

Jonas Bergquist, MD, PhD | De neuroimmune route in ME/CVS

<https://www.youtube.com/watch?v=oXCEJxOmuAY>

Ik verwelkom graag onze laatste spreker vóór de onderbreking, Jonas Bergquist van de Uppsala Universiteit in Zweden. Het is een genoegen om Jonas hier opnieuw te hebben. Hij gaf hier een lezing vorig jaar. Hij is een expert in alle soorten zaken, inbegrepen de bediening van haast ieder instrument. Hij is ook een specialist en kan van alles doen met patiënten. Een van de merkwaardige zaken - we spraken in onze werkgroep de voorbije dagen over stappen vooruit te zetten - ik was aan het klagen dat er een chemische samenstelling was die we niet konden vinden en dat we niet wisten hoe verder te gaan met sommige zaken omdat ze niet beschikbaar was. En hij zei: "We hebben dat net gemaakt in Uppsala en getest op mensen." Waarop ik zei: verdorie, waarom doe jij de experimenten dan niet? We zullen je de protocollen opsturen. En hij ging akkoord. Enkel om je te illustreren, net daarom wil je samenwerken met mensen die coöperatief zijn, het brengt dingen sneller in beweging. Hij doet in ieder geval ook veel ontdekkingen en de laatste keer dat hij hier was, kondigde hij een van die ontdekkingen aan. Hij zei dat hij een correlatie gevonden had tussen chocoladeconsumptie en het winnen van een Nobelprijs. Dit zijn dus heel belangrijke zaken! Dank je. Heel erg bedankt, Ron, en ook bedankt voor de introductie. Het is een groot genoegen hier terug te zijn. Ik moet zeggen dat, na deze 3 dagen samen, ik veel meer hoop koester dat we echt veel sneller rondtrekken en vooruitgang boeken op dit terrein. En ook op het gebied van ontstaan van begrip, wat heel belangrijk is om iets te kunnen doen. Vandaag zal ik wat focussen op de neuro immuun route van ME/CVS. Zoals jullie allemaal weten, is dit een heel complexe situatie waar we naar kijken. Maar we moeten op zijn minst kleine stappen zetten om meer te begrijpen van de biologie achter deze ziekte. Ik zal je op weg zetten in deze complexiteit. Dit is een natuurlijk fenomeen waar we allen constant mee te maken hebben. Het zenuwstelsel en het immuunsysteem communiceren altijd en overal. Soms is het een belangrijke, positieve en niet-pathogene weg binnen het lichaam. Het is het hart van bv. de ontwikkeling en ook het behoud van het immuunsysteem en het centraal zenuwstelsel. Maar

soms zijn er problemen, bijvoorbeeld als het immuunsysteem het zenuwstelsel begint aan te vallen en ook als het zenuwstelsel begint de positieve actie van het immuunsysteem naar beneden te reguleren of misschien te verstoren, dan kunnen zaken verkeerd gaan en heel ingewikkeld worden. We proberen je te tonen wat we beginnen te begrijpen over die dingen bij mensen. Maar ik begin met iets dat met voeding te maken heeft, nu we het daar over hebben. Ron sprak over wat ik vorig jaar vertelde, dat er een verband is tussen chocolade en Nobelprijzen. Als je genoeg chocolade eet, dan krijg je een Nobelprijs. Zweden en Zwitserland doen het heel goed in de statistieken hierover. Maar dit jaar wil ik iets anders vertellen. Misschien houdt het verband, misschien niet, met briljant en verstandig zijn. Misschien met dom worden als je bepaalde gerechten eet. Ik laat je kennis maken met een Zweedse traditie, ik hou er zelf niet zo van, maar ik weet dat er mensen zijn die dat goedje willen eten. Ik plaats het in de context van de complexiteit van de biologie, waar we naar gaan kijken. Het zijn eigenlijk kleine schaaltes van de analyten en moleculen die we gaan aanpakken. We noemen het een Zweeds smörgåsbord, een reeks kleine gerechtjes die we volgens de traditie op tafel hebben. Het gerecht dat ik wil voorstellen heet surströmming, het is iets heel vreemds, ik kan je niet aanbevelen het te testen. Een kleine video hierover, als dit werkt. Stem video: 'Ze zeggen dat, als je een blik surströmming opent, het een van 's werelds slechtste geuren is. Doe het dan niet! Hemeltjelijf. [Titel video: Amerikanen proeven voor het eerst surströmming] [Psst] Het is rioolwater in een blik. Ik moet kokhalzen, ik moet echt... Om niet te veel tijd te verliezen, raad ik je aan om de video op YouTube te bekijken. Maar het is een heel grappige manier om traditioneel Zweeds voedsel te beschrijven. Na het bekijken van de video, zal je dit gerecht willen gaan kopen, denk ik. Er zijn dus dingen die problemen geven. We hebben dus zaken in onze nabije omgeving en ook rondom ons die neurotransmitters verstoren en moleculen met een immunreactie, die maken dat het gevoelige evenwicht tussen het immuunsysteem en het centraal zenuwstelsel ontregelen. Slecht dieet, surströmming bv., of giftige eetwaren waar we soms mee in aanraking komen, overprikkeling van de zintuigen, darmstoornissen, genetica uiteraard, chronische, externe stress, gifstoffen in het milieu enzovoort. Het komt allemaal samen en maakt een situatie heel complex om te bestuderen. Deze drukke dia, jammer genoeg, ik wou enkel voorbeelden geven van wat kan gebeuren tussen het centraal zenuwstelsel en het immuunsysteem. Bovenaan zie je centrale stressoren, die het zenuwstelsel direct beïnvloeden. Dit kan fysieke stress zijn, psychologische of immunologische stress, of infecties bijvoorbeeld. Je ziet dat het brein op verschillende

