovendien zijn de huidige diagnostische tests voor DLB niet heel specifiek (kunnen ook afwijkend zijn bij andere hersenziekten), vaak duur (€1500 voor een DAT-SPECT scan), geven een hoge blootstelling aan radioactiviteit en weergeven alleen de gevolgen van de ziekte ('indirecte biomarkers'; bijvoorbeeld dopamine-tekort of verminderde hersenactiviteit). Het is daarom belangrijk om betrouwbare biomarkers die de aanwezigheid van het onderliggende ziekteproces kunnen aantonen ('directe biomarkers') en die onderscheid kunnen maken tussen DLB andere hersenziekten, te ontdekken.

Box 1 | Diagnostische criteria voor DLB (McKeith et al., 2017)

		Centrale kenmerk	Kernkenmerken	Ondersteunende kenmerken	Indicatieve biomarkers	Ondersteunende biomarkers				
Diagnose		Dementie Klinisch syndroom gekenmerkt door achteruitgang in het denkvermogen (cognitie) die leidt tot disfunctioneren in het dagelijks leven	Visuele hallucinaties Fluctuaties in cognitie en aandacht Parkinsonisme (bradykinesie, rigiditeit, tremor) REM-slaapgedragsstoornis	Neuroleptische sensitiviteit Herhaaldelijk vallen Syncope Autonome disfunctie Hypersomnolentie Hyposmie Hallucinaties in andere modaliteiten Psychiatrische symptomen (wanen, apathie, angst, depressie)	DAT-SPECT scan Verminderde binding van de tracer aan de dopaminetransporter in de basale ganglia Myocardscintigrafie (MIBG) Verminderde sympathische cardiale innervatie Polysomnogram Vaststelling REM-slaapgedragsstoornis	MRI/CT-scan relatief gespaarde hippocampus FDG-PET scan verminderd metabolisme in occipitale cortex, cingulate island sign EEG Posterieure trage activiteit				
Waarschijnlijk	Optie 1						ja	≥ 2 kenmerken		
	Optie 2						ja	1 kenmerk		≥ 1 biomarker
Mogelijk	Optie 1						ja	1 kenmerk		
	Optie 2						ja	0 kenmerken		≥ 1 biomarker

Biomarkers voor dementie met Lewy bodies

Een biomarker is een objectief meetbare indicator van een toestand of ziekte, bijvoorbeeld een eiwit. Diagnostische biomarkers kunnen bijdragen om een diagnose met meer zekerheid te stellen. De concentratie van eiwitten kunnen worden gemeten in het hersenvocht (Engels: *Cerebrospinal fluid*, CSF). Het CSF lijkt een ideale bron voor het ontdekken van biomarkers die de kenmerkende pathologische veranderingen van neurodegeneratieve ziekten kunnen weergeven. Het CSF bevat namelijk eiwitten die de processen die zich afspelen in de hersenen weerspiegelen. Eiwitten in het CSF kunnen daarom als diagnostische biomarkers dienen. Dit is eerder bij de ziekte van Alzheimer succesvol gebleken. Bij patiënten met de ziekte van Alzheimer worden afwijkende concentraties van de eiwitten amyloïd-β1-42 en tau in het CSF gevonden. Voor DLB bestaat er (nog) geen directe CSF biomarker. Het is echter van cruciaal belang om een betrouwbare biomarker voor DLB te vinden. Alleen dan kunnen toekomstige patiënten zo vroeg en nauwkeurig mogelijk gediagnosticeerd worden, met als doel een zo effectief mogelijke behandeling en begeleiding te kunnen bieden. Daarnaast kunnen biomarkers ook bijdragen aan het onderzoek naar nieuwe geneesmiddelen, bijvoorbeeld voor het selecteren van patiënten of voor het bepalen van de effectiviteit van een nieuw geneesmiddel.

Doel van dit proefschrift

Het belangrijkste doel van dit proefschrift is om betrouwbare biomarkers voor DLB te ontdekken die de aanwezigheid van het onderliggende ziekteproces kunnen aantonen ('directe biomarkers') en die onderscheid kunnen maken tussen DLB en andere hersenziekten.

