

Status for aktuelle projektor på Forskningslaboratorium for Stereologi og Neurovidenskab, Bispebjerg Hospital

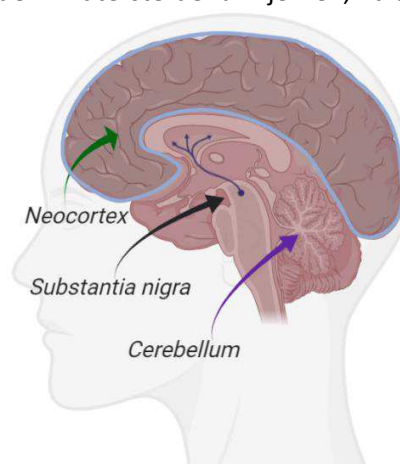
af Jonas Folke og Bente Pakkenberg

Forskningslaboratorium for Stereologi og Neurovidenskab (NLAB) er en mindre forskningsafdeling, der beskæftiger sig fuld tid med videnskabeligt arbejde primært inden for hjerneforskning. NLAB består af en stereologisk enhed som dagligt ledes af professor Bente Pakkenberg og en molekylærbiologisk enhed ledet af seniorforsker Susana Aznar. I kombination dækker laboratoriet over en bred ekspertise inden for forskning i hjernens struktur og funktion, herunder ekspertise om patologiske forandringer i hjernen, biomarkører, neurogenetik og epidemiologi. I mange år har laboratoriet fokuseret på hjernesygdomme som Parkinsons sygdom (PD) og Alzheimers sygdom (AS). Siden 2010 har laboratoriet fokuseret meget på atypiske parkinsonistiske bevægelsesygdomme såsom multipel system atrofi (MSA), progressiv supranukleær parese (PSP) og Lewy body demens (LBD). NLAB arbejder primært sammen med læger og sygeplejersker på daghospitalet på neurologisk afdeling på Bispebjerg Hospital. Laboratoriets forskning er primært finansieret af private fonde og private donorer.

Tematisk forskning i MSA på NLAB

Strukturelle forandringer i hjernen

NLAB er verdens førende forskningslaboratorie i neurostereologi og har publiceret over 150 videnskabelige artikler inden for denne disciplin. Stereologi er en metode hvormed man, ved hjælp af matematisk-statistiske metoder, kan bestemme tredimensionelle strukturer ved at tæller på tynde hjernesnit igennem strukturen. Med denne metode kan man uhyre præcist estimere antallet af celler, samt volumen af små og store områder i hjernen. Over de seneste 10 år har NLAB undersøgt adskillige områder i hjernen hos patienter med MSA. Ved studier af hjerner, venligst doneret af patienter før deres død, har vi blandt andet undersøgt antallet af forskellige hjerneceller i forskellige områder af hjernen. MSA-patienter har en stærk nedsat funktion af motorikken. Disse nedsatte funktioner har som i PD sit ophav i forandringer i den midterste del af hjernen, kaldet basalganglierne. Vigtigst i denne er den sorte substans kaldet substantia nigra (se billede), hvor alle dopaminceller udløber fra. Ved at sammenligne MSA hjerner med kontrolhjerner fandt vi et markant fald af nerveceller på 55 % i substantia nigra og i de lidt øvre dele af basalganglierne. Omvendt observerede vi en kraftig forøgelse i antallet af mikroglia celler (104-222 %). Mikroglia er hjernens immunceller og repræsenterer immunforsvaret i hjernen. Denne forøgelse bevidner en kraftig aktivering af immunsystemet i hjernen. Hvorvidt denne immunaktivering er beskyttende eller ødelæggende, vides ikke. Disse studier ledte os ind på at