manieren reageert. Het begint neurotransmitters te produceren die zich dan kunnen verplaatsen en een neerwaartse regulering van het immuunsysteem kunnen veroorzaken of soms een opwaartse regulering van het immuunsysteem. Ze verplaatsen zich ook naar het autonome zenuwstelsel en controleren bijvoorbeeld onze darmfunctie, de motiliteit, afscheidingen in onze darmen. En dat komt, samen met de omgevings- stressoren, infectie of inflammatie, bijeen met de immuuncelregulering. En het wordt een heel complexe situatie waar inflammatie, motiliteit, secretie, besturingsmechanismen in het centrale zenuwstelsel, beïnvloed worden. Om het nog ingewikkelder te maken, vele jaren geleden ontdekten we in ons werk dat klassieke neurotransmitters, catecholamines, ook belangrijke immuunregulerende molecules waren. Dopamine bijvoorbeeld, kan het immuunsysteem reguleren. Deze kleine tekening hier toont je wat er kan gebeuren. Als we normale niveaus van catecholamines hebben, immuuncellen - dit is een T-cel, zo zijn ze heel mooi gereguleerd. Ze verspreiden zich en differentiëren, zoals het hoort. Maar als we verhoogde catecholamines hebben in het gebied, zal dit de verspreiding en de differentiatie beïnvloeden en ook apoptose veroorzaken, wat geprogrammeerde celdood is, in het immuunsysteem. En er zijn niet alleen externe, maar ook interne catecholamines. De lymfocyten kunnen hun eigen catecholamines aanmaken en ze hebben receptoren voor deze molecules. Ze hebben ook transporters, zodat ze deze molecules ook kunnen transporteren naar de celkern, wat dan een mogelijke manier tot actie is. Hoe kunnen we al deze molecules dan meten in een poging om het systeem te begrijpen? Het is niet alledaags. Door verschillende doelwitten te selecteren, als we kiezen voor een genetische analyse, benaderen we groepen als die van Ron, die ervaren genetici zijn. Als we kiezen voor proteïnen, doen we wat proteomica wordt genoemd. We meten met massaspectrometrie - ik vertel je hoe - deze complexe proteïnemengsels die we in een systeem hebben. Of als we kiezen voor kleine metabolieten, dan noemen we het metabolomica. We gebruiken in mijn lab vele soorten massaspectrometers. Dat zijn heel dure weegschalen in een zin, die een gevoelige concentratie van alle soorten molecules kunnen meten en de precieze structuur kunnen weergeven, hoeveel molecules er zich in een complex moleculair staal bevinden. Eens je de massaspectrometrie hebt, heb je nog niet alles opgelost. Je moet ook de molecules op een precieze manier aanbieden aan de instrumenten. Je moet bijvoorbeeld geselecteerde stalen lichaamsvochten hebben, die we in het instrument kunnen infuseren, met een techniek, electrospray-ionisatie genoemd. Of we kunnen kleine druppeltjes staal aanbieden op een vaste ondergrond om laserablatie uit te voeren. Of we kunnen weefsels

