

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Multiple Sclerose

Multiple Sclerose (MS) is een ernstige chronische, inflammatoire aandoening van het centrale zenuwstelsel (CZS). Wereldwijd lijden er meer dan 2 miljoen mensen aan deze ziekte en het komt vooral voor bij jongvolwassenen. Vrouwen hebben twee keer zoveel kans om getroffen te worden door de ziekte dan mannen. Het overgrote deel van de MS patiënten heeft de Relapsing-Remitting vorm van MS (RR-MS) waarbij de patiënt afwisselende periodes van verergerende klachten en het weer verdwijnen van klachten doormaakt (remissie). Deze vorm van MS wordt vaak gevolgd door Secundair Progressieve MS (SP-MS) waarbij de klachten geleidelijk aan steeds meer toenemen. Er zijn dan geen periodes meer waarbij de klachten weer verdwijnen. Een kleine groep MS patiënten lijdt aan Primair Progressieve MS (PP-MS). Bij deze vorm van MS nemen de klachten vanaf het begin van de ziekte al gelijk toe, zonder remissie van de klachten. Eén van de opvallendste kenmerken van MS is het verlies van de beschermlaag (myeline) rondom de zenuwbanen. Plaatsen in het CZS waar de myeline is verdwenen worden laesies genoemd. Door deze laesies worden signalen minder snel, of helemaal niet meer, doorgegeven van de ene zenuwcel naar de andere zenuwcel. Afhankelijk van de exacte locatie van deze myeline-afbraak kan dit leiden tot een verscheidenheid aan neurologische beperkingen, bijvoorbeeld motorische beperkingen of verlamming, slechter zien, blaasproblemen of cognitief disfunctioneren.

De oorzaak van MS is tot op heden onbekend. Zowel genetische als omgevingsfactoren lijken te kunnen bijdragen aan het ontstaan van MS. De aanwezigheid van ontstekingscellen in en om laesies lijkt erop te wijzen dat MS wordt veroorzaakt door een auto-immuun reactie tegen het lichaamseigen myeline. De huidige medicatie is met name gericht op het remmen van de ontsteking en kan de voortgang en verergering van de ziekte verminderen. Helaas is genezing nog niet mogelijk en heeft de medicatie ook nog veel bijwerkingen. Het is daarom noodzakelijk om de neuropathologische processen die ten grondslag liggen aan MS in kaart te brengen om daarmee nieuwe en betere medicatie te kunnen ontwikkelen.

Het CZS bestaat uit zowel witte als grijze stof. In de witte stof bevinden zich voornamelijk uitlopers (axonen) van zenuwcellen (neuronen). Een vettige, eiwitrijke stof genaamd myeline vormt een isolerende laag rondom axonen. Deze isolatie is noodzakelijk voor bescherming van de axonen en zorgt ook voor een snelle overdracht van prikkels van het ene neuron naar het andere. In de grijze stof bevinden zich met name de cellichamen van de neuronen. De afbraak van myeline kan leiden tot een verminderd efficiënte prikkeloverdracht. Bij mensen met MS wordt er ook schade aan de axonen waargenomen, welke onomkeerbaar is. Schade aan axonen heeft tot gevolg dat er verbindingen tussen zenuwcellen worden onderbroken, waardoor signaaloverdracht tussen deze zenuwcellen onmogelijk wordt. Bij patiënten met RR-MS zijn er periodes van remissie: op plekken waar het myeline is beschadigd, wordt weer nieuw myeline gevormd. Dit proces wordt remyelinisatie genoemd. De dan gevormde myeline

is echter van mindere kwaliteit dan de originele myeline. Tevens vindt de remyelinsatie nauwelijks meer plaats tijdens de progressieve fase van MS. Daarnaast wordt er littekenweefsel gevormd op de plaatsen waar de myeline is beschadigd.

