

Nederlandse samenvatting

Nederlandse samenvatting

Multiple sclerose (MS) is een chronische ontstekingsziekte van het centraal zenuwstelsel (CZS) die zich vooral openbaart bij jong volwassenen (20-40 jaar). MS wordt gekenmerkt door ernstige beschadigingen aan de beschermlaag (myeline) om zenuwen, waardoor de signaaloverdracht in deze cellen wordt verstoord en verlamings- en/of uitvalsverschijnselen ontstaan. De beschadigingen aan het myeline worden veroorzaakt door cellen van ons eigen immuunsysteem, de zogenoemde witte bloedcellen, die massaal het CZS binnentreden en ontstekingshaarden (laesies) vormen. Om het CZS binnen te komen moeten de witte bloedcellen de speciale bloedvatwand van de hersenen passeren, de bloed-hersen barrière (BHB). Dit is normaal gesproken een goed beschermende bloedvatwand in vergelijking met andere bloedvaten in de rest van het lichaam, om zodoende de hersenen optimaal te kunnen beveiligen tegen schadelijke moleculen en/of cellen uit het bloed. De BHB wordt gevormd door hersenendothelcellen die de bloedvatwand bekleden, en deze cellen zijn onderling verbonden met tight junction (TJ) eiwitten die fungeren als een soort 'ritssluiting' tussen de endothelcellen en zo een ondoorlaatbaar hekwerk vormen. Astrocyten zijn belangrijke steuncellen in de hersenen en zorgen voor de optimale functie van de BHB doordat zij met hun uitlopers contact maken met de hersenendothelcellen en hierdoor de barrière in stand houden. Tussen de astrocyten en de endothelcellen bevindt zich een netwerk van matrix eiwitten, die samen met de eerder genoemde cellen ervoor zorgen dat de BHB ondoorlaatbaar is voor bloedcomponenten en cellen en het CZS dus optimaal beveiligd is tegen potentiële gevaarlijke indringers.

Bij MS patiënten is de BHB beschadigd, waardoor witte bloedcellen het CZS binnen kunnen dringen en schade aan het hersenweefsel veroorzaken. Het doel van mijn proefschrift was om te bestuderen welke veranderingen er optreden in de BHB tijdens MS, om zo meer inzicht te krijgen in mechanismen die de BHB reguleren met uiteindelijk als doel het verlies van de BHB functie tegen te gaan en zo de ziekte te kunnen remmen. In **hoofdstuk 2** hebben we laten zien dat witte bloedcellen de doorlaatbaarheid van de BHB verhogen door tijdens de binding aan hersenendothelcellen deze cellen te veranderen. Deze veranderingen vinden plaats doordat witte bloedcellen schadelijke moleculen uitscheiden (zuurstofradicalen) die

toxisch zijn voor endotheelcellen en veranderingen tot stand brengen in deze cellen door middel van kleine signaaleiwitten (signaal-transductie). Deze signaal-transductie gaat via verschillende eiwitten (Rho, PI3 kinase en PKB) en zorgt ervoor dat het cytoskelet (eiwitten die zorgen voor de vorm van een cel) en de TJs dusdanig verstoord worden dat de BHB gemakkelijker te passeren is voor de witte bloedcellen. Ook hebben we laten zien dat wanneer de werking van deze signaal-transductie eiwitten geblokkeerd wordt, de zuurstofradicalen geen veranderingen meer teweeg brengen in het cytoskelet en de TJs, zodat de migratie van witte bloedcellen over de BHB sterk verminderd wordt.

Behalve zuurstofradicalen en signaal-transductie eiwitten kunnen er ook nog andere eiwitten een rol spelen tijdens het migratieproces van witte bloedcellen over de BHB. Om dit verder uit te zoeken hebben we in **hoofdstuk 3** in detail gekeken naar het migratieproces van witte bloedcellen door hersenendotheelcellen met behulp van levende cel microscopie. Door gebruik te maken van deze techniek konden we specifiek kijken naar wat er met de TJ eiwitten gebeurt tijdens het migratieproces. We hebben laten zien dat witte bloedcellen voornamelijk dwars door deze TJ structuren migreren door deze 'ritssluiting' lokaal te openen. Ook ontdekten we een belangrijke rol voor matrix metalloproteinases (MMPs, ook wel knip-eiwitten genoemd) tijdens dit proces, doordat MMP-remmers ervoor zorgden dat witte bloedcellen niet meer door de endotheelcellen heen konden migreren en de TJ-eiwitten intact bleven.

