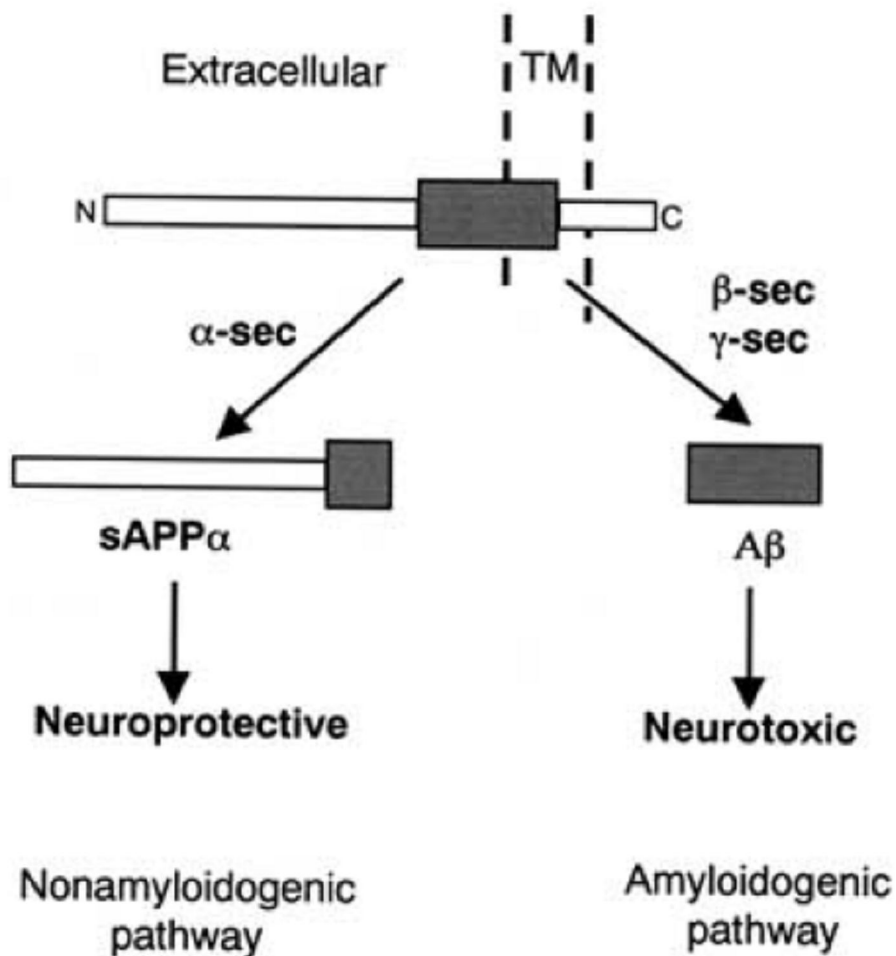


De rol van APP-secretases in de ziekte van Alzheimer.

Belangrijke doelwitten voor therapeutische interventie?



Auteur: Dennis van der Meer
Student#: s1622404
Bachelorproject Neurowetenschappen
Begeleider: U. Eisel
Groningen, 2009

Samenvatting

De ziekte van Alzheimer is de meest voorkomende vorm van dementie en is sterk aan het stijgen in prevalentie. Ondanks zeer veel research is de ziekte nog steeds nauwelijks af te remmen, laat staan te genezen. Echter, de laatste jaren worden langzaam de cellulaire mechanismen achter de ziekte blootgelegd en daarmee neemt de hoop op effectieve behandelwijzen toe. Zo is er hoop dat kennis over de vorming van amyloid β en de causatie van de ziekte, leidt tot medicijnen die dit proces kunnen tegengaan.

Amyloid β wordt gevormd uit APP (Amyloid Precursor Protein). Dit eiwit wordt normaliter grotendeels geknipt tot sAPP α , een enzym met neuroprotectieve eigenschappen. In de ziekte van Alzheimer wordt er echter minder sAPP α en meer amyloid β gevormd uit APP, een eiwit dat in grote hoeveelheden juist neurotoxische eigenschappen heeft. De secretases die verantwoordelijk zijn voor de differentiele splicing van APP beginnen bekend te worden. De gedachte is nu dat bepaalde stoffen kunnen worden ingezet om de activiteit van deze secretases te moduleren. Op deze manier zou de splicing van APP in de gewenste richting kunnen worden gestuurd en zo kunnen de pathologische processen in Alzheimer worden tegengegaan.

Inhoudsopgave

Hoofdstuk	Paginanr.
Titelblad	1
Samenvatting	2
Inhoudsopgave	3
Inleiding	4
De ziekte van Alzheimer	5
Amyloid Precursor Protein	8
De amyloïdogene pathway	
β -secretase	10
γ -secretase	11
Amyloid β	13
De non-amyloïdogene pathway	
α -secretase	15
sAPP α	16
Toepassingen/Toekomstbeeld	18
Conclusie	19
Referenties	20

Inleiding

De ziekte van Alzheimer is de meest voorkomende vorm van dementie.¹ Het treft op dit moment twee procent van de bevolking in de westerse wereld.^{2,3} Dit percentage zal naar verwachting tegen 2050 verdrievoudigd zijn.² Naast het verschrikkelijke leed die het de patienten en hun familieleden toebrengt, zijn de kosten voor de maatschappij enorm. Wereldwijd zijn de kosten in 2003 geschat op \$248 miljard.¹⁰ Deze feiten hebben geleid tot een enorme hoeveelheid research naar de onderliggende oorzaak van de ziekte van Alzheimer en naar mogelijke therapieën om de ziekte te bestrijden. Echter, ondanks al deze inspanning, zijn er tot op de dag van vandaag nog steeds geen behandelingen die de ziekte lijken te kunnen bestrijden.

Desondanks is er het laatste decennium steeds meer hoop dat we op het punt van een doorbraak staan. De cellulaire mechanismen die verstoord zijn in Alzheimer's Disease (AD) worden steeds beter begrepen. Zo wordt bijvoorbeeld steeds duidelijker hoe de vorming van de amyloid plaques in de hersenen van patienten met AD tot stand komt. Een belangrijke rol is weggelegd voor Amyloid Precursor Protein (APP) (zie blz 8). Dit eiwit kan worden gesplitst door secretases tot amyloid β . Oligomeren gevormd uit $A\beta_{42}$ zijn toxisch voor de cel en lijken de oorzaak te zijn van de massale celdood die plaatsvindt in AD.

In deze scriptie zal ik een overzicht geven van de stand van zaken betreffende de kennis van de oorzaken van de ziekte van Alzheimer. Gezien de enorme grootte van het veld zal ik me hierbij grotendeels beperken tot de invloeden van de secretases die APP splitsen en wat voor een rol ze zouden kunnen spelen in behandeling van de ziekte; Downregulatie van β - en γ -secretase zou kunnen leiden tot minder $A\beta$ en daardoor minder toxiciteit (zie blz 10). Daarnaast kan upregulatie van α -secretase (zie blz. 15) leiden tot minder $A\beta$ en meer sAPP α (een eiwit dat grotendeels positieve invloeden lijkt te hebben, zie blz 16).⁵

Met de vergrote kennis komen steeds meer mogelijkheden voor (drug)therapiën in zicht. Hopelijk zien we in de nabije toekomst de eerste behandelingen verschijnen die de ziekte echt kunnen bestrijden in plaats van alleen de symptomen te verlichten.