Ontstekingsprocessen

In het CZS van mensen met MS zijn pathologische processen gaande waarbij verschillende celtypen betrokken zijn. In en om laesies worden ontstekingscellen uit het bloed waargenomen. Normaal gesproken zorgt de bloed-hersen-barrière (BHB) ervoor dat er geen schadelijke stoffen uit het bloed of cellen in de hersenen terecht kunnen komen, maar in het CZS van mensen met MS laat de BHB op sommige plaatsen toch ontstekingscellen uit het bloed de hersenen binnen. Daarnaast zien we in laesies ook ontstekingscellen van het brein: gliacellen. Er zijn drie verschillende typen gliacellen: microglia, astrocyten en oligodendrocyten. Oligodendrocyten produceren het myeline. Microglia zijn de immuuncellen van het brein en zijn in staat om lichaamsvreemde stoffen, bijvoorbeeld bacteriën, te verwijderen. Astrocyten worden ook wel de steuncellen van het brein genoemd en hebben verschillende functies. Zo zorgen deze cellen onder andere voor een optimaal niveau van neurotransmitters. Daarnaast vormen astrocyten ook een belangrijk onderdeel van de BHB en spelen ze een belangrijke rol in littekenvorming in het CZS. Zowel microglia als astrocyten zijn in staat een verscheidenheid aan stoffen te produceren die een immuunreactie stimuleren (ontstekingsfactoren). Daarnaast zijn ze ook in staat om te beschermen tegen schade aan het CZS die kan ontstaan tijdens een immuunreactie door het produceren van beschermende en ontstekingsonderdrukkende stoffen.

Opvallend is dat in witte stof laesies er veel infiltratie is van ontstekingscellen vanuit de bloedbaan, terwijl dat in grijze stof laesies veel minder het geval lijkt te zijn. Dit impliceert dat het onderliggende neuropathologische proces van de vorming van witte en grijze stof laesies verschillend is. Het is nog onbekend waardoor dit verschil wordt veroorzaakt, maar mogelijk spelen de gliacellen hierbij een belangrijke rol. Omdat grijze stof laesies onder andere een grote rol spelen bij het ontstaan van cognitieve klachten bij MS is het van groot belang om niet alleen meer te weten te komen over de eigenschappen en het ontstaan van witte stof laesies, maar ook van grijze stof laesies in MS.

Het eerste hoofddoel van dit proefschrift is dan ook: het in kaart brengen van eigenschappen en mogelijke verschillen tussen gliacellen in de grijze en witte stof van MS patiënten.

Het eerste doel komt aan bod in hoofdstuk 2 t/m 4. In hoofdstuk 2 worden de ontstekingsprocessen en activiteit van gliacellen in de witte en grijze stof van MS op een rij gezet. Mogelijke verklaringen voor de verschillen tussen ontstekingsprocessen in witte en grijze stof worden besproken. De hypothese wordt geformuleerd dat er verschillen zijn tussen gliacellen afkomstig uit de witte of uit de grijze stof en dat dit mogelijk kan bijdragen aan het verschillende neuropathologische profiel van witte stof laesies in vergelijking met grijze stof laesies.

In hoofdstuk 3 en 4 ligt de focus op twee belangrijke ontstekingsfactoren: interleukine-1 β (IL-1 β) en monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1, ook wel CCL2 genoemd). Deze hoofdstukken leveren een bijdrage aan onderzoek naar witte én grijze stof laesies in MS. IL-1 β is een eiwit dat algemeen bekend staat als een aanjager van immunoreacties en speelt mogelijk een rol tijdens de vroege fase van de vorming van witte stof laesies. CCL2 is een eiwit waarvan is aangetoond dat deze een cruciale rol speelt in het aantrekken van ontstekingscellen uit de bloedbaan door de BHB. Er zijn veel aanwijzingen dat ook CCL2 al in de vroege fase van de vorming van witte stof laesies een belangrijke rol speelt door het aantrekken van ontstekingscellen uit het bloed. Over de rol van deze twee inflammatoire factoren in de vorming van grijze stof laesies is weinig bekend. In hoofdstuk 3 onderzoeken we daarom of IL-1 β naast witte stof laesies ook voorkomt in grijze stof laesies. Daartoe maken we gebruik van een ratmodel van MS, genaamd “chronic experimental autoimmune encephalomyelitis” (cr-EAE). Het brein en ruggenmerg van deze ratten wordt op drie verschillende tijdstippen gedurende de vroege fase van laesievorming onderzocht op het voorkomen van IL-1 β in de grijze en witte stof. In dit hoofdstuk wordt voor het eerst aangetoond dat IL-1 β zich niet alleen in witte, maar ook in grijze stof in cr-EAE bevindt. Mogelijk dat IL-1 β daarom een target voor medicatie zou kunnen zijn, niet alleen om witte stof gerelateerde problematiek, maar ook grijze stof gerelateerde problematiek tegen te gaan.