Naast een fysieke barrière (d.m.v. TJ-eiwitten) is de BHB ook een transport barrière doordat de endotheelcellen meerdere transport eiwitten bevatten die de binnenkomst van voedingsstoffen voor de hersenen en uitscheiden van potentiële schadelijke stoffen reguleren. In de laatste 3 hoofdstukken van mijn proefschrift heb ik me voornamelijk gericht op deze uitscheidende transport eiwitten met als hypothese dat een verstoring in hun expressie en/of functie kan leiden tot een ophoping van schadelijke stoffen in het CZS, wat vervolgens kan leiden tot ontstekingen in de hersenen, zoals we zien tijdens MS. In **hoofdstuk 4** hebben we laten zien dat één van deze transport eiwitten (P-glycoproteïne, P-gp) verminderd tot expressie komt op de hersenendotheelcellen in verschillende MS laesies. Daarnaast hebben we in een diermodel voor MS laten zien dat naast de expressie ook de

functie van P-gp sterk verminderd is tijdens de ziekte. De veroorzakers van het verlies van P-gp bleken wederom witte bloedcellen te zijn die door middel van binding aan de endotheelcellen ervoor zorgden dat signaal-transductie eiwitten (zoals NF- κ B) specifiek de P-gp expressie en functie verstoorden. In **hoofdstuk 5** hebben we in kaart gebracht wat er tijdens MS gebeurt met andere transport eiwitten zoals breast cancer resistance protein (BCRP) en verschillende multidrug resistance proteins (MRP eiwitten). In tegenstelling tot P-gp vonden we geen verschillen in expressie van deze eiwitten op hersenendotheelcellen in MS laesies. Echter, andere celtypen die prominent aanwezig zijn in MS laesies zoals infiltrerende witte bloedcellen die het myeline opeten (schuimcellen) en geactiveerde astrocyten, vertoonden duidelijke verschillen in transporter expressie. Geactiveerde astrocyten staan erom bekend aan het ontstekingsproces bij te dragen door het uitscheiden van verschillende ontstekingsmoleculen. Daarnaast hebben we aangetoond dat zowel P-gp als MRP-1 bijdragen aan het uitscheiden van een belangrijk ontstekingsmolecuul, namelijk monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) door geactiveerde astrocyten. Deze resultaten tonen aan dat transporter eiwitten onder pathologische omstandigheden ook een slechte invloed kunnen hebben op het ziekteproces. Om dit laatste punt extra kracht bij te zetten, hebben we in **hoofdstuk 6** gekeken of het uitschakelen van één van de transport eiwitten (namelijk P-gp) een effect had op het ziekteverloop in een diemodel voor MS. Hiervoor hebben we gebruik gemaakt van genetisch gemodificeerde muizen die geen P-gp hebben (P-gp knock-out muizen), en deze muizen vertoonden inderdaad verminderde ziekteverschijnselen vergeleken met controle muizen. Vervolgens hebben we in kaart gebracht dat P-gp niet alleen op de BHB maar ook in de lymfeklieren een belangrijke rol speelt bij het initiëren van een ontstekingsproces. Speciale cellen die deze ontstekingsprocessen regelen, de zogenoemde dendritische cellen, bleken ook P-gp nodig te hebben om witte bloedcellen dusdanig te activeren dat ze het CZS konden infiltreren en laesies konden vormen.

Conclusie

In dit proefschrift hebben we laten zien dat verschillende aspecten van de BHB, zoals de fysieke en de transport barrière sterk zijn aangedaan tijdens de ziekte MS. We hebben de

onderliggende mechanismen in kaart gebracht die voor deze veranderingen zorgen. Vooral witte bloedcellen bleken de BHB te verstoren en daarom is het blokkeren van de interactie tussen witte bloedcellen en hersenendothelcellen een belangrijke strategie om zo de ziekteverschijnselen van MS te remmen. Daarnaast hebben we in dit proefschrift nieuwe fysiologische functies beschreven van transport eiwitten door te laten zien dat deze eiwitten ook ontstekingsmoleculen kunnen transporteren en daarbij bijdragen aan het ziekteproces tijdens MS. De resultaten van dit proefschrift bieden meerdere mogelijkheden om nieuwe therapieën te ontwikkelen. Enerzijds om de BHB te versterken tijdens MS en zo de CZS influx van witte bloedcellen en het ontstaan van laesies te remmen. Anderzijds kunnen de ontstekingsregulerende eigenschappen van transport eiwitten worden aangepakt om zo de ontstekingsprocessen tijdens MS onder controle te houden of zelfs te voorkomen.