De ziekte van Alzheimer

De ziekte van Alzheimer (vernoemd naar de dokter die in 1905 voor het eerst de ziekte beschreef)²³ heeft progressieve degeneratie van de hersenen tot gevolg (zie fig.1). Mensen met AD vertonen vaak eerst milde geheugenproblemen die meestal worden afgeschoven als veroorzaakt door ouder worden. Wanneer de degeneratie toeneemt, vertoont de patient tekenen van zwaardere geheugenproblemen, taalproblemen, problemen met het gebruik van voorwerpen, zintuiglijke stoornissen en symptomen van het disexecutieve syndroom, oftewel verminderde werking van de frontale cortex wat leidt tot onder andere problemen met het werkgeheugen en verminderd begrip van sociale interacties.^{9,36} In dit stadium wordt de diagnose meestal gesteld. In de laatste stadia van de ziekte vertoont de patient verregaande dementie. Verder zijn er een groot aantal symptomen die sterk aanwezig zijn in sommige patienten en niet of nauwelijks in andere, zoals agressie en paranoia. Uiteindelijk sterft de patient, tussen de vier en twaalf jaar na aanvang van de ziekte, aan verlies van lichaamsfuncties.³⁶



Fig. 1 Atrofie van de hersenen in Alzheimers patienten (links) vs. gezonde hersenen (rechts)

Genetica

Vijf tot tien procent van de mensen ouder dan 65 vertoont de eerste tekenen van AD.³⁶ De ziekte verdubbelt ongeveer in incidentie elke tien jaar daarna. Deze vorm van Alzheimer's lijkt iedereen te kunnen treffen en wordt ook wel Late-Onset Alzheimer's genoemd. Er is echter ook een zeldzamere vorm van de ziekte van Alzheimer, genaamd Early-Onset Familial AD, of FAD. Deze vorm van de ziekte van Alzheimer lijkt een sterkere genetische component te bevatten en is daardoor goed te gebruiken voor onderzoek naar genen die Alzheimer's veroorzaken.² Door dit onderzoek zijn er tegenwoordig genen bekend die belangrijk zijn bij het veroorzaken van deze vorm van de ziekte. Daarnaast zijn er ook tal van genen ontdekt die de ziekte mogelijk niet direct veroorzaken, maar wel de kans verhogen. Zo is bijvoorbeeld bekend dat bepaalde allelen van het gen voor ApoE (belangrijk in vetmetabolisme) mensen vatbaar voor de ziekte maken.³² Ook zijn er veel genen voor eiwitten gevonden die een rol spelen bij APP-verwerking. De normaal fysiologische rol van deze eiwitten geven een indicatie hoe AD veroorzaakt wordt en eventueel bestreden kan worden.

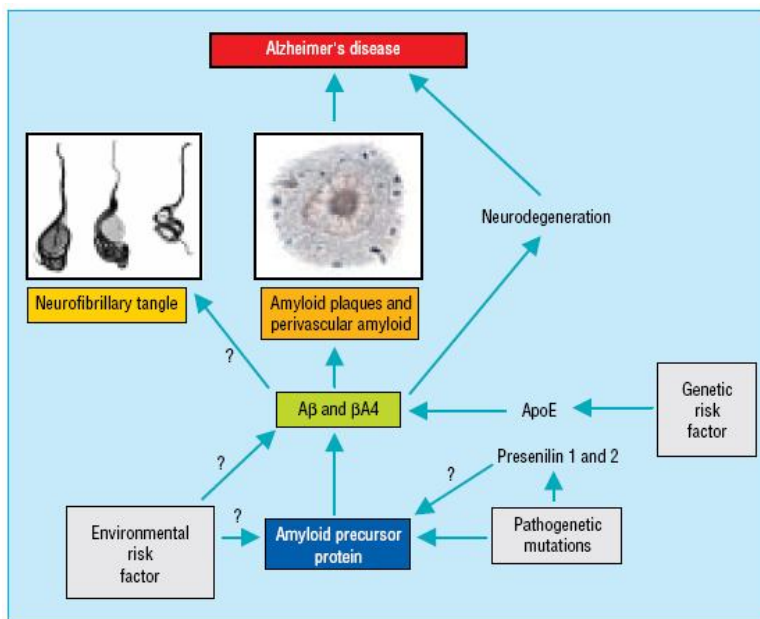


Fig. 2. Omgevings- en genetische factoren komen samen om de ziekte van Alzheimer te vormen.

Omgevingsfactoren

De gemiddelde leeftijdsverwachting is sterk gestegen in de laatste eeuw. Dit, gekoppeld met het feit dat de incidentie van Alzheimers toeneemt met het ouder worden, is één van de

redenen dat de prevalentie van de ziekte enorm toeneemt.² Daarnaast hebben een aantal epidemiologische studies aangetoond dat omgevingsfactoren zoals een calorie- en vetrijk dieet en een sedentaire levensstijl een verband met AD vertonen.³³ Aangezien ook deze factoren toenemen in de moderne maatschappij, dragen ze bij aan de toename in prevalentie van de ziekte. Waarbij deze factoren het risico op Alzheimers lijken te vergroten, lijken voedselrestrictie, lichamelijke beweging en cognitieve stimulatie celdood en daarmee Alzheimers af te remmen.^{34,35} Dit zou een belangrijke aanwijzing kunnen zijn naar de onderliggende mechanismen en het zou ook de basis kunnen vormen voor behandelingen en/of preventiecampagnes.

Hypotheses

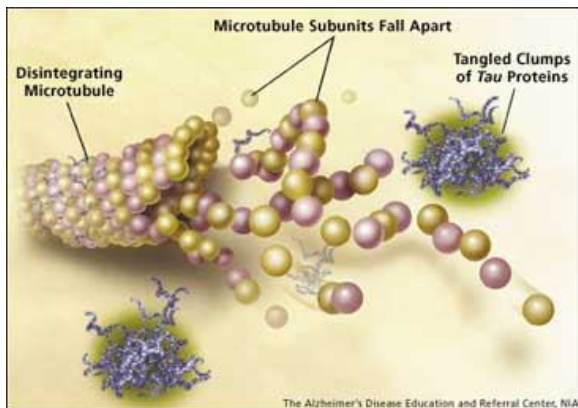
Ondanks dat het een veelvoorkomende ziekte is met verschrikkelijke gevolgen, is er nog relatief weinig bekend over de onderliggende oorzaak van AD. Wel zijn er in de loop der jaren een aantal hypothesen ontwikkeld naar aanleiding van aanwijzingen uit onderzoek naar de pathofysiologische processen die zich afspelen tijdens de ontwikkeling van Alzheimer's:

De Cholinerge Hypothese: Volgens deze hypothese wordt de ziekte van Alzheimer veroorzaakt door verminderde aanmaak van acetylcholine. Deze hypothese heeft geleid tot het toedienen van cholinergica aan patienten. Echter deze medicijnen hebben alleen maar kleine effecten in de prodromale fase (het eerste stadium van de ziekte, waar nog geen ernstige symptomen aanwezig zijn) van de ziekte vertoond. Ze lijken niet de aanvang van AD te vertragen, laat staan te voorkomen.¹⁰ Mogelijk ondergaan cholinerge neuronen meer neuritic sprouting en synaptic remodelling. Ze zouden daardoor gevoeliger zijn voor amyloid β dan andere neuronen en eerder afsterven.³ Hieruit zou kunnen worden geconcludeerd dat het een gevolg is van de ziekte en niet de oorzaak. Ook interessant is het feit dat acetylcholine een stimulator

is van de sAPP α pathway.²⁶ Verlies van cholinerge neuronen zou hierdoor wel kunnen zorgen voor minder aanmaak van neuroprotectieve eiwitten en zo het pathologische proces versterken.

De Tau Hypothese: De neurofibrillaire tangles, die worden aangetroffen in neuronen van patiënten met Alzheimer's, bestaan uit hypergefosforileerde Tauproteinen. De tangles interfereren met celfuncties, wat uiteindelijk tot celdood leidt (zie fig. 3).

De Tau-hypothese is interessant omdat de achteruitgang in cognitieve functie in



patienten beter overeenkomt met de hoeveelheid tangles dan met de beruchte amyloid plaques.¹³ Echter, dit hoeft nog niet te betekenen dat het ook de oorzaak van de ziekte is. Wat tegenwoordig wordt gedacht is dat de microtubuli van de cel uit elkaar vallen wanneer neuronen worden aangetast door amyloid. Hierdoor ontstaan dan de Tau tangles.¹³

Fig. 3 Het ontstaan van neurofibrillaire tangles.

De Amyloid Hypothese: In 1991 kwam uit genetisch onderzoek naar voren dat missense mutaties in het APP-gen kunnen leiden tot Early-Onset Alzheimer's.⁴ Dit, gekoppeld met de observatie dat amyloid β gevormd uit APP, uiteindelijk zorgt voor neurotoxiciteit, leidde tot de amyloid hypothese (zie fig.4). Deze hypothese postuleert dat amyloid β afzettingen de oorzaak zijn voor de hersendegeneratie en op dit moment is dit ook de sterkste hypothese. Veel onderzoeken geven bewijs voor deze stelling. Er is bijvoorbeeld aangetoond dat verhoogde amyloid aanmaak voorafgaat aan de symptomen van AD.¹² Ook uit andere genetische studies komen sterke aanwijzingen voor de prominente rol van amyloid in de causatie van de ziekte van Alzheimer naar voren: bijna elk gen dat is aangetoond een risicofactor voor Alzheimers te vormen heeft (indirect) iets te maken met amyloid, zoals de reeds genoemde mutaties in het gen voor APP

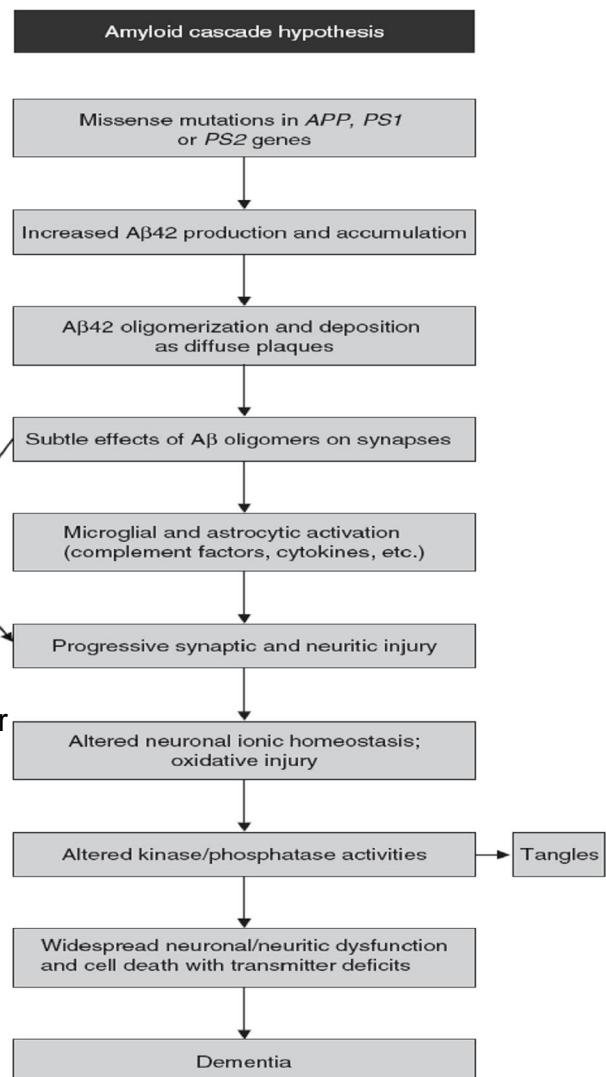


Fig.4 De Amyloid Cascade Hypothese.

Amyloid Precursor Protein

Identiteit

Amyloid Precursor Protein (APP) is een type 1 transmembraan proteïne,^{11,37} waarvan het 170kb grote gen zich bevindt op chromosoom 21.³⁷ Er bestaan verschillende isovormen van het eiwit, gevormd door differentieële splicing; APP met een lengte van 696 residuen is de vorm die het meest in neuronen tot expressie wordt gebracht.² De NH₂ terminus steekt buiten het membraan uit en de COOH terminus bevindt zich in het membraan. Het eiwit bevindt zich grotendeels aan het celoppervlak, maar is ook aanwezig in de Golgi en het endoplasmatisch reticulum.²⁵

Effecten

APP is bekend geworden door de rol die het lijkt te spelen in de ziekte van Alzheimer, maar de normale functie van het eiwit was lange tijd onduidelijk. De laatste jaren komen er echter sterke aanwijzingen naar voren uit onderzoek. Daaruit blijkt dat APP een rol speelt in de uitgroei van neurieten en synaptogenese. Dit past goed bij de bevindingen dat APP expressie het hoogst is tijdens de embryonale periode wanneer deze processen zeer actief zijn.³⁸ Daarnaast vertonen knock-out muizen afwijkingen in hun synaptisch functioneren.¹² Verder is aangetoond dat celculturen gestimuleerd met APP versterkte neurietgroei hebben.³⁹ Deze rol in de groei van synapsen vormt een goede verklaring voor de observatie dat cognitieve stimulatie een beschermende factor tegen Alzheimer's lijkt te vormen: stimulatie zou leiden tot activatie van de neurotrofe pathway van APP (α -secretase) en de activiteit van de neurodegeneratieve pathway (β -secretase) verminderen.²⁵

Genetische studies hebben aangetoond dat mutaties in de buurt van het APPgen één van de sterkste risicofactoren is voor de ontwikkeling van AD. Daarnaast vertonen mensen met het syndroom van Down, die een extra versie van het gen hebben, steevast op middelbare leeftijd hersenafwijkingen die sterk lijken op de ziekte van Alzheimer.¹ Deze bevindingen kunnen verklaard worden door de amyloid hypothese voor de ontwikkeling van Alzheimer: Normaliter zal APP grotendeels proteolytisch geknipt worden door α -secretase. Dit leidt tot vorming van s(oluble)APP α .³ Een klein gedeelte van APP wordt geknipt door β -secretase in plaats van α -secretase, gevolgd door γ -secretase (zie fig. 5). Dit zorgt voor de vorming van A β ₄₀ en soms A β ₄₂ of A β ₄₃.

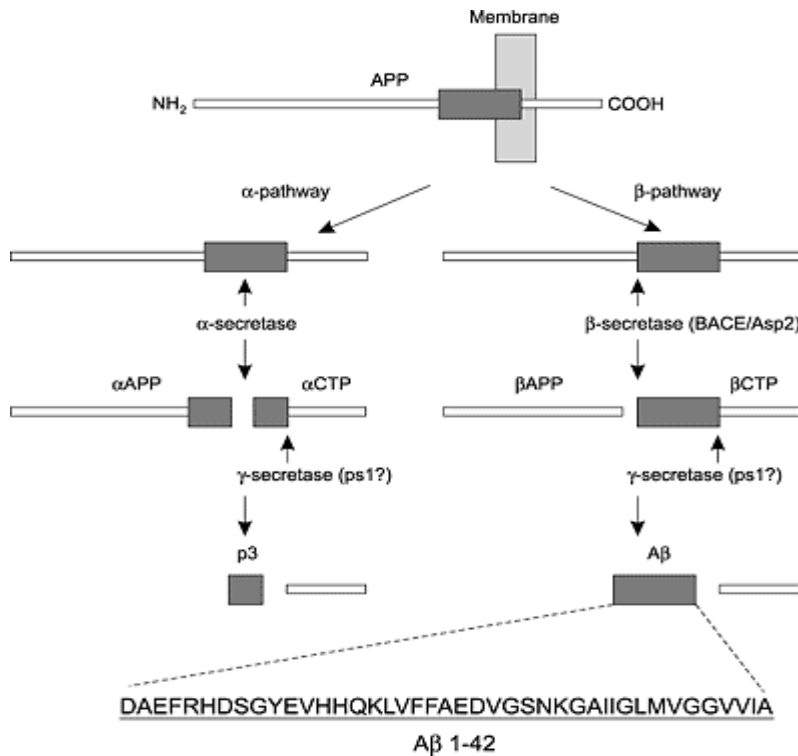


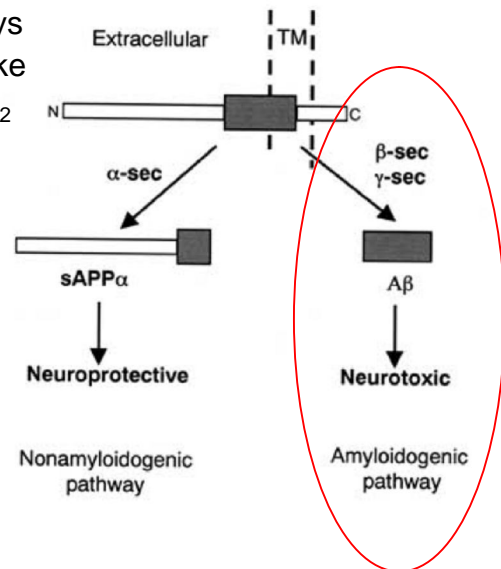
Fig 5. De differentiële cleavage van APP.

Echter, in Alzheimer's verschuiven de verhoudingen tussen de cleavageproducten van APP. Dit kan komen door verschillende factoren. Zo hebben genetische studies aangetoond dat mutaties in het APP-gen in de buurt van de cleavage sites van de secretases de hoeveelheden geproduceerde amyloid β kan vergroten. Hierbij leiden sommige mutaties tot een verhoging van A β in het algemeen en sommige tot relatief meer A β_{42} .¹⁵ Daarnaast zorgt dit ervoor dat er minder sAPP α wordt gevormd, waardoor er minder synaptische plasticiteit is (zie blz. 14). Ook kunnen bepaalde omgevingsfactoren zorgen voor veranderingen in de verhouding van cleavageproducten. Voedingsstoffen zoals bepaalde lipiden lijken de amyloidogene pathway te kunnen stimuleren.⁴⁰

Doordat de expressie van APP wordt verhoogd na schade, waarschijnlijk om zijn beschermende eigenschappen, heeft een pathologische verschuiving in de verhouding van de cleavageproducten catastrofale gevolgen. Schade, zoals door hoofdtrauma, zou zo kunnen leiden tot ontwikkeling van de ziekte van Alzheimer: APP wordt tot expressie gebracht als reactie, maar door de verschuiving wordt er meer A β gevormd, wat juist leidt tot meer schade.³ Zo wordt er dus makkelijk een sneeuwbaaleffect in gang gezet.