studere andre områder i hjernen. Først undersøgte vi hjernebarken, kaldt neocortex (se billede), i hjernes fire store underinddelinger: pandelappen, tindingelappen, isselappen og synslappen. Der viste sig det samme billede som i basalganglierne: et samlet nervecelletab på 19% og en forøgelse af mikroglia på 155%. Værre stod det til i hjernens hvide substans som ligger ned under neocortex og rummer alle de fibre der forbinder hjernens forskellige områder med hinanden. Her observerede vi et nervecelletab på 45 % og mikroglia forøgelse på 215 % hos MSA-patienter. MSA-patienter er ofte opdelt i MSA-P eller MSA-C på baggrund af deres symptomer. MSA-P er karakteriseret ved primært parkinsonistiske (P) symptomer, hvor MSA-C er karakteriseret ved primært cerebellare (C) symptomer. Cerebellum kaldes også lillehjernen og ligger under storhjernen (se billede). Den styrer vores balance og koordination af kroppens bevægelser. Vi undersøgte cerebellare forandringer i MSA-P og MSA-C patienter sammenlignet med PD patienter og kontroller. Der fandt vi, at kun MSA-C havde et nervecelletab i cerebellum på 50 %. Der er altså også specifikke strukturelle forandringer imellem subtyperne af MSA. Disse studier viser alt i alt, at der sker store forandringer i celletallet i hjernen hos MSA-patienter sammenlignet med kontroller. Et anseeligt antal neuroner går til grunde, og der sker en væsentlig forøgelse af immuncellerne.

Patologiske forandringer i hjernen

Ved hjælp af avancerede gen-metoder, kan man måle hvor meget af et specifikt gen bliver "udtrykt". Når et gen bliver udtrykt, bliver det omdannet til et protein, som spiller en unik rolle i cellen. I MSA såvel som i PD ved vi, at et protein kaldet alfa-synuclein (α Syn) ophober sig i støtteceller (oligodendrocytter) i MSA og i nerveceller i PD og det formodes at dette protein er primus motor i årsagen til sygdommene. Derfor er det vigtigt at kortlægge, hvordan det bliver udtrykt i MSA og PD. Vi undersøgte α Syn i centrale områder i hjernen såsom substantia nigra, cerebellum og andre områder i basalganglierne. I MSA fandt vi at genudtrykket for α Syn var forøget i alle områder af både basalganglierne og cerebellum. Dette kunne også ses i proteinniveauerne, hvor α Syn var forøget i høj grad, og i PD i moderat grad. Altså ser det ud til, at de patologiske forandringer mht. α Syn er større i MSA end i PD. Denne ophobning har adskillige konsekvenser. Det seneste årti er α Syn blevet forbundet med dysfunktioner i immunsystemet. Altså kan denne ophobning have direkte indflydelse på immunsystemet i hjernen såvel som i kroppen. Vi undersøgte dernæst forandringer i immunsystemet i hjernen hos afdøde MSA og PD-patienter. Det første vi undersøgte, var genudtrykket for nogle specifikke gener kaldt "Toll-lignende receptorer". Disse gener genkender udefrakommende bakterier samt strukturer som dannes ved proteinophobninger. Herefter begynder en kaskade i immunsystemet – altså; aktivering af Toll-lignende receptorer skaber en betændelsestilstand (inflammatorisk tilstand). I MSA så vi adskillige gener for disse receptorer var forøget i både substantia nigra, cerebellum og pandelappen. Dette kan være med til forklare, hvorfor man hos MSA-patienter ser en øget inflammation. Yderligere, i et andet studie, så vi at der var en tilstedeværelse af immunceller (T-celler) i hjernen, der normalt befinder sig i blodet. Disse celler har altså infiltreret sig ind i hjernen hos patienter med MSA og PD. Dette styrker vores hypotese om at immunsystemet i hjernen kalder efter hjælp hos immuncellerne i blodet, som da får lov til at komme ind i hjernen. Dette er normalt ikke muligt. I samarbejde med forskere i Frankrig

