



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Progression of multiple sclerosis

The role of microglia and neurons

van den Bosch, A.M.R.

Publication date

2024

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

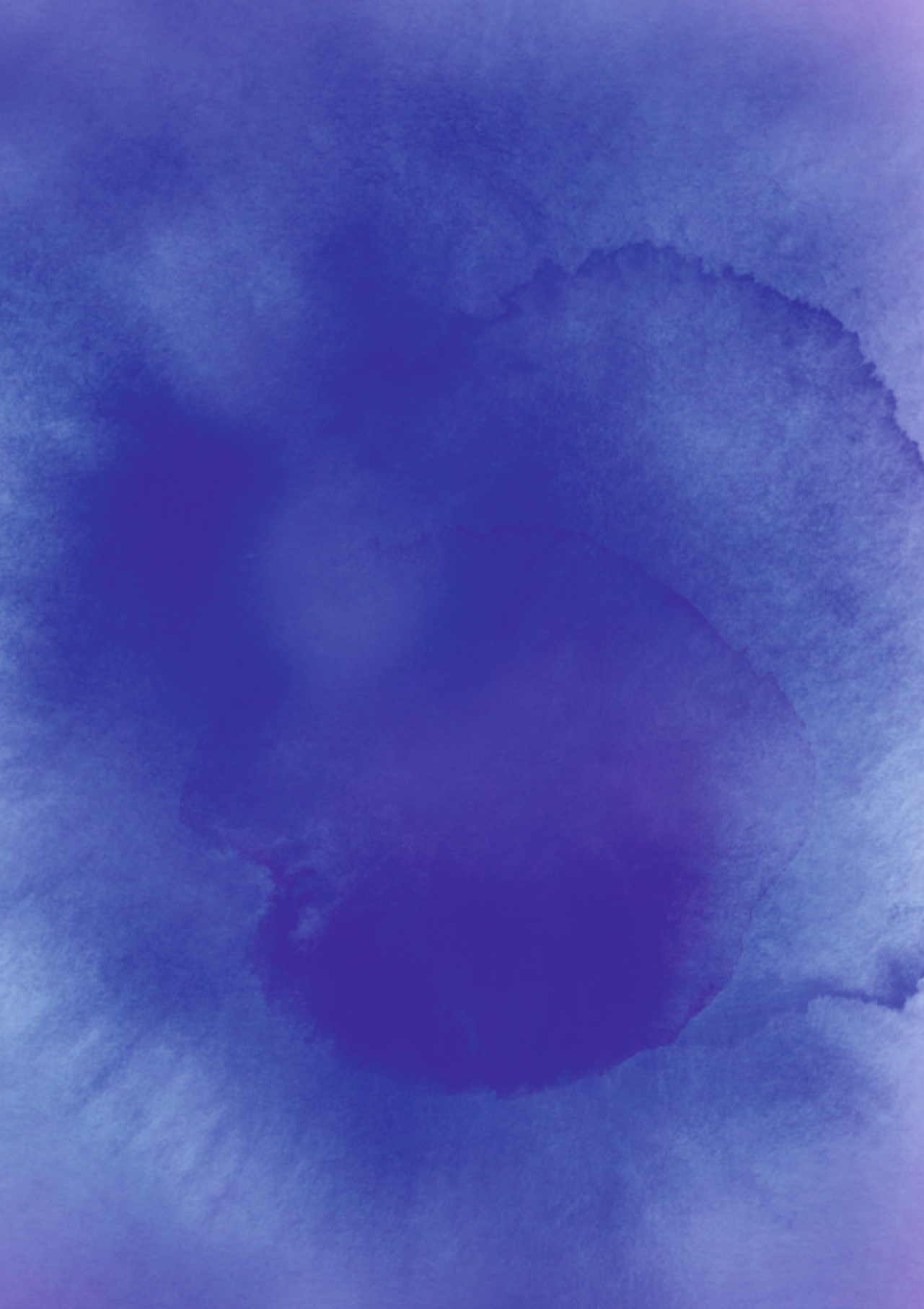
van den Bosch, A. M. R. (2024). *Progression of multiple sclerosis: The role of microglia and neurons*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.



CHAPTER 11

Appendices

ENGLISH SUMMARY

PROGRESSION OF MULTIPLE SCLEROSIS: THE ROLE OF MICROGLIA AND NEURONS

Multiple sclerosis (MS) is a neuroinflammatory disorder, in which focal, demyelinating lesions occur throughout the central nervous system (CNS). Due to a lack of comprehensive understanding of the molecular mechanisms of lesion formation and lesion progression, there is a lack of effective biomarkers to track disease progression. This is an unmet clinical need for therapeutics that halt or reverse disease progression. This thesis aims to elucidate pathological mechanisms driving MS progression, with a particular focus on the roles of microglia and neurons. In **part 1**, we focus on lesion formation. As new lesions arise from the normal-appearing tissue, we investigate changes that occur in this seemingly normal tissue prior to apparent lesion formation. By understanding these early changes, we aim to identify triggers that initiate the development of new lesions and to identify molecular pathways that are associated with lesion formation. In **part 2**, we focus on pathological heterogeneity and lesion dynamics. We compare mixed lesions with ramified microglia to mixed lesions with foamy microglia, to unravel molecular pathways involved in lesion expansion and failure of remyelination. In **part 3**, we focus on genetic susceptibility for disease progression. We compare MS relevant pathology of homozygous carriers for the risk single nucleotide polymorphism (SNP) rs10191329 with homozygous non-risk carriers, to biologically validate the SNP and to elucidate mechanisms driving disease progression.