De amyloidogene pathway

De amyloidogene pathway wordt in de ziekte van Alzheimer te veel geactiveerd. Dit kan komen door genmutaties of omgevingsfactoren die zorgen voor pathologische hoeveelheden APP. Echter, de oorzaak ligt vaker bij overactief β - of γ -secretase door genmutaties of andere factoren die deze pathways stimuleren. Ongeacht de oorzaak, leidt dit tot zulke grote hoeveelheden amyloid β en dan vooral $A\beta_{42}$ dat het niet meer kan worden afgevoerd en aggregeert, met als gevolg neurotoxiciteit. Hieronder worden de componenten in dit ziekteproces in detail beschreven.



β -secretase

Identiteit

Recentelijk is bekend geworden welk eiwit β -secretase nu eigenlijk is. Na jaren van onderzoek publiceerden vijf laboratoria vrijwel gelijktijdig dat het gaat om een eiwit genaamd Asp2, nu ook bekend als BACE1 (Beta site APP cleaving Enzyme), ook wel memapsin 2 genoemd.¹⁵ Het feit dat vijf verschillende onderzoeksgroepen hetzelfde enzym aanwezen geeft al veel vertrouwen dat het echt om β -secretase gaat. Verder bewijs is geleverd door een experiment waar Asp2 tot overexpressie werd gebracht. Dit zorgde voor upregulatie van sAPP β en downregulatie van sAPP α .²⁸ Asp2 is een enzym dat homologie vertoont met pepsine eiwitten uit de aspartyl protease familie. Echter, een belangrijk verschil is dat het membraangebonden is.¹⁵ Het eiwit bevindt zich grotendeels in het Golgi-apparaat en endoplasmatisch reticulum. Het gen ervoor bevindt zich op chromosoom 11.⁴ Het wordt het meest tot expressie gebracht in neuronen in de hippocampus en cortex. Naast BACE1 is er recentelijk ook veel interesse voor BACE2 (of memapsin 1). Het is een enzym dat 50% homologie vertoont met Asp2 en waarschijnlijk een soortgelijke functie heeft. Het bevindt zich, net als APP, op chromosoom 21, waardoor het verhoogd is in mensen met het syndroom van Down en zo de AD pathologie in dit syndroom mogelijk versterkt. Echter, het wordt minder tot expressie gebracht in de hersenen dan BACE1 en zou daardoor minder van belang zijn.⁴²

Effecten

BACE1 knipt APP met behulp van een furin-achtige protease aan de C-terminus van APP.⁴ Dit leidt tot de vorming van β -APPs en een membraangebonden fragment dat uit 99 residuen bestaat. Actie van β -secretase, (gevolgd door γ -secretase) leidt zo tot de vorming van amyloid β . Dit is een normaal fysiologisch proces. Echter, in de ziekte van Alzheimer is dit proces overactief, wat leidt tot abnormale hoeveelheden van de neurotoxische stof.

Omdat het nu bekend is dat β -secretase een aspartyl protease is, kunnen er specifieke inhibitors worden ontwikkeld. Dit is zeer interessant, aangezien BACE1 de meest geschikte kandidaat onder de secretases lijkt om de activiteit te moduleren: Het is vrij direct verantwoordelijk voor de productie van $A\beta$ en is een 'rate-limiting' stap in het proces. Daarnaast zou modulatie ook minder bijwerkingen moeten veroorzaken vergeleken met α - of γ -secretase, aangezien die ook rollen hebben in andere pathways. Ook is er al veel bekend over de structuur van aspartyl proteases en bestaat er al enige kennis over hoe inhibitie moet worden aangepakt, aangezien deze enzymen ook een belangrijke rol spelen bij andere ziekten zoals HIV.^{4,15} Last but not least, BACE1 deletie in muizen is al gebleken niet lethaal te zijn, een duidelijke aanwijzing dat inhibitie minder ernstige gevolgen heeft dan het bij de andere secretases zou hebben.⁴³

γ -secretase

Identiteit

De precieze samenstelling van γ -secretase is niet duidelijk. Er zijn echter wel een aantal duidelijke aanwijzingen. Zo heeft het eigenschappen die doen vermoeden dat het een aspartyl protease is. Daarnaast vertonen celculturen van presenilin knockout muizen geen γ -secretase activiteit.^{4,19} De presinilins zijn dus belangrijk voor de werking van γ -secretase. De genen voor presenilin 1 en 2 bevinden zich op chromosoom 14 en 1.

Dit komt overeen met de observatie dat veel van de mutaties die gevonden worden in mensen met Alzheimer's zich bevinden op die chromosomen.¹ De mutaties zorgen voor verhoogde productie van neurotoxisch amyloid β , zeer waarschijnlijk door verhoging van de activiteit van γ -secretase. Het lijkt er dus sterk op dat de presinilins de actieve componenten van γ -secretase zijn.⁴ Echter, het is duidelijk dat ze maar een onderdeel zijn van een groter eiwitcomplex. Zo is de laatste jaren gepostuleerd dat de proteïnen Nicastrin, Aph-1, PEN-2 en TMP21 onderdelen zijn van γ -secretase (zie fig. 6).²⁹ Aangezien elk individueel component een mogelijke punt kan vormen voor farmaceutica om op aan te grijpen is verdere identificatie van dit complex belangrijk.

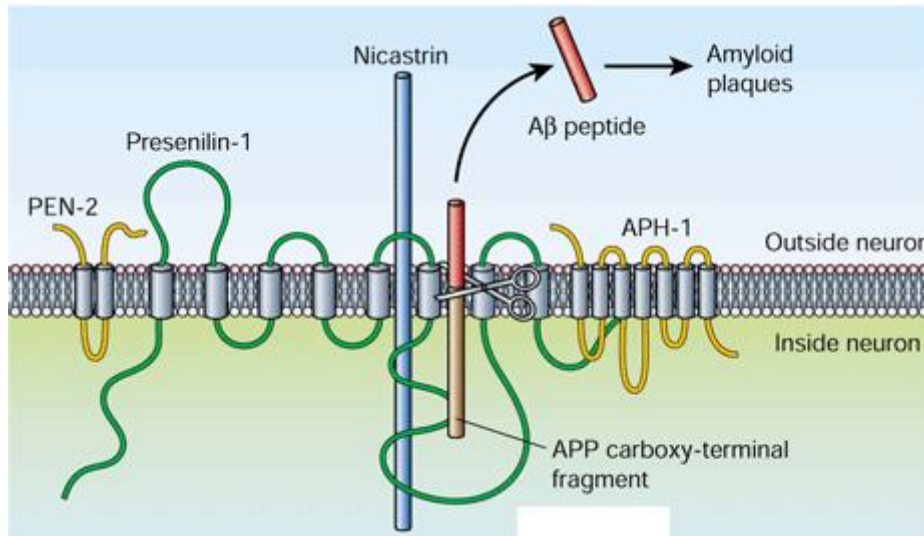


Fig. 6
hypothetische
samenstelling van
het eiwitcomplex
 γ -secretase.

Effecten

γ -secretase zorgt voor de splicing van de producten van α - en β -secretase. Het doet dit op een ongebruikelijke wijze: door proteolyse in het midden van het transmembraan domein, ook wel RIP genoemd (regulated intramembranal proteolysis). Hoe het dit precies voor elkaar krijgt is nog grotendeels onbekend.⁴² Proteolyse zal in het geval van de α -secretase pathway zorgen voor vorming van het eiwit p3 en sAPP α . In het geval van de β -secretase pathway, leidt splicing tot de vorming van amyloid β . De splicing is heterogeen en kan zo leiden tot de gebruikelijke A β ₄₀, of A β ₄₂, de vorm die het meest voorkomt in amyloid plaques en neurotoxischer is doordat het sneller aggregereert.⁴ Als 'rest' blijft er het c-terminale AICD (amyloid intracellular domain) fragment over, met mogelijke signaalfuncties die pathways kan activeren betrokken by proliferatie of apoptose.⁴²

