

BIOCHEMISCHE VERANDERINGEN IN HET CENTRALE ZENUWSTELSEL BIJ DE ZIEKTE VAN ALZHEIMER

door DR. P. A. ROUKEMA (Laboratorium voor Chemische Physiologie der Vrije Universiteit, Amsterdam)

INLEIDING

De bij de ziekte van Alzheimer gevonden plaques in de hersenschors zijn histochemisch te karakteriseren door metachromasie met Congorood en andere kleurstoffen, dubbelbreking in gepolariseerd licht en fluorescentie met thioflavine-T. Hierin is een grote mate van overeenkomst met de bij primaire en secundaire amyloïdose gevonden afzetting in andere organen. Op grond hiervan zijn vele onderzoekers (1) momenteel de mening toegedaan, dat de plaques, in elk geval wat de kern betreft, uit amyloïd bestaan. De ziekte van Alzheimer zou dan beschouwd kunnen worden als een vorm van primaire amyloïdose, hoewel we daarbij moeten opmerken, dat de onderscheiding tussen de primaire en secundaire vorm nogal kunstmatig is, gezien de overlapping in bijvoorbeeld localisatie en kleurreacties (2). Ook resultaten van andere onderzoekers betreffende de chemische samenstelling (4,5) en het electronenmicroscopische beeld (6,7) wettigen eenzelfde conclusie.

De overeenkomst tussen de voor amyloïd (3,5-8) en plaques (9,10) gevonden fibrillaire structuur steunt eveneens de opvatting, dat plaques amyloïd bevatten. Door chemische analyse is dit nog niet bevestigd, hoewel dit voor de aetiologie van de ziekte van Alzheimer van belang zou kunnen zijn.

Vandaar dat getracht werd hierover nadere informatie te verkrijgen in vergelijking met de afwijkingen bij amyloïdose. Ons uitgangspunt hierbij was wat bekend is over dit laatste ziektebeeld. Hierbij stonden ons de volgende literatuurgegevens ter beschikking.

1. In het serum wordt een verhoging gevonden van de neutrale mucoproteïnen, meestal in het gebied van de α_1 — α_2 en β -globulines, soms ook van de γ -globulines (11—14).
2. De amyloïdafzettingen zelf bestaan voor het overgrote deel uit mucoproteïnen. Zowel de neutrale, die N-acetylneuraminezuur (NANA), hexoses en hexosamines bevatten (15, 16), alsook de zure, waarin hyaluronzuur, chondroitinesulfaat en heparine voorkomen (17, 18) zijn gevonden.

Voorals de neutrale mucoproteïnen zijn interessant, omdat NANA hierin competitief de virusagglutinatie van erythrocyten remt. Bovendien draagt NANA bij tot de negatieve lading van celoppervlakken. In het geval van erythrocyten zelfs voor 100 procent.

TABEL I

NANA en eiwit in liquor en serum bij preseniele dementie

<i>Liquor</i>	eiwit (mg/ml)			NANA mg/ml		
	controle	Alzheimer	△	controle	Alzheimer	△
— lumbaal	0.429 (36) *	0.468 (5)	+9%	6.62 (36)	6.38 (5)	— 4%
— suboccipitaal	0.372 (9)	0.380 (2)	+2%	5.78 (9)	6.02 (2)	+ 4%
<i>serum</i>	75.6 (9)	69.5 (6)	—8%	6.62 (6)	7.25 (6)	+10%

* aantal experimenten

NANA komt in de grijze hersentof bovendien in ongeveer gelijke hoeveelheden voor in de gangliosiden, waarin het onder meer een functie zou hebben in de binding van biogene amines zoals serotonine, noradrenaline etc. (19). Gezien de overeenkomst in het histochemisch en electronenmicroscopische beeld bij amyloidose en de ziekte van Alzheimer leek het interessant na te gaan in hoeverre chemisch onderzoek vergelijkbare resultaten geeft. Daartoe werden de veranderingen nagegaan in (a) het NANA- en eiwitgehalte van bloed en liquor en (b) het NANA niveau van de mucoproteïnen en gangliosiden der grijze en witte hersenstof.