In tegenstelling tot onze bevindingen betreffende IL-1 β zien we een duidelijk verschil in het voorkomen van het CCL2 eiwit in witte stof vergeleken met grijze stof. In hoofdstuk 4 onderzoeken we de hippocampus van mensen met MS. De hippocampus is een erg belangrijk hersengebied om te bestuderen omdat het zowel witte als grijze stof bevat: verschillen tussen de neuropathologische processen in de witte en grijze stof zijn mogelijk goed in kaart te brengen in de hippocampus. Daarmee kunnen we meer kennis opdoen over het ontstaan van grijze stof laesies. We beschrijven dat er een significante verhoging is van CCL2 rondom hippocampale witte stof laesies in vergelijking met grijze stof en dat CCL2 wordt geproduceerd door astrocyten. In de witte en grijze stof van gezonde personen zien we nauwelijks CCL2 en ook observeren we bijna geen waarneembare hoeveelheid CCL2 in de grijze stof in de hippocampus van MS patiënten. De receptor voor CCL2, genaamd CCR2, is wél verhoogd in de grijze stof van de hippocampus van MS patiënten in vergelijking met gezonde personen en lijkt vooral op microglia te zitten. De hoeveelheid CCR2 is wel vele malen hoger in de witte dan in de grijze stof. We formuleren de hypothese dat microglia en astrocyten in de witte stof anders zijn dan deze cellen in de grijze stof. In een serie vervolggexperimenten hebben we gebruik gemaakt van microglia en astrocyten die zijn geïsoleerd uit het rattenbrein. We tonen aan dat astrocyten afkomstig uit de witte stof van het rattenbrein vele malen meer CCL2 produceren in reactie op een stof die vrijkomt bij axonale schade, b α -ATP, dan astrocyten afkomstig uit de grijze stof. Verder zien we dat microglia afkomstig uit de grijze stof van het rattenbrein zich vermeerderen in reactie op blootstelling aan CCL2. De verhoogde aanwezigheid van CCL2 in de witte stof zou een mogelijke verklaring kunnen zijn voor de verhoogde aanwezigheid van ontstekingscellen uit de bloedbaan in de witte stof. Anderzijds

kan CCL2 een vermeerdering van microglia veroorzaken in de grijze stof. Dit hoofdstuk ondersteunt de hypothese dat er een ander proces ten grondslag ligt aan de vorming van grijze stof laesies in vergelijking met witte stof laesies.

Neurotransmitters

Ongeveer de helft van mensen met MS krijgt last van cognitieve problemen. Cognitie is een veelomvattende term en omvat verschillende denkprocessen zoals planning, aandacht en geheugen. Met name geheugenproblemen komen vaak voor bij mensen met MS en hebben een grote invloed op de kwaliteit van leven. Er zijn meerdere aanwijzingen dat schade aan grijze stof een groter aandeel heeft in de cognitieve problemen dan schade aan witte stof. Een grijze stof gebied dat een essentiële rol speelt bij geheugenprocessen is de hippocampus. Onderzoek naar de hippocampus van mensen met MS wijst op een verband tussen laesies in de hippocampus en het optreden van geheugenproblemen. Effectieve signaaloverdracht tussen neuronen in de hippocampus door middel van neurotransmitters vormt de basis voor leren en geheugen. Eerder is al aangetoond dat veranderingen in de hoeveelheid van één van de belangrijkste neurotransmitters in het CZS, glutamaat, vaker voorkomen bij mensen met MS die geheugenproblemen ervaren. Echter, van andere neurotransmitters die betrokken zijn bij geheugen, namelijk Acetylcholine en GABA, is niet bekend of deze zijn aangetast bij mensen met MS. Acetylcholine en GABA zijn onderdeel van het cholinerge respectievelijk GABAerge neurotransmittersysteem. Glutamaat is een excitatoire neurotransmitter. Dat wil zeggen dat glutamaat een neuron prikkelt en activeert. GABA is een zogenaamde inhibitorische neurotransmitter en heeft juist een dempende werking en remt de activiteit van een neuron. Acetylcholine is ook een excitatoire neurotransmitter maar kan soms ook inhibitorisch zijn. Een optimale balans tussen deze neurotransmitters zorgt ervoor dat neuronen genoeg geactiveerd worden, maar niet teveel, om informatie effectief over te dragen van het ene naar het andere neuron.