Naast deze duidelijke en directe rol van γ -secretase in AD, lijkt er nog een indirecte rol weggelegd voor dit enzym: NOTCH, een eiwit dat veel overeenkomsten met APP vertoont, is ook afhankelijk van cleavage door γ -secretase (en TACE, een mogelijke α -secretase, zie blz 15.). NOTCH heeft net zoals APP een rol in de ontwikkeling en onderhoud van neuronen. Als γ -secretase een mutatie heeft die de activiteit verhoogd zullen dus ook NOTCH en zijn pathways worden beïnvloedt. Dit zou dan meewerken in het veroorzaken van de neurodegeneratieve processen in de ziekte van Alzheimer.²⁶ Ook is het belangrijk om dit in gedachten te houden wanneer modulators van γ -secretase activiteit worden ingezet als behandeling van de ziekte. Deze zouden dus meer dan alleen effecten op APP-splicing bewerkstelligen. Zo hebben Figueroa en collega's aangetoond dat inhibitie van γ -secretase leidt tot veranderingen in NOTCH niveaus en neurietgroei in de tegenovergestelde richting van wat wordt gezien in de hersenen van mensen met de ziekte van Alzheimer. Ze trokken hieruit de conclusie dat γ -secretase inhibitors positieve effecten kunnen bewerkstelligen op meer manieren dan alleen het verminderen van amyloid β .²⁶

Amyloid β

Identiteit

Amyloid β is een polypeptide dat 4 kDa groot is.¹ Het wordt gevormd wanneer APP-696 wordt geknipt aan de COOH-terminus, tussen aminozuren 596 en 597. Dit zorgt voor een membraangebonden fragment dat vervolgens in subcellulaire compartementen wordt geknipt tot $A\beta$.²⁵

Effecten

De normale fysiologische rol van $A\beta$ is niet helemaal duidelijk. Het is wel bekend dat het correleert met de neurologische status: wanneer hersentraumapatiënten genezen neemt de extracellulaire $A\beta$ concentratie toe.^{18,31} Verder is er de laatste jaren onderzoek gedaan naar de werking van $A\beta$ in nanomolair concentraties, zoals in normaal fysiologische omstandigheden zou worden aangetroffen. Hieruit kwam naar voren dat $A\beta$ dan juist celsurvival kan promoten, mogelijk door een blokkade van kaliumkanalen. Ook werd aangetoond dat het in nanomolair concentraties acetylcholine productie in cholinerge neuronen onderdrukt en zo een rol heeft in de regulatie van de activiteit van deze neuronen.²⁵ Is het mogelijk dat, waar APP een rol lijkt te hebben in de groei van synapsen via activatie van α -secretase, de andere pathway (via β -secretase) wordt geactiveerd om synapsgrootte te verminderen, zodat een evenwicht tussen de twee pathways de synapsgrootte op het correcte niveau houdt?

$A\beta$ is uiteraard bekender om zijn pathofysiologische rol: Wanneer grote hoeveelheden $A\beta$ worden gevormd, kan het oligomeren gaan vormen en uiteindelijk ook gaan aggregeren tot de welbekende amyloïde plaques (zie fig. 7 en 8). De laatste jaren is duidelijk geworden dat vooral de oligomeren neuronen gevoeliger maken voor excitotoxiciteit.³⁰

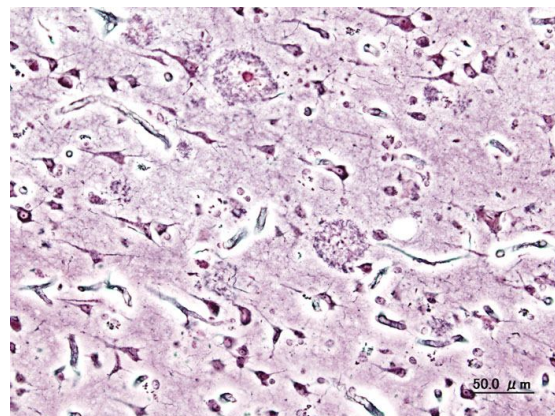
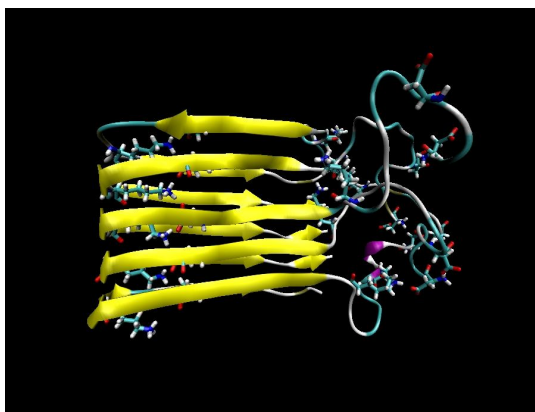


Fig. 7 en 8 aggregatie van $A\beta$, leidende tot de beruchte amyloid plaques.

Dit zorgt uiteindelijk voor de celdood die wordt aangetroffen in Alzheimers. Het feit dat oligomeren de boosdoeners zijn verklaard ook waarom vergrote productie van $A\beta_{42}$ ernstiger is dan $A\beta_{40}$. Deze versie aggregereert sneller, vormt zo sneller oligomeren en is daardoor dus toxischer. Overigens is gebleken dat de verschillende vormen van amyloid β worden aangemaakt in aparte intracellulaire compartimenten.²⁷

Hoe zorgt $A\beta$ nu voor deze gevoeligheid van neuronen? Er zijn hypothesen dat het een aminozuresequentie heeft die kan binden met een aantal receptoren (SEC, RAGE) en door middel van deze receptoren pathways kan activeren die voor dit effect zorgen.³ Aangevoerd is dat het zorgt voor verminderde werking van Na^+/K^+ en Ca^{2+} ATPases. Hierdoor zal de calciumhomeostase van de cel verstoord worden, wat leidt tot excitotoxiciteit.^{25,41} Verder zijn er aanwijzingen dat de $A\beta$ aggregaties lipide peroxidatie veroorzaken in de cel. Hierdoor is er meer oxidatieve stress.²² Dit zorgt dan voor apoptose, wat leidt tot activatie van het immuunsysteem. Daarnaast lijkt amyloid β ook een directer effect te hebben op het immuunsysteem door de werking van microglia te beïnvloeden.²⁵ Deze acties zorgen er gezamenlijk voor dat het immuunsysteem cytokines vrijgeeft. Het kan zo apoptose induceren in aangetaste cellen, wat op zijn beurt weer leidt tot meer activatie van het immuunsysteem. Op deze manier wordt er een vicieuze cirkel gevormd die hersendegeneratie tot gevolg heeft. (zie fig.9)

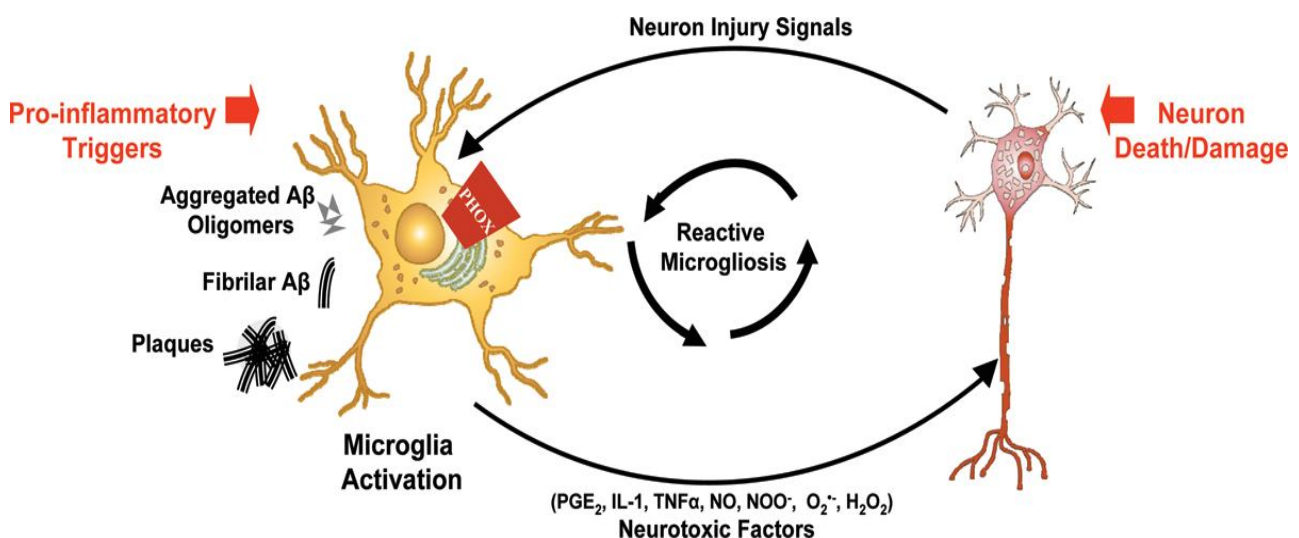
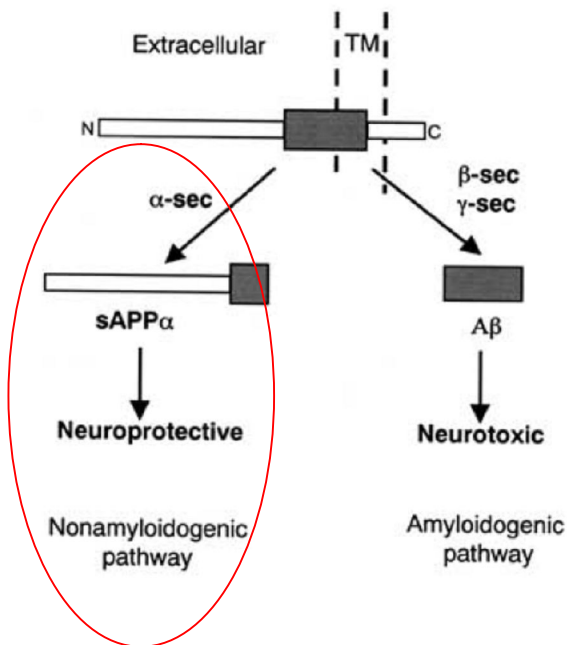