direct aanbieden aan het instrument, als we een materieel weefsel hebben dat we kunnen meten. En we zijn vrij gevoelig bij het uitvoeren van de analyse, dat is de sleutel. We willen zaken heel accuraat meten, met een heel hoge sensitiviteit. Ik heb een kleine berekening gemaakt voor jou, enkel om te begrijpen wat we bedoelen met sensitiviteit. Laten we zeggen dat je één klontje suiker neemt en dat in een kop koffie doet. Meng het zorgvuldig en je krijgt in die kop koffie een concentratie suiker van ongeveer 0,03 molair, mol per liter. Je herinnert je allen nog wel het getal van Avogadro, uit de les. Indien niet, dit is het. Dus 1 molair = 1 mol per liter en dat is 6×10^{23} molecules per liter. Dan nemen we die kop koffie en brengen het naar ons Olympisch zwembad hier naast en we gieten die kop koffie in dat zwembad. En dan mengen we dat heel zorgvuldig. Het kan een tijdje duren om dat zorgvuldig te mengen in dat grote volume, en dan hebben we 1 nanomolair concentratie in dat zwembad. Dan nemen we nog een kopje en scheppen wat water van het zwembad en gieten dat in een tweede zwembad en mengen dat heel zorgvuldig. Dan nemen we een staal ervan en bekomen we een concentratie van ca 10 femtomolair. Dus 10×10^{-15} mol per liter. En dat is de sensitiviteit die we aankunnen. We kunnen dus meten hoeveel suiker er zit in dat tweede zwembad. Jammer genoeg is er een probleem met zwembaden, want zoals je weet, zit er niet enkel water en suiker in een zwembad. Een zwembad voor kinderen, vreselijk! We hebben dus problemen dat we altijd met een matrix te doen hebben. We moeten een gevecht aangaan met de achtergrond. Denk daarom, de volgende keer dat je naar een zwembad gaat, of net niet. We doen ook andere zaken. We gebruiken niet alleen massaspectrometers. We gebruiken gerichte proteomica, wanneer we weten waar we naar zoeken. We gaan dus niet doorlichten, we gaan enkel zaken met een heel precieze methodiek meten. We hebben veel verschillende manieren gebruikt, maar ik zal je kort vertellen over deze proximity-uitbreidingstest. Kijk naar het onderste deel hier. Wat je hier doet: je hebt 2 bindmiddelen, die de molecule van belang kunnen detecteren, een proteïne bijvoorbeeld. Als deze 2 bindmiddelen dicht bijeenkomen, hebben ze enkelstrengig DNA, aan hen gebonden, zoals je hier ziet. En die kunnen een verbinding aangaan, en die verbinding kan vermeerderd worden met PCR (polymeraseketenreactie). Deze connector wordt ontwikkeld door Olink, een bedrijf in Uppsala, en dat gebruiken wij. We hebben dat gebruikt in een aantal studies waar we ook ME/CVS-patiënten bijgevoegd hebben. Ik vermeldde dit verleden jaar. Nu hebben we de conclusies uit data voor de eerste Zweedse populatie van ME/CVS. Het unieke is dat we zowel ruggenmergvocht - het lichaamsvocht van belang voor mij - als plasma van deze

patiënten hebben. We vergelijken ze ook met fibromyalgie- patiënten. We hebben CVS en gezonde, afgestemde controlepersonen. We zijn heel nauwkeurig geweest bij de selectie van het materiaal, om zeker te zijn dat we conclusies kunnen trekken. Dat is heel belangrijk, vooral bij kleine populaties. We draaien selectief neuroinflammatoire merkers. In de eerste set 92 ervan. Enkel de conclusie van wat we vonden: in het ruggenmergvocht vinden we beduidend verrijkte moleculen die ons vertellen dat patiënten met fibromyalgie en ME/CVS, een aanhoudende neuroinflammatoire reactie hebben die we kunnen meten. Plasmastalen, bloedstalen, brachten niet veel aan het licht eigenlijk. Een beetje teleurstellend voor ons. Het zou veel eenvoudiger zijn als we dit in bloed konden meten, dat is jammer genoeg nog niet het geval. We volgen dit nu op met een tweede studie om onze eerste bevindingen te valideren maar ook om te zien wat we nog kunnen doen. We hebben nu een kleine groep toegevoegd van verscheidene, streng geselecteerde patiënten. We hebben ME/CVS-patiënten, daartegenover onze MS-patiëntengroep en afgestemde controles. Onze focus ligt enkel bij ruggenmergvocht. Van elk 7, is een heel laag aantal, maar dit gaan we doen. We gaan ze onderwerpen aan een totaal nieuwe set testen, die voordien nog niet getest zijn voor ruggenmergvocht. We hebben het geluk om hiervoor samen te werken met Olink. Ongeveer 1200 verschillende merkers zullen hiervoor worden gekozen. Gebaseerd op de eerste twee testsets, waar we net data van hebben, hebben we nu al 36 beduidend verschillende proteïnes in het ruggenmergvocht dat we bij ME/CVS-patiënten kunnen vinden. Dit moet uiteraard gevalideerd worden en bij grotere aantallen. We zien ook zowel gelijkenissen als verschillen tussen MS en ME, wat, denk ik, heel belangrijk is om dit te begrijpen. De proteïnen die we in eerste instantie vonden, zijn in lijn met wat we vroeger vonden, wat heel goed is. We vinden neuroinflammatie, celschade en herstelsystemen actief bij deze patiënten, wat natuurlijk van groot belang is. Ten tweede doen we gerichte steroïdomica. We kijken naar moleculen van de familie van steroïden. Steroïden zijn belangrijk bij de besturing van verschillende zaken in het lichaam. B.v. voor reproductie en endocrinologie, rijping van verschillende cellen, genexpressie, neurologische functies enz. We gebruiken steroïden[analyse] bij de klassieke endocrinologische opsporing van veel ziekten, maar het punt is dat bij vele studies er maar één of twee markers gemeten worden op één punt. Maar nu hebben we de mogelijkheid een volledige screening te doen, steroïdonomica of steroïdehormoonanalyse. We kunnen de gehele biochemische signaal- paden meten met onze techniek. Wat we in deze eerste stap gedaan hebben - dit is ook ondersteund door het OMF