undersøgte vi videre om hvilke ændringer, der befinder sig på genomet i MSA-patienter. Der fandt vi yderligere at proteinet AREL1 var forøget. Der vides ikke meget om dette protein, dog vides det at det medvirker til at immunceller bliver aktive. I en ny gruppe prøver fra levende MSA-patienter undersøgte vi de celler, som aktiveres af AREL1. Vi fandt et skifte til en forøget aktivering i immuncellerne i blodet. Samlet tyder disse resultater på at α Syn ophobes i hjernen hos patienter med MSA, som på en endnu ukendt måde aktiverer immunsystemet i hjernen, der efterfølgende sender signaler til resten af kroppen, som da sender ekstra immunceller til hjernen. Endnu vides det ikke om denne aktivering af immunsystemet er af ringe eller god karakter. For at svare på om en aktivering af immunforsvaret i lang tid har en negativ konsekvens for udviklingen af MSA og PD, har vi i samarbejde med Parker Institutet på Frederiksberg Hospital undersøgt, om der er en sammenhæng mellem kroniske betændelsessygdomme i kroppen og udviklingen af MSA og PD. Ud af 76.477 patienter med inflammatorisk tarmsygdom og en kontrolgruppe på 7.548.259 personer, så vi at patienter med kronisk betændelsestilstand havde en 22% forøget risiko for at udvikle PD og 41% forøget risiko for at udvikle MSA (dog var forøgelsen i MSA ikke signifikant, da der ikke var nok MSA-patienter til at komme til en konklusion). Samlet set tyder det på, at de betændelsestilstande, vi ser i hjernen hos patienter med MSA og PD, har en negativ virkning.

Translational forskning og biomarkører

Translational forskning betegner en gren af videnskaben som beskæftiger sig med "laboratoriebank-til-seng" princippet. Man undersøger ting i blodet og spinalvæsken som enten kan hjælpe til behandling, forstå sygdommen eller/og bruges til at diagnosticere sygdommen. Ud fra prøver fra en tidligere stor biobank på neurologisk afdeling og nye indsamlede prøver har vi undersøgt blandt andet hvordan immunsystemet genkender og oprydder proteinet α Syn, samt status på immunsystemet over tid. Immunsystemet genkender ikke blot udefrakommende bakterier og vira. Faktisk genkender 2/3 af alle immunstoffer proteiner og celler i kroppen og er dermed med til at rydde op. Disse immunstoffer (antistoffer) kaldes også kroppens skraldemænd. Vi har i patienter med MSA og PD observeret, at de skraldemænd som normalt genkender α Syn og rydder ophobende mængder op, ikke blot strejker, men de som bliver på arbejde, arbejder med halv styrke. Dette så vi både i blodet og i spinalvæsken hos patienter med både MSA og PD. Dette kunne tyde på at immunsystemet ikke er i stand til at genkende α Syn og rydde det op – hvilket igen resulterer i at proteinet begynder at hobe sig op. Disse skraldemænd/antistoffer produceres af nogle specifikke celler kaldet B-celler. I et igangværende studie har vi set på B-celler over tid i MSA og PD-patienter. Vi målte B-celler over en etårig periode i MSA og PD-patienter. Vi fandt at B-cellerne, som normalt producerer beskyttende skraldemænd/antistoffer, er faldende over tid. Dermed kan det formodes, at det "gode" immunsystem er faldende i MSA og PD, hvorimod det "dårlige" immunsystem aktiveres over tid. Ved disse målinger kunne vi samtidig skelne sygdommene relativt godt, hvilket vil sige at sygdomsmekanismene, til trods for de ligheder der er mellem MSA og PD, er forskellige. For at undersøge specifikke forandringer og mulige nye behandlinger har vi for nylig lavet en MSA musemodel. Disse mus har "overudtrykt" proteinet α Syn i støttecellerne (oligodendrocytterne), hvilket er de samme celler, hvor man ser ophobninger i hjernen hos MSA-patienter. Disse mus har

lignende ophobninger i oligodendroglia-cellerne og udviser også bevægelses symptomer i form af balancebesvær og mindre muskelstyrke. Disse mus bruges til igangværende og fremtidige studier af MSA.