Dit doel willen we bereiken door:

- De waarde van het eiwit α -synucleïne in het CSF voor het diagnosticeren van DLB te onderzoeken (**hoofdstuk 2**)
- De impact van bijkomende alzheimerafwijkingen in het CSF van patiënten met DLB op het stellen van de diagnose en op het ziekteproces verder te onderzoeken (**hoofdstuk 3, 4 en 5**)
- Nieuwe (directe) biomarkers voor DLB in het CSF met behulp van geavanceerde technieken te ontdekken (**hoofdstuk 6 en 7**)

Samenvatting van de resultaten

Deel 1: bekende CSF biomarkers

In het eerste deel van dit proefschrift beschrijven we vier studies waarin we hebben onderzocht of bekende eiwitten, die reeds beschreven zijn in de literatuur, als diagnostische biomarker kunnen dienen voor DLB. In **hoofdstuk 2** hebben we ons gericht op het eiwit α -synucleïne, vanwege de centrale rol die dit eiwit lijkt te spelen in het ziekteproces van DLB. In dit onderzoek hebben we niet alleen de concentraties van totaal α -synucleïne bestudeerd, maar ook andere mogelijk meer specifieke vormen van het eiwit namelijk α -synucleïne oligomeren en een gefosforyleerde vorm van α -synucleïne. We vonden dat bij patiënten met DLB en patiënten met de ziekte van Parkinson de concentraties van totaal α -synucleïne verlaagd en de concentraties van α -synucleïne oligomeren verhoogd zijn in vergelijking met gezonde ouderen en patiënten met de ziekte van Alzheimer. Echter, is het verschil niet groot genoeg om alleen op basis van deze eiwitten DLB te kunnen differentiëren van andere gerelateerde ziektebeelden en gezonde ouderen. Een panel van biomarkers, bestaande uit de combinatie van de verschillende vormen van α -synucleïne en de Alzheimer-eiwitten, amyloïd- β 1-42 en tau, zou mogelijk wel de DLB-diagnose met een hogere zekerheid kunnen ondersteunen.

In **hoofdstuk 3** en **hoofdstuk 4** beschrijven we een tweetal studies gericht op de bekende Alzheimer-eiwitten. In een groot internationaal multicenter cohort bestaande uit 375 DLB-patiënten, 164 patiënten met de ziekte van Parkinson en 55 patiënten met de ziekte van Parkinson én dementie, bekeken we hoe vaak afwijkende concentraties

van de Alzheimerewitten in het CSF voorkomen (**hoofdstuk 3**). We vonden bij een aanzienlijk deel van de DLB-patiënten afwijkende concentraties in het CSF (A β 42: 49%; totaal tau: 37%; gefosforyleerd tau: 30%). Daarnaast werd bij 25% van de DLB-patiënten, 9% van de patiënten met de ziekte van Parkinson én dementie en bij 3% van de patiënten met de ziekte van Parkinson een CSF-profiel suggestief voor de ziekte van Alzheimer (verlaagde concentraties van A β 42 én verhoogde concentraties van totaal en gefosforyleerd tau) gevonden. Deze resultaten benadrukken dat klinici bewust moeten zijn dat de Alzheimerewitten afwijkend kunnen zijn bij patiënten met DLB. In **hoofdstuk 4** hebben we de invloed van bijkomende Alzheimerafwijkingen in het CSF op achteruitgang in het denkvermogen (cognitie) onderzocht. We vonden dat DLB-patiënten met Alzheimerafwijkingen in het CSF sneller cognitief achteruitgingen over een periode van 2 jaar in vergelijking met DLB-patiënten zonder deze afwijkingen. Het laten bepalen van de Alzheimerewitten in het CSF zou de arts mogelijk kunnen helpen bij het voorspellen van de cognitieve achteruitgang bij een individuele DLB-patiënt, zodat patiënt en familie kunnen anticiperen op de toekomst.