Fig 9. Vorming van de vicieuze cirkel van immuunsysteemactivatie leidend tot hersendegeneratie in de ziekte van Alzheimer.²⁴

De non-amyloidogene pathway

De non-amyloidogene pathway is uiteraard de tegenhanger van de amyloidogene pathway. In plaats van β -secretase, wordt APP ge-cleaved door α -secretase. Dit leidt



tot activatie van een pathway met neuroprotectieve eigenschappen. De hoop is dat er in de nabije toekomst medicijnen kunnen worden ontwikkeld die ervoor zorgen dat deze pathway kan worden gestimuleerd ten koste van de amyloidogene pathway en de daarbij komende effecten zo kunnen worden geactiveerd, met uiteraard als einddoel herstel van de schadelijke gevolgen van A β . Hieronder worden de hoofdrolspelers van deze pathway (α -secretase en sAPP α) in meer detail bekeken.

α -secretase

Identiteit

α -secretase (zo genoemd omdat het de eerst ontdekte van de secretases was) zorgt ervoor dat APP wordt geknipt in sAPP α , een eiwit dat vooral positieve invloeden lijkt te hebben op synaptische plasticiteit. Aangezien dit enzym uiteindelijk zorgt voor neuroprotectie, is het belangrijk om te weten hoe het zou kunnen worden geupreguleerd. Dit zou dan kunnen worden toegepast in behandelingen. Echter, de identiteit van α -secretase is nog niet zeker. Het heeft de eigenschappen van een zink metalloprotease.⁵ Er zijn veel kandidaten, vooral enzymen behorende tot de ADAM familie voldoen aan de criteria. ADAM10 (ook wel Kuzbanian genoemd) is op dit moment de meest waarschijnlijke kandidaat. Zo leidt overexpressie van dit enzym in embryonale niercellen tot upregulatie van α -secretase activiteit.¹⁴ Daarnaast wordt ook vaak TACE (ook wel bekend als ADAM17) genoemd als mogelijke α -secretase. Het knipt bijvoorbeeld eiwitten als ze een cleavage site hebben die gelijk is aan die van α -secretase in APP. Ook hebben TACE knockout muizen minder α -secretase activiteit.⁷ Echter, experimenten met overexpressie of inhibitie van andere leden van de ADAM familie hebben aangetoond dat ook deze enzymen α -secretase zouden kunnen zijn. Het lijkt er dus op dat er niet één, maar meerdere α -secretases zijn.⁷ Verder bewijs hiervoor komt uit een onderzoek waar sAPP α productie geblokkeerd konden worden door twee verschillende metalloprotease-inhibitoren.^{5, 20}

Effecten

Alpha-secretase knipt APP in de A β regio, hierdoor wordt sAPP α en een 83 c-terminus membraangebonden fragment gevormd. Het membraangebonden fragment wordt verder verwerkt door γ -secretase tot een peptide genaamd p3.⁴ α -secretase lijkt APP voor een belangrijk deel te knippen aan het celoppervlak, aangetoond door het feit dat α -secretase activiteit grotendeels teniet wordt gedaan door een inhibitor die alleen in het membraan kan werken.⁶ Echter, niet alle activiteit ging verloren, dus er moet nog een pathway bestaan (zie volgend hoofdstuk).

Het idee dat α -secretase belangrijk is in de ziekte van Alzheimer wordt onderstreept door de effecten van inhibitie van dit eiwit. Zo zorgt Batimastat, een inhibitor van α -secretase, voor onderdrukking van het geheugen. Dit is aangetoond in maze-experimenten met muizen. Het effect vond plaats binnen een uur na injectie. Echter, er was ook een lange termijn effect: muizen die in de postnatale periode werden geïnjecteerd vertoonden nog steeds effecten op het geheugen tijdens volwassenheid.⁸

α -secretase wordt geupreguleerd wanneer metabotrope glutamaat receptoren worden gestimuleerd.⁴ Ook wanneer muscariene receptoren worden geactiveerd vindt er meer α -secretase activiteit plaats en wordt er minder A β gevormd.² Dit is in vitro, maar ook in vivo aangetoond. De verhoogde activatie lijkt plaats te vinden door complexe pathways, geïnitieerd door influx van Ca²⁺.¹⁷ Deze bevindingen kunnen de moleculaire basis zijn voor de observatie dat cognitieve stimulatie leidt tot preventie van Alzheimers door vermindering van de hoeveelheid A β en activatie van de neuroprotectieve sAPP α pathway.

sAPP α

Identiteit

De non-amyloïdogene soluble vorm van APP, sAPP α , is één van de cleavageproducten van α -secretase. Het bestaat uit een N-terminaal fragment van APP en is 105-125 kDa groot.¹⁴

Effecten

sAPP α heeft proliferatieve, neurotrofe en neuroprotectieve effecten.¹⁶ Dit kan worden aangetoond door het bijvoorbeeld in ratten tot overexpressie te laten brengen, zoals Roch et al. hebben gedaan.⁴⁵ Dit leidde tot verhoogde synaptogenese en betere prestaties op geheugentaken. Dit, en andere experimenten geven aan dat sAPP α een belangrijke rol speelt in synaptische plasticiteit. Deze plasticiteit is dus onder andere zeer belangrijk in geheugenprocessen en geeft een zeer aannemelijke verklaring waarom het geheugen één van de eerste cognitieve functies is die wordt

aangetast in de ziekte van Alzheimer; Aangezien de amyloidogene pathway meer wordt geactiveerd, gaat dit ten koste van de aanmaak van sAPP α . Dit is ook de reden dat er zo intensief gezocht wordt naar de cellulaire mechanismen die de aanmaak en release van dit eiwit zouden kunnen upreguleren.

sAPP α zorgt waarschijnlijk voor neuroprotectieve effecten door verhoging van cyclisch GMP. Dit leidt tot activatie van K⁺ kanalen en het zorgt zo voor onderdrukking van de calciumrespons op glutamaat in hippocampale neuronen.¹⁰ Dit komt overeen met de observatie dat maximale release van sAPP α in hippocampale neuronen plaats vindt onder stimulatieomstandigheden die ook glutamaatrelease induceren.⁴⁴ Daarnaast wordt NF κ B geactiveerd door sAPP α , dit is een nucleaire factor die zorgt voor transcriptie van genen die bekend staan om hun neuroprotectieve eigenschappen, zoals stabilisatie van de calcium homeostase en onderdrukking van vrije radicalen.¹⁸ Het is niet duidelijk wat de receptor voor sAPP α is, maar het moet intrinsieke guanylate cyclase activiteit hebben aangezien het zorgt voor verhoging van cGMP, zelfs in geïsoleerde membranen die behandeld zijn met een NOS (nitric oxide synthase) inhibitor.¹⁸

sAPP α wordt constitutief gesecreteerd door cellen. Aanmaak ervan lijkt grotendeels plaats te vinden aan het celoppervlak. Zoals in het vorige hoofdstuk beschreven knipt α -secretase APP aan het celoppervlak en in een proces genaamd ectodomain shedding zorgt dit voor secretie van het extracellulair domein. Dit is dus later in de APP-processing dan β -secretase activiteit en formatie van A β .⁶ Hierdoor kan het niet de (directe) oorzaak zijn van downregulatie van A β . Om deze reden is er door onderzoekers voorgesteld dat er een strikt regelmechanisme moet zijn dat er voor zorgt dat APP normaliter wordt geknipt door α - en niet β -secretase.⁶ Echter, er is ook een gereguleerd pathway die voor meer sAPP α productie kan zorgen. Hier lijkt de aanmaak plaats te vinden in het Golgi-apparaat.¹¹ Dittweede pathway zou zo wel rechtstreeks kunnen concurreren met de activiteit van β -secretase en A β formatie kunnen voorkomen.

Een van de manieren waarop de gereguleerde pathway lijkt te worden geactiveerd is door initiatie van de Protein Kinase C pathway.²⁵ Deze pathway kan op zijn beurt weer worden geactiveerd door stimulatie van een aantal receptoren. Recentelijk is er onderzoek geweest naar upregulatie van sAPP α door activatie van 5-HT₄ receptoren in muizen. Deze activatie leidde tot significant meer aanmaak van sAPP α . Dit zou kunnen betekenen dat 5-HT receptor agonisten de basis zouden kunnen vormen voor nieuwe medicatie tegen AD.¹⁶

Toepassingen/Toekomstbeeld

Momenteel

Op dit moment zijn de behandelingen voor de ziekte van Alzheimer compleet ontoereikend. Cholinesterase inhibitors zoals Donepezil kunnen alleen symptomen onderdrukken in de prodromale fase van de ziekte, maar lijken compleet ineffectief bij behandeling van Alzheimer's. Andere voorgestelde behandelingen zoals anti-inflammatoire drugs, anti-oxidanten en statines hebben in klinische trials geen of mild effect vertoont en deze trials zijn vaak gestopt om veiligheidsredenen.¹⁰ Veranderingen in gedrag van patiënten lijkt wel effectief te zijn. Zo kan meer beweging, een goed dieet en cognitieve stimulatie de kans op Alzheimers verkleinen.² Echter, in het algemeen hebben zulke therapiën een zeer laag percentage therapietrouw.

Verbetering?

Gezien de (toename in) prevalentie van de ziekte van Alzheimer is er veel aan gelegen om goedwerkende behandelingen te ontwikkelen. De laatste jaren is er veel bekend geworden over de actieve sites van de APP-secretases en zijn selectieve inhibitors ontwikkeld. Zo is er gebruik gemaakt van een aantal unieke sites in β -secretase om deze te inhiberen. Muizen die de β -secretase inhibitor Memapsin 2 kregen toegediend vertoonden een significante reductie in $A\beta$. Celculturen die een β -secretase inhibitor kregen toegediend vertoonden 50% reductie in $A\beta$ niveaus.¹⁰ Echter, Er zijn veel gevaren en problemen die voorkomen moeten worden bij het toepassen van deze inhibitors op mensen. De secretases kunnen ook een rol spelen in andere pathways, waardoor inhibitie tot gevaarlijke bijwerkingen kan leiden. Ook zouden de inhibitors homologe enzymen kunnen inhiberen met alle gevolgen van dien. Verder onderzoek, o.a. met knock-out muizen moeten voor verduidelijking zorgen.

Toekomst

Met de nieuwe kennis is er goede hoop dat er in de komende jaren de eerste medicijnen worden ontwikkeld die op zijn minst de ziekte kunnen afremmen. Afremmen is misschien niet het ultieme doel, maar het zou al een enorme stap voorwaarts zijn: Als de aanvang van Alzheimer's al met één jaar zou kunnen worden vertraagd zou dat leiden tot 25% minder gevallen in de komende 50 jaar.¹⁰ Wat er in de nabije toekomst mogelijk lijkt is het upreguleren van sAPP α om zo gebruik te maken van de positieve effecten van dit eiwit. Hierbij zijn er twee categorieën te onderscheiden. Medicijnen zouden de pathway van sAPP α kunnen activeren, oftewel indirect werken. Een voorbeeld hiervan is de stimulatie van 5-HT receptoren zoals hierboven beschreven. Anderzijds zou sAPP α direct kunnen worden toegediend als medicijn of zelfs door gentherapie kunnen worden geupreguleerd.^{18,22}

Conclusie

Het onderzoek dat de laatste jaren relevante cellulaire mechanismen heeft blootgelegd plaveid de weg voor de toekomst. Met de nieuwe kennis lijken effectieve behandelingen binnen handbereik. Zo zijn de positieve effecten van α -secretase en de negatieve van β -secretase, met nieuwe kennis inzake hun werking en samenstelling, te gebruiken voor deze behandelingen. Upregulators en inhibitors kunnen worden ontwikkeld die de geprefereerde effecten teweeg brengen en daarmee disregulatie van pathways in de ziekte van Alzheimer kunnen corrigeren:

- Upregulatie van α -secretase zou kunnen leiden tot meer neuroprotectieve sAPP α en tegelijk minder vorming van A β .
- Downregulatie van β -secretase zou kunnen leiden tot minder A β -productie en tegelijk meer APP over laten voor vorming van sAPP α .
- Modulatie van γ -secretase activiteit zou kunnen leiden tot minder vorming van A β en dan vooral de vorming van A β_{42} .

Als drugs kunnen worden ontwikkeld die dit kunnen bewerkstelligen, zal er een grote stap worden gezet op de weg naar een goede behandeling van AD. Echter, hiervoor moeten er eerst een aantal grote obstakels nog worden overwonnen: Doordat de secretases ook belangrijk zijn in andere pathways, zoals NOTCH, is de kans op bijwerkingen bijzonder groot. Eerst zal dus duidelijk moeten worden welke interacties ze precies ondergaan en waar beïnvloeding hiervan toe leidt. Inhibitie van β -secretase lijkt de beste kans om dit probleem te omzeilen, aangezien deze de meest specifieke rol lijkt te spelen en het is gebleken dat BACE1 knock-out muizen gezond zijn. Daarnaast zal de identiteit van de secretases precies bekend moeten worden, zodat zeer specifieke inhibitors kunnen worden ontwikkeld. Ook dit is nodig om bijwerkingen te voorkomen, aangezien er veel enzymen zijn die homologie vertonen met de secretases en zo zouden kunnen worden beïnvloed. Verder zijn er dezelfde problemen als veel andere farmaceutica, bijvoorbeeld moeilijkheden in het bereiken van hun doel in het centraal zenuwstelsel.

Ondanks deze obstakels zijn er dus meerdere hoopvolle ontwikkelingen in het veld die kunnen leiden tot de eerste echt succesvolle behandelingen in de nabije toekomst. Echter, wat hierbij wel moet worden opgemerkt is dat deze behandelmethoden geen genezing van Alzheimer's opleveren, aangezien ze niet de oorzaak van de disbalans aanpakken. Hier staat wel tegenover dat modulatie van secretases, mits goed aangepakt, de balans van de pathways kan herstellen. Daarom lijkt mij dat deze vorm van behandeling beter is dan sommige alternatieven zoals immunisatie tegen A β , die dus veel minder specifiek werken met alle gevolgen van dien.

Referenties

1. Small DH. The role of the Amyloid Protein Precursor (APP) in Alzheimer's disease: does the normal function of APP explain the topography of neurodegeneration?. *Neurochemical Research*. 1998; 23:795-806.
2. Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* 2004; 135: 631-39.
3. Kokjohn TA, Cooper KE. The outlook for Alzheimer's disease. *The Futurist* 2005; : 34-37.
4. Esler WP, Wolfe MS. A portrait of Alzheimer secretases: New features and Familiar Faces. *Science* 2001; 239:1449-53.
5. Hooper NM, Turner AJ. The search for a-secretase and its potential as a therapeutic approach to Alzheimer's Disease. *Current Medicinal Chemistry*, 2002, 9, 1107-19
6. Parvathy S, Hussain I, Karran EH, Turner AJ, Hooper NM. Cleavage of Alzheimer's Amyloid Precursor Protein by α -secretase occurs at the surface of neuronal cells. *Biochemistry* 1999; :9728-34.
7. Allinson TMJ, Parkin ET, Turner AJ, Hooper NM. ADAMs family members as Amyloid Precursor Protein α -secretases. *Journal of Neuroscience Research* 2003; 74:342–352
8. Dubrovskaya NM, Nalivaeva NN, Turner AJ, Zhuravin IA. Effects of an inhibitor of α -Secretase, which metabolizes the Amyloid Peptide Precursor, on memory formation in rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 2006; 36: 911-13.
9. Deelman B, Eling P, de Haan E, van Zomeren E. *Klinische Neuropsychologie*. Amsterdam: Boom; 2008: 307-315.
10. Sano M, Grossman H, Van Dyk K. Preventing Alzheimer's disease; separating fact from fiction. *CNS Drugs* 2008; 22 (11): 887-902.
11. Laferla FM. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease. *Nature Reviews* 2002; 3: 862-72.
12. Masters CL, Beyreuther K. Science, medicine, and the future: Alzheimer's Disease. *BMJ* 1998; 316: 446-8.
13. Crowther RA, Goedert M. Abnormal Tau-Containing Filaments in Neurodegenerative Diseases. *Journal of Structural Biology*. 2000;130: 271–9.