en een Zweedse patiëntenorganisatie - is de selectie van 24 patiënten, 24 afgestemde controles, en dan hebben we een diepgaande screening gedaan van alle steroïden. We zullen je nu een kort idee geven van de manier waarop het is gedaan. We kunnen het nu in plasma doen, we hebben geen ruggenmergvocht nodig. We kunnen de derivatisatie doen en dan een scheiding in hoge resolutie, met een techniek genoemd superkritische vloeistofchromatografie en daarna een massaspectrometrie in hoge resolutie om te meten wat we hebben. Wat we vonden, zijn misschien geen dramatische wijzigingen, maar wijzigingen waarvan ik denk dat ze relevant zijn bij de discussie van wat er aan de hand is bij de patiëntengroep. Terwijl ik een algemene neerwaartse regulering heb van vele steroïden, is de enige die er als significant uitkwam, pregnenolone. Ik zal je tonen wat dat kan beduiden. Pregnenolone is de sleutelsteroïde in het biochemisch signaalpad. Het is in feite de voorloper van de overige steroïdenprofielen. Ik heb er ook die blauwe pijlen gezet in het biochemisch signaalpad hier. Al de enzymatische wegen die ik hier aanduidde, bevinden zich op een specifiek organel. Kan iemand raden op welk organel? Mitochondria. Dus pregnenolone is een van de neurotransmitters, neurosteroïden, die we in zeer hoge concentratie hebben in de hersenen. Het regelt, samen met het sulfaatproduct, de synaptische functie, neuroprotectieve functies en het vermeerderd de myelinisatie. Het kan ook, samen met zijn sulfaatester, cognitieve en geheugenfuncties verbeteren. We hebben dus een echte neurale verlaging van pregnenolone, dat we in verband kunnen brengen met sommige symptomen en het wordt aangemaakt in de mitochondria. Zaken beginnen hier dus op een mooie manier verbonden te worden. Tenslotte, wat met auto-immuniteit? Auto-immuniteit is iets waar we al een tijdje mee werken nu. Dat is wanneer het lichaam reageert met immunoreactie tegen iets van zichzelf, zoals een proteïne of een doelwit van het lichaam. MS is een voorbeeld van een auto-immuunziekte. Er zijn veel verschillende auto-immuunziekten, ca 80 chronische ontstekingsziekten. De prevalentie in de VS is tot 8 procent. Het komt meer voor bij vrouwen dan mannen en bij vrouwen is het inderdaad de vierde grootste ziekteklasse. Bij ME/CVS-patiënten zijn er studies gebeurd en er zijn er nog aan de gang, ook bij andere groepen. Ik begon met contact te zoeken met een groep in Berlijn, geleid door Carmen Scheibenbogen. Zij had in 2015 bij subgroepen van haar ME/CVS-patiënten een opwaartse regulering gevonden van auto-antilichamen tegen muscarinerge en Beta-2 adrenergereceptoren wat ik heel interessant vond. We vroegen haar om hulp en we selecteerden ook een breder testpaneel voor auto-immunoreactie voor onze studies en voor onze Zweedse patiënten om adrenergereceptoren of antilichamen ertegen te