Het tweede hoofddoel van dit proefschrift is: het identificeren van veranderingen in de cholinerge en GABAerge neurotransmittersystemen in de hippocampus van MS patiënten ten opzichte van gezonde mensen.

Het tweede doel van dit proefschrift komt aan bod in hoofdstuk 5 en 6. In deze hoofdstukken zoomen we verder in op de hippocampus van MS patiënten en onderzoeken we twee belangrijke neurotransmittersystemen die betrokken zijn bij leren en geheugen: het cholinerge en het GABAerge neurotransmittersysteem. In hoofdstuk 5 onderzoeken we het cholinerge neurotransmittersysteem, door middel van de analyse van choline acetyltransferase (ChaT) en acetylcholinesterase (AChE). ChaT is een enzym dat betrokken is bij de aanmaak van de neurotransmitter acetylcholine (ACh). AChE is een enzym dat verantwoordelijk is voor de afbraak van ACh. In hoofdstuk 5 observeren we een significant verminderde activiteit van ChaT in de hippocampus van mensen met MS. Daarnaast blijkt de activiteit van AChE niet

verminderd. Dit leidt mogelijk tot een verminderde hoeveelheid van Ach, wat vervolgens zou kunnen leiden tot verminderde geheugenprestaties van MS patiënten. Het is daarom interessant om te onderzoeken of MS patiënten mogelijk baat hebben bij medicatie die de activiteit van AchE vermindert, waardoor minder Ach afgebroken wordt. Op deze manier kan wellicht worden gecompenseerd voor de verminderde aanmaak van Ach.

In hoofdstuk 6 onderzoeken we het GABAerge neurotransmittersysteem door middel van de analyse van glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) en parvalbumine (PV). GAD67 is een enzym dat betrokken is bij de aanmaak van GABA doordat het de neurotransmitter glutamaat omzet in GABA. PV is een eiwit dat voorkomt in GABAerge neuronen en kan daarom worden gebruikt om het aantal GABAerge neuronen te analyseren. In hoofdstuk 6 zien wij dat de hoeveelheid neuronen met PV niet is veranderd in de hippocampus van MS patiënten vergeleken met de hippocampus van gezonde personen. Een opvallend resultaat is de verhoging van GAD67 rondom witte stof laesies in de hippocampus van MS patiënten. We zien dat met name astrocyten verantwoordelijk zijn voor deze toename van GAD67 rondom hippocampale witte stof laesies. In hippocampale grijze stof laesies zien we dit niet. Daarnaast geeft dit onderzoek aanwijzingen dat deze verhoging in GAD67 samengaat met een verminderde cognitie zoals gevonden in de MS patiënten betrokken bij ons onderzoek. Mogelijk dat er een verstoring is van de balans tussen excitatoire en inhibitoire neurotransmitters wat een verminderde cognitie veroorzaakt.

Conclusie

In hoofdstuk 7 worden de resultaten van de onderzoeken die beschreven zijn in dit proefschrift samengevat en bediscussieerd. De studies in dit proefschrift onderstrepen het belang van onderzoek naar zowel witte als grijze stof laesies in het brein van mensen met MS. Gliacellen in de witte stof reageren anders dan gliacellen in de grijze stof. De aanwezigheid van IL-1 β in zowel witte als grijze stof laesies suggereert dat de trigger voor de vorming van laesies mogelijk hetzelfde is in witte stof laesies vergeleken met grijze stof laesies. Echter, de aanwezigheid van CCL2 en CCR2 in witte stof laesies verschilt sterk van hun aanwezigheid in grijze stof laesies. Dit betekent mogelijk dat het mechanisme waardoor de laesie zich verder ontwikkelt in de witte stof verschilt van het mechanisme in de grijze stof. Deze informatie zou kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën gericht op het voorkomen of remmen van laesievorming. Daarbij dient rekening gehouden te worden met de verschillen tussen witte en grijze stof laesies. Mogelijk is er voor het behandelen van grijze stof laesies andere therapie nodig dan voor witte stof laesies. Daarnaast blijkt dat GABAerge en cholinerge neurotransmittersystemen in de hippocampus van mensen met MS afwijken van die van gezonde personen. Deze onderzoeksresultaten kunnen bijdragen aan de kennis die nodig is voor het ontwikkelen van therapieën die specifiek zijn gericht op het behandelen van cognitieve problemen bij mensen met MS. Het beïnvloeden van genoemde neurotransmittersystemen zouden hierbij een rol kunnen spelen.