De studie naar verschillende vormen van het amyloid- β eiwit, wordt beschreven in **hoofdstuk 5**. In deze studie onderzochten we de drie meest voorkomende vormen van het eiwit amyloid- β in het CSF, namelijk A β 38, A β 40 en A β 42. Onze resultaten lieten zien dat in het CSF van patiënten met de ziekte van Alzheimer alleen de concentratie van A β 42 verlaagd is, terwijl in het CSF van patiënten met DLB de concentraties van alle drie de vormen van het amyloid- β eiwit verlaagd zijn. Dit resultaat suggereert dat het proces (amyloid metabolisme) dat leidt tot de verlaagde concentraties van het amyloid- β eiwit in het CSF, verschillend is in DLB in vergelijking tot de ziekte van Alzheimer. Deze hypothese wordt bekrachtigd door de bevinding dat bij zowel de patiënten met DLB mét bijkomende Alzheimerafwijkingen in het CSF als patiënten met DLB zónder deze Alzheimerafwijkingen, de concentraties van A β 38 en A β 40 in het CSF verlaagd zijn.

Deel 2: nieuwe CSF biomarkers

In het tweede deel van dit proefschrift gingen we de uitdaging aan om nieuwe CSF biomarkers voor DLB te ontdekken. In **hoofdstuk 6** maakten we gebruik van nieuwe geavanceerde technieken om eiwitten die verschillen tussen patiënten met DLB en gezonde ouderen te identificeren en te valideren. Deze eiwitten kunnen enerzijds dienen als diagnostische biomarker voor DLB. Anderzijds kunnen we door het identificeren van deze eiwitten meer te weten komen over de ziekteprocessen die een rol kunnen spelen bij DLB. Met behulp van ‘proteomics’ werden 1995 eiwitten geïdentificeerd en gekwantificeerd, waarvan 69 eiwitten verschilden tussen de patiënten met DLB en de gezonde ouderen. Proteomics is een technologie die het mogelijk maakt om op grote

schaal eiwitten te bestuderen. Wanneer er zoveel eiwitten bestudeerd worden, is de kans op een vals-positief resultaat groter. Daarom is het van belang dat de resultaten bevestigd worden in een onafhankelijk cohort en/of door een andere meetmethode. Als eerste validatie stap hebben we in een onafhankelijk cohort de mogelijke kandidaat biomarkers VGF, SCG2, NPTX2, NPTXR, PDYN en PCSK1N bevestigd. Deze eiwitten blijken allemaal een rol te spelen in de synaptische transmissie. Deze bevinding bevestigt de belangrijke rol van synaptische transmissie in de pathofysiologie onderliggend aan DLB. In een tweede validatie stap hebben we voor de kandidaat biomarkers VGF en NPTX2 een verschil in concentraties in het CSF, gemeten met twee verschillende onafhankelijke meetmethoden, tussen patiënten met DLB DLB en gezonde controles aangetoond. Het onderscheidend vermogen van bovenstaande eiwitten is op zichzelf niet voldoende om te differentiëren tussen DLB en andere hersenziekten. Echter, hebben we met behulp van een 'random forest' algoritme (een machine learning algoritme dat uit verschillende beslisbomen bestaat) een biomarker panel ontwikkeld die niet alleen onderscheid maakt tussen DLB en gezonde ouderen maar ook tussen DLB en andere gerelateerde hersenziekten (ziekte van Alzheimer, ziekte van Parkinson en fronto-temporale dementie) met een nauwkeurigheid van >80%.

Hoofdstuk 7 borduurt voort op bovenstaande bevindingen door het eiwit VGF verder te onderzoeken. VGF is een eiwit dat een rol speelt in de synaptische transmissie en neurotransmitter afgifte. In deze studie hebben we VGF gevalideerd in een groot cohort bestaande uit patiënten met DLB, patiënten met de ziekte van Alzheimer en gezonde ouderen. Ook hebben we de relatie tussen VGF en het cognitief functioneren bekeken. Onze resultaten tonen aan dat de concentraties van VGF bepaald met twee verschillende meetmethoden (enzyme linked immunosorbent assay [ELISA] en selected reaction monitoring [SRM]) verlaagd zijn in patiënten met DLB in vergelijking met zowel patiënten met de ziekte van Alzheimer als gezonde ouderen. Verder zijn de concentraties van het eiwit VGF gerelateerd aan de prestatie op verschillende cognitieve domeinen, zoals aandacht/concentratie, en complexe uitvoerende functies. Mogelijk kan VGF dus ook gebruikt worden om de progressie van de DLB te meten.