bekijken en ook tegen de muscarinergereceptoren hier. De biologische functie van adrenerge- en muscarinergereceptoren hebben ook een verband met de symptomen, die we bij de patiënten zien. Dit was het studie-ontwerp: we namen 48 patiënten met afgestemde controles. We namen zowel ruggenmergvocht af als plasma. We konden niet enkel de bevindingen van Carmen Scheibenbogen bevestigen en valideren maar ook onze eigen voorlopige data. We hebben dus een significante opwaartse regulering van auto-antilichamen tegen de adrenergereceptoren, zoals je hier ziet, en ook tegen enkele muscarinergereceptoren. Dit is een logaritmische schaalgrafiek hier. Zoals je ziet hebben we verschillen tussen gezonde controles en patiënten, maar we hebben een grote biologische spreiding, wat te verwachten is. Iedereen kan drager zijn van een van die auto-antilichamen en nog geen symptomen hebben maar ze zijn beduidend hoger bij patiënten in dit geval, bij sommige ervan. Nog vooruit, ja. Wat we ook vonden: in het ruggenmergvocht waren er geen auto-antilichamen voor adrenerge- en muscarinergereceptoren, dat is positief, zou ik zeggen. We hebben de bevindingen dus gevalideerd, hier een samenvatting: significante verhoging bij patiënten. We hebben dit nu waargenomen in 2 aparte studies in Zweden, er zijn ook geen detecteerbare niveaus van auto-antilichamen in ons ruggenmergvocht, wat goed is. Nog iets dat niet volledig verband houdt met ME/CVS maar iets dat mij tenminste ideeën geeft waarnaar op zoek te gaan. We hebben net een studie gepubliceerd, samen met veel collega's in Uppsala, waar we gekeken hebben naar acuut slaap- gebrek in een experimentele opstelling, die ik je zal beschrijven en de opmerkelijke verandering die je vaak kan zien reeds na 24 u van slaaponthouding. Kort de studie-opstelling: we hebben jonge, mannelijke, gezonde personen, studenten, natuurlijk. We selecteerden er 15 uit en we vroegen hen gedurende 12 u niet te slapen wanneer ze verondersteld waren dat te doen. We namen stalen af van bloed en vetweefsel, en spierbiopten en we doen een screening van alle soorten molecules. Om samen te vatten: wat we vonden is een dramatische wijziging in genen, vooral die genen die ons dagelijks of circadiaans ritme reguleren en we vinden ook afbraak van spierweefsel en een opwaartse regulering van vetweefsel. Wat betekent dit? Wel, na slechts 12 uur slaaponthouding, slaapverstoring, hebben we al verschijnselen aan de gang in het lichaam. Ik weet dat patiënten veel moeilijkheden hebben met hun slaap, dit heeft dus een betekenis. Ik wil dit opvolgen en kijken welke soort metabolische, proteomica en misschien genetische veranderingen we kunnen zien. Tot besluit: we hebben significant verhoogde niveaus van inflammatiemarkers vastgesteld vooral in ruggenmergvocht, wat mijn doelwit is;

verstoorde aanmaak van steroïden bij patiënten, wat verband kan houden met een verstoring in de mitochondria; significant verhoogde niveaus van die auto-antilichamen; en slaaphygiëne is heel belangrijk. Dat brengt mij naar mijn laatste slide. Ik had het geluk deze zomer twee weken door te brengen op een lange-afstandsrace tall schip. We konden ca 3 uur ononderbroken slapen gedurende twee weken, wat je moe en duizelig maakt, dat kan ik je vertellen. Ik denk niet dat we veel vet bij kregen. Wellicht omdat het voedsel aan boord niet het beste was. Maar we hadden ook heel zwaar weer. We hadden 8 à 9 beaufort in deze race, het was dus een fantastische expeditie. Ze werden tweede in de race met het schip op het einde van de race. Daarmee zou ik willen vermelden wat Lord Kelvin eens zei: als je geconfronteerd wordt met moeilijkheden, sta je voor een ontdekking. Dat is het punt waar we nu staan in dit terrein. Ik kijk er echt naar uit om te volgen wat er gebeurt bij andere onderzoeksgroepen ter wereld die hierop focussen. Heel erg bedankt aan Ron, Rons familie, om dit te organiseren, aan Linda en familie en al hun betrokkenheid in dit onderzoeksterrein. Ook aan de OMF, natuurlijk, en aan onze Zweedse patiëntenorganisatie, collega's overal ter wereld en uiteraard aan de patiënten en gezonde controles die vrijwillig stalen afstonden voor dit onderzoek. Heel erg bedankt. Tack så mycket.