Bispebjerg Hjernebank

Laboratoriet rummer en hjernebank, der går tilbage til 1930'erne. Hjernebankerne, der blev indsamlet frem til 2010, kom alle i formalin. Fra 2010 og fremover kommer den ene hjernehalvdel i formalin, og den anden på minus 80 grader frys. Det frosne hjernevæv kan nu bruges til de mange molekylærbiologiske projekter, som laboratoriet kører. Hjernebanken rummer hjernevæv fra mange forskellige sygdomme i centralnervesystemet samt mange kontrolhjerner. De seneste år har vi specielt fokuseret på projekter, der arbejder med MSA og Parkinsonhjerner. Ved undersøgelse af postmortem hjernevæv kan vi give den afgørende diagnose for neurodegenerative hjernesygdomme samt undersøge for patologiske forandringer, skabt af sygdom. På baggrund af vores mange undersøgelser kan vi antage, at de kliniske symptomer, som patienterne oplever, blandt andet skyldes strukturelle ændringer i hjernen hos patienterne.

Bispebjerg Neurobiobank

I 2017 oprettede vi i samarbejde med neurologisk afdeling den ny Bispebjerg Neurobiobank på Bispebjerg Hospital. Her indsamler vi oplysninger og biologisk materiale til videnskabelige undersøgelser i forskellige neurologiske lidelser med hovedfokus på bevægelses sygdomme. Patienter og pårørende, som ønsker at deltage, vil blive bedt om en blodprøve, spinalvæskeprøve eller en anden vævsprøve. Normalt tages disse i forbindelse med rutineundersøgelser, som patienten i forvejen er indkaldt til på neurologisk afdeling. Alle forskningsprojekter skal derefter godkendes af Videnskabsetisk Komité. Siden 2017 har vi indsamlet omkring 200 prøver og klinisk materiale.

Igangværende projekter

Af igangværende projekter er vi i færd med at undersøge de immunceller som genkender α Syn. Postdoc Jonas Folke er på vej til Tyskland for at undersøge disse i et større internationalt samarbejde. Seniorforsker Tomasz Brudek arbejder på samme projekt og har udvidet til også at undersøge B-celler i patienter med bevægelses sygdommen Amyotrofisk Lateral Sklerose. Ydermere har vi oprettet samarbejde med demens klinikken på Rigshospitalet for at undersøge potentielle forskelligheder mellem bevægelses sygdomme og demens sygdomme. I et stort projekt i samarbejde med Novo Nordisk Protein Center, er postdoc Rasmus Rydbirk på nuværende tidspunkt i færd med at undersøge den samlede mængde proteiner i hjernen og i spinalvæsken hos patienter med MSA, PD og Lewy Body Demens. I den nyoprettede MSA-musemodel er Susana Aznar og specialestuderende Anne-Line Laursen, i færd med at undersøge immunsystemets rolle i udviklingen af MSA. Bente

Pakkenberg og Postdoc Mikkil Olesen er videre i deres arbejde med at undersøge strukturelle forandringer i centrale områder i hjernen hos patienter med MSA.

En særlig tak

Vi vil gerne rette en særlig tak til MSA foreningen og de mange patienter og pårørende som gennem årene støtter vores forskning enten økonomisk eller ved at afgive ekstra prøver til forskning. Uden den støtte ville vi være ude af stand til at opnå de mange resultater, som laboratoriet har opnået over de seneste år. Vi ved, at hjernedonation er en dyrebar gave, der kræver overvejelser. Vi gør vores yderste for at opnå så gode resultater som muligt og fremme forskningen i disse sjældne sygdomme, som typisk ikke får så stor opmærksomhed. Uden forskning ingen fremskridt. Al jeres støtte er med til at få os til at arbejde endnu mere koncentreret på at opnå resultater, der en dag kan føre til behandling af MSA-patienter eller forbedre den nuværende behandling af Parkinson patienter.