MATERIALEN EN METHODIEKEN

Serum, liquor en hersenmateriaal werden verkregen via Prof. Dr. F. C. Stam uit de Valeriuskliniek te Amsterdam. NANA werd hierin bepaald volgens Warren (20). In liquor na neerslaan van de eiwitten met 4 vol. delen alcohol (21). Eiwit werd bepaald volgens Lowry. Van de hersenen werd de frontale of occipitale kwab gebruikt. Na uitprepareren van de grijze en witte stof werden de mucoproteïnen en gangliosiden hierin gescheiden met de methode van Folch-Pi (22). Om na te gaan of uitkomsten significant verschillend waren werd gebruik gemaakt van de toets van Wilcoxon voor twee steekproeven.

RESULTATEN EN DISCUSSIE

In liquor werden NANA en eiwit zowel lumbaal als suboccipitaal bepaald. De resultaten hiervan zijn weergegeven in tabel I. Volgens de toets van Wilcoxon zijn de verschillen niet significant. Ditzelfde geldt ook voor de in serum gevonden waarden.

TABEL II

NANA-afname in de hersenen bij preseniele dementie

Hersenen	NANA ($\mu\text{g/g}$ dr. gewicht) *					
	grijze stof			witte stof		
	controle	Alzheimer	Δ	controle	Alzheimer	Δ
Mucoproteinen	3442	2836	—18%	1089	1067	— 2%
Gangliosiden	3489	2722	—22%	619	514	—17%
	(6) **	(4)		(6)	(4)	

* Het NANA gehalte werd niet gecorrigeerd voor afbraak tijdens de hydrolyse

** aantal experimenten

In de hersenen (tabel II) neemt het NANA-gehalte zowel in de neutrale mucoproteinen als in de gangliosiden van de grijze stof af. Alleen voor de grijze stof is deze afname significant. Voor de witte stof niet. Dit zou een weerspiegeling kunnen zijn van het feit, dat de veranderingen bij de ziekte van Alzheimer vooral optreden in de grijze stof. Opvallend is ook, dat de afname in de mucoproteinen en gangliosiden ongeveer gelijk is. Dit wijst op een gemeenschappelijke factor, mogelijk op een verlaging van de enzymactiviteit die de inbouw van NANA in deze verbindingen bepaalt. Onlangs gepubliceerde onderzoeken van Suzuki c.s. (23) en Svennerholm (24) bevestigen onze resultaten voor wat betreft de afname der gangliosiden.

Suzuki c.s. (tabel III) vonden bovendien, dat het eiwitgehalte verlaagd en het lipidengehalte (der grijze stof) verhoogd is. De helft van de lipidenverhoging komt op rekening van de cerebrosiden. Zoals bekend, wordt bij de seniele dementieën een verlies van neuronen gevonden. Dit weerspiegelt zich in een afname van de gangliosiden, die vrijwel uitsluitend hierin worden gevonden. Daar Suzuki c.s. bovendien een verlaagd eiwitgehalte vinden, is het waarschijnlijk, dat de gangliosidenverlaging secundair is en dat we primair moeten denken in de richting van een gestoorde eiwitstofwisseling. De parallel lopende verlaging van NANA in de gangliosiden en de neutrale mucoproteinen, zoals die door ons werd gevonden, wijst hier ook op. Vergelijken we de veranderingen die optreden bij de ziekte van Alzheimer met de vondsten bij amyloidose, dan blijkt, dat alleen bij amyloidose een verhoging van de mucoproteinen in serum wordt aangetroffen. Bij de ziekte van Alzheimer volgens onze bevindingen niet. Het NANA-gehalte van mucoproteinen en gangliosiden is bij de ziekte van Alzheimer in de grijze stof verlaagd. Dit in tegen-

TABEL III

Samenstelling grijze stof bij de ziekte van Alzheimer volgens Suzuki c.s. (23)

Bestanddeel *	Alzheimer		Controle	
droog gewicht (%)	20.0	(3)	19.3	(6)
eiwit	53.6	(3)	60.8	(6)
totale lipiden	41.2	(3)	33.9	(6)
„ fosfatiden	24.7	(3)	21.4	(5)
„ cholesterol	8.57	(3)	7.73	(5)
„ cerebrosiden	8.15	(3)	3.99	(6)
„ gangliosiden	0.89	(3)	1.28	(5)

* in mg/100 mg droog gewicht. De gemiddelde waarden werden berekend uit de literatuur-gegevens

stelling tot wat bijvoorbeeld in een amyloidlever gevonden werd door Klenk c.s. waar NANA vertienvoudigd was.