Part 1: Loss of microglia homeostasis can lead to initiation of lesion formation

CD200 and CD47 are checkpoint molecules expressed by neurons and oligodendrocytes that keep microglia in a homeostatic state. In **chapter 2**, we show that CD200 expression compared to control grey matter (GM) was lower in normal-appearing GM (NAGM) in MS, and that CD200 and CD47 expression was lower in peri-lesion grey matter and in grey matter lesions. Downregulation could imply that the microglia are less inhibited and more prone to become reactive. Thus, CD200 may play a role in lesion formation, whereas both CD200 and CD47 may play a role in lesion expansion. We then correlated CD200 expression with pathology throughout the CNS. CD200 was negatively correlated with cortical lesion rate and with the proportion of active and mixed active/inactive lesions, and positively correlated with the proportion of inactive lesions. Together, this suggests that CD200 is indeed associated with lesion formation as well as with the ongoing demyelinating activity of lesions.

In **chapter 3**, we characterized the axon-myelin unit in normal-appearing white matter (NAWM) on the ultrastructural level. We found that the paranodes and juxtaparanodes were elongated in MS NAWM compared to control white matter (WM), and that these regions were overlapping. With electron microscopy, we show that the myelin was wrapped less compact. Together, this may result in a higher axonal energy demand to generate axon potentials. Indeed, we show that the axonal mitochondria density was higher in NAWM compared to control WM. This can lead to pathological production of reactive oxygen species (ROS). This ROS can oxidize myelin, which may contribute to initiation of demyelination. As the ultrastructural alterations were correlated to the density of activated or phagocytic microglia and to the density of activated T cells, it is likely that local inflammation contributes to these early alterations to the axon-myelin unit.

In **chapter 4**, we identified mechanisms of lesion formation by profiling microglia nodules in the (NA)WM in MS and stroke. We show that microglia nodules in MS had a similar gene expression as actively demyelinating MS lesions. Microglia nodules in MS compared to in stroke more often resided in an inflammatory environment, as they were in close contact with activated T cells and immunoglobulin producing B cells. Microglia nodules in MS were associated with early demyelination, as 1) they had often phagocytosed oxidized phospholipids, 2) their gene expression indicated that they are involved in lipid metabolism, and 3) some microglia nodules encapsulated partially demyelinated axons. Co-stimulation of microglia nodules in MS by oxidized phospholipids and either proinflammatory cytokines or immunoglobulin may result in a hypermetabolic and hyperinflammatory phenotype. The gene expression profile of microglia nodules in MS and the fusion of the mitochondrial network together indeed indicate that the microglia nodules may be hypermetabolic and hyperinflammatory, which can contribute to the progression of a microglia nodules in MS into a full MS lesion.

Taken together, data presented in the first part of this thesis indicates that in the normal-appearing tissue, loss of homeostasis of microglia, likely due to a loss of CD200, and decompaction of myelin sheaths precede lesion formation, and that microglia nodules are the first starting point of MS lesions.

Part 2: Lesions with foamy microglia are expanding and lesions with ramified microglia are regenerative

In **chapter 5**, we performed exploratory factor analysis on quantitative and qualitative neuropathology data. We identified three independent dimensions of MS pathology that were validated with clinical, genetic, and neuropathological data. The first dimension was associated with higher proportions of active and mixed lesions, B- and T-cell presence, neuroaxonal damage, and a more

severe disease. This first dimension likely represents demyelination and immune cell activity associated with pathological and clinical progression. The second dimension was associated with a high proportion of active lesions, ramified microglia, reactive sites, the presence of nodules, and with genetic MS risk variants. This second dimension likely represents microglia activity and lesion formation initiation. The third dimension was associated with a higher proportion of mixed and inactive lesions, a lower proportion of remyelinated lesions, low involvement of the adaptive immune system, and low levels of acute axonal damage. This third dimension likely represents loss of lesion activity and scar formation. Together, our findings highlight the intricate interplay between multiple pathological characteristics and their contribution to disease progression.

In **chapter 6**, we explored the pathological correlate of the biomarker neurofilament light chain (NfL). As NfL is a major component of the neuronal cytoskeleton, the level of NfL in the CSF is indicative of the level of acute neuro-axonal damage. As expected, we found that the level of NfL was positively correlated to the degree of axonal loss and acute axonal stress in the normal-appearing white matter of the pyramid tract. We furthermore found that the level of NfL was positively correlated with the proportion of active and of mixed lesions with foamy microglia, and not to those with ramified microglia. In line with this, we showed with immunohistochemistry that there was a higher level of acute axonal stress (measured with APP⁺ axonal fragments and bulbs) in active and mixed lesions with foamy microglia compared to those with ramified microglia. Together, our data indicates that lesions with foamy microglia are associated with more axonal damage and stress than lesions with ramified microglia, which may have implications for MS lesion dynamics.

In **chapter 7**, we performed spatial transcriptomics on mixed lesions with ramified microglia and on mixed lesions with foamy microglia. We identified distinct cellular and molecular mechanisms of lesion expansion and failure of remyelination. