

## Samenvatting

Multiple sclerose (MS) is een chronische inflammatoire demyeliniserende auto-immuunziekte van het centrale zenuwstelsel (CZS). Hoewel de exacte oorzaak van MS onbekend is, spelen milieufactoren en genetische factoren een rol. Pathologisch kenmerk van MS is een complex proces met ontsteking, demyelinisatie, astrocytose en axonale degeneratie, uiteindelijk leidend tot de vorming van sclerotische plaques in de witte stof. Het is gebleken dat, vooral in progressieve fasen van MS, afwijkingen niet beperkt zijn tot de witte stof afwijkingen, maar ook aanwezig zijn in normaal ogend hersenweefsel en grijze stof. Zowel demyelinisatie als axonaal verlies in de hersenen en het ruggenmerg kan leiden tot een verminderde zenuwgeleiding met tijdelijke, (deels) reversibele en/of geleidelijk progressieve neurologische uitvalsverschijnselen, zich uitend in relapsing remitting (RR), secundair progressieve (SP), primair progressieve (PP) of progressieve relapsing (PR) MS. Conventionele “magnetic resonance imaging” (MRI) kan focale laesies tonen, maar heeft een beperkte histopathologische specificiteit en klinische correlatie. Atrofie metingen en niet-conventionele MRI-technieken geven informatie over de meer diffuse afwijkingen van normaal ogend hersenweefsel en correleren beter met handicaps. Ziektebeloop, prognose en reactie op behandeling zijn zeer variabel tussen patiënten. Huidige ziektemodulerende therapieën kunnen het aantal relapses met tijdelijke, (deels) reversibele uitvalsverschijnselen verminderen, maar waarschijnlijk niet progressie van de ziekte.

De heterogeniteit in MS, zowel klinisch, radiologisch, immunologisch, pathologisch als genetisch, kan duiden op meer dan één pathogeen mechanisme, waarvoor verschillende soorten behandeling nodig zijn. Er is veel genetisch, immunopathologisch en radiologisch onderzoek verricht om inzicht te krijgen in het ziekteproces en prognostische en therapeutische consequenties. Idealiter zou dit leiden tot de mogelijkheid om de individuele patiënt te classificeren. Echter tot nu toe is de meest voor de hand liggende en meest toegepaste classificatie op basis van het klinisch ziektebeloop. Hoewel de klinische subtypes verschillen met betrekking tot bepaalde radiologische, immunologische en pathologische eigenschappen op groepsniveau, blijft de heterogeniteit groot.

In dit proefschrift worden onderzoeken gepresenteerd over verschillende mogelijk nuttige biomarkers in een poging om klinisch relevante associaties of subgroepen te onderscheiden en daarmee de heterogeniteit enigszins te ordenen.

**Hoofdstuk 2** bevat enkele studies waarin de invloed is onderzocht van het apolipoproteïne E (APOE = gen, apoE = eiwit) polymorfisme, een genetische marker, op MS. Het APOE gen ligt op chromosoom 19q13, een van de regio's die mogelijk genen bevatten die van invloed zijn op MS gevoeligheid. De meest voorkomende allelen  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  en  $\epsilon 4$  coderen voor de meest voorkomende isovormen E2, E3 en E4. ApoE is betrokken bij transport van lipiden en cholesterol en speelt een rol bij de groei en regeneratie van neuronen. Er bestaan steeds meer aanwijzingen voor een negatieve rol van apoE  $\epsilon 4$  bij CZS ziekten, hoewel bij MS tegenstrijdige resultaten worden gemeld.

In **hoofdstuk 2.1** werd de associatie van het APOE polymorfisme met zowel MS gevoeligheid als ziektebeloop onderzocht in een grote groep MS-patiënten, met subgroep analyse van MRI metingen. In deze groep werd geen associatie van het ApoE genotype met MS gevoeligheid, klinische of MRI metingen gevonden. Met gecombineerde analyse van gepubliceerde gegevens kon de mogelijkheid van een kleine negatieve rol voor  $\epsilon 2$ -dragerschap bij gevoeligheid voor MS echter niet met zekerheid worden uitgesloten.

In **hoofdstuk 2.2** onderzochten we in dezelfde groep MS patiënten de seksespecifieke associatie van het APOE polymorfisme met ziekte-ernst in reactie op gerapporteerde bevindingen dat bij vrouwen  $\epsilon 2$ -dragerschap in verband wordt gebracht met een gunstiger

ziektebeloop. Echter, in onze groep vonden we met dezelfde analyse een tegenovergestelde trend. Bij vrouwen was  $\epsilon 2$ -dragerschap geassocieerd met een kortere tijd tot EDSS 6 en een hogere relatieve toename van T2- en T1-laesies op MRI.

**Hoofdstuk 2.3** beschrijft de resultaten van uitgebreide gepoolde en meta-analyses met behulp van grote groepen patiënten om te bepalen of APOE-variantie ziektegevoeligheid of -ernst beïnvloedt in MS. Meta-analyse van 22 studies (3299 MS-patiënten en 2.532 controles) toonde geen effect van  $\epsilon 2$ - of  $\epsilon 4$ -status op MS risico. Resultaten van analyses van APOE genotype in 1279 MS-families waren ook negatief. Gepoolde analyses van 4048 MS-patiënten toonde geen associatie met ziektebeloop of -ernst. De bevindingen bieden geen ondersteuning voor een rol voor APOE bij MS.

**Hoofdstuk 3** gaat over immunopathologische markers van de ziekte.

In **hoofdstuk 3.1**, in aansluiting aan het onderwerp van het vorige hoofdstuk, is onderzocht of apoE-concentratie in hersenvocht geassocieerd is met transversale en longitudinale ziektekenmerken bij MS. De gemiddelde apoE-concentratie in MS-patiënten ( $n = 44$ ) was lager dan in de controlegroep ( $n = 28$ ), wellicht indicatief voor een verhoogd gebruik van apoE-lipide-complexen voor reparatieprocessen bij MS. Echter, subgroepanalyses toonden geen associatie tussen APOE genotype en (veranderingen in) klinische, neuropsychologische of MRI metingen.

**Hoofdstuk 3.2** bevat de resultaten van een studie naar de prognostische waarde van immunologische markers voor de lange termijn progressie van invaliditeit bij 25 MS-patiënten. Als markers werden pro- en anti-inflammatoire cytokines, chemokine-receptoren en mediators van apoptose geselecteerd, allen betrokken bij mechanismen die in eerdere studies zijn geassocieerd met korte termijn ziekte-activiteit. TNF- $\alpha$ , IL-12p35, IL-12p40, IL-4, IL-10, TGF- $\beta 1$ , CCR3, CXCR3, CCR5, Fas en FasL mRNA in perifere bloed mononucleaire cellen (PBMC) werden geanalyseerd met betrekking tot hun correlatie met de toename van invaliditeit gedurende 10 jaar. Een hoog niveau van Fas mRNA in RR MS en een hoog niveau van FasL mRNA in SP MS werden geassocieerd met een gunstig beloop, wat suggereert dat Fas-gemedieerde apoptose een belangrijke rol speelt in het onderliggende mechanisme van lange termijn ziekteprogressie van MS.

**Hoofdstuk 4** gaat over MRI metingen.

In **hoofdstuk 4.1** wordt getracht om een louter op MRI kenmerken gebaseerde indeling van MS-patiënten te maken en om te testen of de daaruit voortkomende subgroepen geassocieerd zijn met klinische en laboratorium kenmerken. MRI onderzoeken van hersenen en ruggenmerg van 50 patiënten werden gescoord op 21 kwantitatieve en kwalitatieve kenmerken. Latente klasse analyse toonde twee subgroepen die vooral verschilden in de mate van confluente van afwijkingen en MRI correlaten van neuronale verlies in de hersenen (atrofie, hoeveelheid 'black holes'). Demografie en ziektekenmerken waren vergelijkbaar, behalve met betrekking tot cognitieve beperkingen. Geconcludeerd werd dat latente klasse analyse een haalbare aanpak biedt om subgroepen van MS-patiënten te onderscheiden op basis van MRI kenmerken, hoewel de reproduceerbaarheid, longitudinale evolutie en verdere klinische of prognostische relevantie van de gevonden indeling zal moeten worden onderzocht in een grotere en onafhankelijke groep patiënten.

**Hoofdstuk 4.2** beschrijft drie patiënten waarbij klinisch beloop en hersenvocht bevindingen passen bij een diagnose PP MS. Uitgebreid en herhaald MRI onderzoek toont slechts diffuse afwijkingen in de hersenen en het ruggenmerg, maar geen focale laesies. Uit de literatuur is bekend dat PP MS-patiënten meestal minder focale laesies op conventionele MRI laten zien en dat diffuse afwijkingen karakteristiek zijn voor een (primair) progressief ziektebeloop. Daarom wordt gesteld dat deze gevallen de meest zuivere vorm van PP MS

vertegenwoordigen, hoewel volgens de huidige criteria deze diagnose niet kan worden gesteld door het ontbreken van focale laesies op MRI.

In **hoofdstuk 5** worden de resultaten uit het proefschrift samengevat en bediscussieerd, waarbij suggesties worden gedaan voor toekomstig onderzoek.

## **Conclusie**

De studies in dit proefschrift suggereren dat:

- APOE genotype geen invloed heeft op gevoeligheid voor of ernst van MS;
- apoE in hersenvocht wellicht gebruikt wordt voor reparatieprocessen in MS;
- Fas-gemedieerde apoptose een belangrijke rol speelt in het onderliggende mechanisme van de lange termijn ziekteprogressie van MS;
- latente klasse analyse een haalbare aanpak biedt om subgroepen van MS-patiënten te onderscheiden op basis van MRI kenmerken;
- geïsoleerde diffuse afwijkingen op conventionele MRI kunnen de meest zuivere vorm van PP MS vertegenwoordigen.