14. Lammich S, Kojro E, Postina R, Gilbert S, Pfeiffer R, Jasionowski M, Haass C, Fahrenholz F. Constitutive and regulated α -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96: 3922–7.
15. Howlett DR, Simmons DL, Dingwall C, Christie G. In search of an enzyme: the β -secretase of Alzheimer's disease is an aspartic proteinase. *Trends in Neuroscience.* 2000; 23: 565–70.
16. Cachard-Chastel M, Lezoualc'h F, Dewachter I, Delome'nie C, Croes S, Devijver H, Langlois M, Van Leuven F, Sicsic S, Gardier AM. 5-HT₄ receptor agonists increase sAPP α levels in the cortex and hippocampus of male C57BL/6j mice. *British Journal of Pharmacology* 2007; 150: 883–92.
17. Kim JH, Choi S, Jung JE, Roh EJ, Kim HJ. Capacitative Ca²⁺ entry is involved in regulating soluble amyloid precursor protein (sAPP α) release mediated by muscarinic acetylcholine receptor activation in neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Journal of Neurochemistry* 2006; 97; 245–54.
18. Mattson MP, Barger SW, Furukawa K, Bruce AJ, Wyss-Coray T, Mark RJ, Mucke L. Cellular signaling roles of TGF β , TNF α and bAPP in brain injury responses and Alzheimer's disease. *Brain Research Reviews* 1997; 23; 47–61.
19. De Strooper B, Saftig P, Craessaerts K, Vanderstichele H, Guhde G, Annaert W, Von Figura K, Van Leuven F. Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature* 1998; 391; 387-90.
20. Parvathy S, Hussain I, Karran EH, Turner AJ, Hooper NM. Alzheimer's Amyloid Precursor Protein R-Secretase Is Inhibited by Hydroxamic Acid-Based Zinc Metalloprotease Inhibitors: Similarities to the Angiotensin Converting Enzyme Secretase. *Biochemistry* 1998; 37; 1680-5.
21. Racchi M, Solano DC, Sironi M, Govoni S. Activity of α -Secretase as the Common Final Effector of Protein Kinase C-Dependent and -Independent Modulation of Amyloid Precursor Protein Metabolism. *J. Neurochem* 1999; 72; 2464-70.
22. Goodman Y, Mattson M.P. Secreted forms of b-amyloid precursor protein protect hippocampal neurons against amyloid b-peptide-induced oxidative injury, *Exp. Neurol.* 1994; 128;1–12.
23. Alzheimer A. Uber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift fur Psychiatric und Psychisch-gerichtliche Medizin* 1907; 64; 146-8.
24. Block ML. NADPH oxidase as a therapeutic target in Alzheimer's disease. *BMC Neuroscience* 2008; 9; 1-8.

25. Mattson MP. Cellular actions of beta amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. *Physiological reviews* 1997: 77; 1081-1132.
26. Figueroa DJ, Morris JA, Ma L, Kandpal G, Chen E, Li YM, Austin CP. Presenilin-Dependent Gamma-Secretase Activity Modulates Neurite Outgrowth. *Neurobiology of Disease* 2002: 9; 49–60.
27. Hartmann T, Bieger SC, Brühl B, Tienari PJ, Ida N, Allsop D, Roberts GW, Masters CL, Dotti CG. Distinct sites of intracellular production for Alzheimer's-disease A-beta-40/42 amyloid peptides. *Nat. Med.*1997: 3; 1016–20.
28. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, Fuller J, Edenson S, Lile J, Jarosinski MA, Biere AJ, Curran E, Burgess T, Louis JC, Collins F, Treanor J, Rogers G, Citron M. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 1999: 286; 735–41.
29. Selivanova A. Intracellular dynamics of Alzheimer Disease-related proteins. Thesis Karolinska Institutet 2007; 1-57.
30. Yankner BA, Lu T. Amyloid β -Protein Toxicity and the Pathogenesis of Alzheimer Disease. *Journal of Biological Chemistry* 2009: 284; 4755–9.
31. Brody DL, Magnoni S, Schwetye KE, Spinner ML, Esparza TJ, Stocchetti N, Zipfel GJ, Holtzman DM. Amyloid- β Dynamics Correlate with Neurological Status in the Injured Human Brain. *Science*. 2008: 321; 1221–4.
32. Roses AD. A model for susceptibility polymorphisms for complex diseases: apolipoprotein E and Alzheimer disease. *Neurogenetics* 1997: 1; 3–11.
33. Mayeux R. Epidemiology of neurodegeneration. *Annu. Rev. Neurosci.* 2003: 26; 81–104.
34. Lee J, Duan W, Mattson MP. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J. Neurochem.* 2002: 82; 1367–75.
35. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci.* 2002: 25; 295–301.
36. Schoenberg BS, Kohmen E, Ohazaki H. Alzheimer's disease and other dementing illnesses in a defined United States population: incidence rates and clinical features. *Ann. Neurol.* 1987: 22; 724-9.
37. Yoshikai S, Sasaki H, Dohura, K, Furuya H, Sakaki Y. Genomic organization of the human amyloid beta-protein precursor gene. *Gene* 1990: 87; 257-63.

38. Small DH, Nurcombe V, Moir R, Michaelson S, Monard D, Beyreuther K, Masters CL. Association and release of the amyloid protein precursor of Alzheimer's disease from chick brain extracellular matrix. *J. Neurosci.* 1992; 12; 4143-4150.
39. Mattson MP. Secreted forms of β -amyloid precursor protein modulate dendrite outgrowth and calcium responses to glutamate in cultured embryonic hippocampal neurons. *J. Neurobiol.* 1994; 25; 439-50.
40. Puglielli L, Tanzi RE, Kovacs DM. Alzheimer's disease: the cholesterol connection. *Nature Neurosci.* 2003; 6; 345–51.
41. Mattson MP, Cheng B, Davis D, Bryant K, Lieberburg I, Rydel RE. β -Amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity. *J. Neurosci.* 1992; 12; 376-89.
42. Marks N, Berg MJ. APP Processing Enzymes (Secretases) as Therapeutic Targets: Insights from the Use of Transgenics (Tgs) and Transfected Cells. *Neurochemical Research*: 28; 1049–62.
43. Roberds SL, Anderson J, Basi G, Bienkowski MJ, Branstetter DG, Chen KS, Freedman SB, Frigon NL, Games D, Hu K, Johnson-Wood K, Kappenman KE, Kawabe TT, Kola I, Kuehn R, Lee M, Liu W, Motter R, Nichols NF, Power M, Robertson DW, Schenk D, Schoor M, Shopp GM, Shuck ME, Sinha S, Svensson K A, Tatsuno G, Tintrup H, Wijsman J, Wright S, McConlogue L. BACE knockout mice are healthy despite lacking the primary beta-secretase activity in brain: implications for Alzheimer's disease therapeutics. *Hum. Mol. Genet.* 2001; 10; 1317–24.
44. Nitsch RM, Farber SA, Growdon JH, Wurtman RJ. Release of amyloid b-protein precursor derivatives by electrical depolarization of rat hippocampal slices, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993; 90; 5191–3.
45. Roch JM, Masliah E, Roch-Levecq AC, Sundsmo MP, Otero DA, Veinbergs I, Saitoh T. Increase of synaptic density and memory retention by a peptide representing the trophic domain of the amyloid brA4 protein precursor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91; 7450–4.

Illustraties

Titelblad: Hooper NM, Turner AJ. The search for a-secretase and its potential as a therapeutic approach to Alzheimer's Disease. *Current Medicinal Chemistry*, 2002, 9, 1107-19

Fig. 1: http://www.umcn.nl/userfiles/stills/Kiliaan_plaatje_hersenen.bmp

Fig. 2: Masters CL, Beyreuther K. Science, medicine, and the future: Alzheimer's Disease. BMJ 1998; 316: 446-8.

Fig. 3: http://www.pueblo.gsa.gov/cic_text/health/alz-cure/tangles.gif

Fig. 4: Sano M, Grossman H, Van Dyk K. Preventing Alzheimer's disease; separating fact from fiction. CNS Drugs 2008; 22 (11): 887-902.

Fig. 5:

http://journals.prous.com/journals/dot/20023809/html/dt380631/images/Yamada_f1.gif

Fig. 6: <http://mcb.berkeley.edu/labs/schekman/images/gamma-secretase.gif>

Fig. 7: Powerpointpresentatie prof. Luiten Neuroscience research cursus 30-3-09.

Fig. 8:

http://allthingswell.files.wordpress.com/2008/06/alzheimer_dementia_3_presenile_onset1.jpg

Fig. 9: Block ML. NADPH oxidase as a therapeutic target in Alzheimer's disease. BMC Neuroscience 2008; 9; 1-8.