Discussie en conclusie

De bevindingen in dit proefschrift bekrachtigen het belang van CSF biomarkers in het diagnostisch proces van DLB. Het onderzoek in dit proefschrift heeft daarnaast ook bijgedragen aan meer inzicht in de verschillende pathologische veranderingen die onderliggend zijn aan het ziekteproces. De complexiteit van deze pathologische veranderingen bemoeilijkt de zoektocht naar een enkele directe en specifieke biomarker voor DLB. De informatie in box 2 beschrijft de uitkomsten van onze zoektocht naar

nieuwe biomarkers om de diagnose DLB sneller, makkelijker en met meer zekerheid te kunnen stellen. De onderzochte biomarkers in dit proefschrift zijn op zichzelf staand niet in staat om patiënten met DLB volledig van gezonde ouderen en patiënten met andere hersenziekten te onderscheiden. Onze bevindingen duiden aan dat een combinatie van biomarkers (een biomarker panel) mogelijk wel een volledig onderscheid kunnen maken. Het is daarbij van belang dat biomarkers in het panel verschillende aspecten van de onderliggende pathologische veranderingen reflecteren. Op basis van onze bevindingen adviseren wij dat het biomarker panel tenminste bestaat uit een biomarker voor α -synucleïne pathologie, Alzheimerpathologie en verstoring van de synaptische transmissie.

Vervolgonderzoeken zijn noodzakelijk voordat CSF biomarkers kunnen worden toegepast in de klinische praktijk. Ten eerste bestaat er op dit moment nog geen betrouwbare biomarker voor α -synucleïne pathologie. Recentelijk zijn er met een nieuwe techniek (RT-QuIC) veelbelovende resultaten geboekt. Daarnaast is het belangrijk dat de potentiële biomarkers (eiwitten betrokken bij de synaptische transmissie) die we hebben ontdekt met behulp van de proteomics, worden bevestigd in grote onafhankelijke cohorten waarbij de eiwitten gemeten worden met betrouwbare en specifieke meetmethoden (bijvoorbeeld SRM). Tot slot moet er gekeken worden of het voorgestelde biomarker panel kan bijdragen aan het onderscheiden van patiënten met gerelateerde ziektebeelden, zoals de ziekte van Alzheimer en de ziekte van Parkinson.

Een correcte diagnose in een vroege fase van het ziekteproces is van groot belang voor de toegang tot de juiste informatie, symptomatische behandeling, begeleiding en voor toekomstige behandelingsmogelijkheden. Wij verwachten dat een betrouwbaar biomarker panel bestaande uit 'directe biomarkers' een essentiële stap is in de richting van geïndividualiseerde 'biologische' diagnose (diagnose gebaseerd op biologische kenmerken in plaats van klinisch-diagnostische criteria) en op maat gemaakte behandeling van DLB.

Box 2 | Uitkomsten van onze zoektocht naar nieuwe CSF biomarkers voor DLB

- CSF biomarkers voor α -synucleïne pathologie: onvoldoende onderscheidend vermogen om DLB te differentiëren van andere hersenziekten (ziekte van Alzheimer en de ziekte van Parkinson) en gezonde controles (Hoofdstuk 2).
- CSF biomarkers voor Alzheimer pathologie: afwijkend in het CSF van een aanzienlijk deel van de patiënten met DLB (Hoofdstuk 3) en kunnen mogelijk helpen bij het voorspellen van de cognitieve achteruitgang (prognose) van een individuele DLB-patiënt (Hoofdstuk 4).
- CSF biomarkers voor een verstoring van de synaptische transmissie: niet-specifiek voor DLB, maar zijn wel de moeite waard om verder te onderzoeken (Hoofdstuk 6 en Hoofdstuk 7).
- Een combinatie van CSF biomarkers (biomarker panel): een grote stap in de richting van een op biomarkers gebaseerde diagnose van DLB (Hoofdstuk 2 en Hoofdstuk 6).