Houden we er echter rekening mee, dat een lever of milt voor meer dan 50 procent uit amyloid kan bestaan, terwijl dit percentage voor plaques in de hersenschors naar schatting niet groter is dan 0,1 procent, dan zal het duidelijk zijn, dat een analyse van de gehele hersenschors geen juist beeld behoeft te geven van de chemische samenstelling van de plaques. We zullen onze aandacht daarom vooral dienen te richten op de isolatie en chemische analyse van de plaques zelf.

SUMMARY

Amyloid is found in the central nucleus of the senile plaques and in the wall of the vessels (conophilic angiopathy).

Electron microscopic studies have demonstrated corresponding fibrillary structures as found in amyloidosis.

However, on a chemical basis there is as yet no conclusive proof that the deposits are identical.

In order to get more information about the chemical changes in Alzheimer's disease in relation to amyloidosis the neutral mucoproteins of cerebrospinal fluid, serum and brain as well as the gangliosides of the latter were studied.

Only in the brain significant changes were found.

The results obtained are discussed in relation to those found in the literature.

LITERATUUR

- 1 De Jager, H. en F. C. Stam — *Gerontologia* 6, 19 (1962)
- 2 Thung, P. J. — *Gerontologia* 1, 234 (1957)
- 3 Calkins, E., A. S. Cohen en B. Larsen — *Ann. N. Y. Acad. Sci* 86, 1033 (1960)

- 4 Cohen, A. S., E. Calkins — *J. Clin. Invest.* 41, 1350 (1962)
- 5 Letterer, E., R. Caesar, en A. Vogt — *Deutsche Med. Wschr.* 85, 1909 (1960)
- 6 Cohen, A. S. en E. Calkins — *Nature* (London), 183, 1202 (1959)
- 7 Benditt, E. P., D. Laggenoff, N. Eriksen en O. A. Iseri — *Arch. Pathology* 74, 323 (1962)
- 8 Battaglia, S. — *Klin. Wschr.* 39, 795 (1961)
- 9 Terry, R. D. — *J. Neuropath. Exper. Neurol.* 22, 629 (1963)
- 10 Terry, R. D., N. K. Gonates en M. Weiss — *Amer. J. Path.* 44, 269 (1964)
- 11 Calkins, E. en A. S. Cohen — *J. Clin. Invest.* 38, 993 (1959)
- 12 Wagner, B. M. — *Arch. Pathology* 60, 221 (1955)
- 13 Hüsselmann, H. — *Virchows Arch. path. Anat.* 327, 607 (1955)
- 14 Deiss, W. P. en L. B. Holmes — *J. Clin. Invest.* 37, 51 (1958)
- 15 Schmitz-Moormann, P. — *Virchows Arch. path. Anat.* 334, 95 (1961)
- 16 Klenk, E. en H. Failard — *Z. Physiol. Chem.* 299, 191 (1955)
- 17 Okuyama, T. en Koh-Iti Tumari — *Clin. Chim. Acta* 8, 140 (1963)
- 18 Linker, A., P. Hoffman, P. Samson en K. Meyer — *Biochim. Biophys. Acta* 29, 443 (1958)
- 19 Green, J. P. — *Advances in Pharmacology* vol. 1, 349 (1962)
- 20 Warren, L. — *J. Biol. Chem.* 234, 1971 (1959)
- 21 Saifer, A. en S. Gerstenfeld — *Clin. Chim. Acta* 7, 467 (1962)
- 22 Folch, J., M. Lees en G. H. Sloane-Stanley — *J. Biol. Chem.* 226, 497 (1957)
- 23 Suzuki, K., R. Katzman, en S. R. Korey — *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 24, 211 (1965)
in Sixth International Congress of Biochemistry
- 24 Svennerholm, L. — New York, 1964, Abstracts VII, p. 549.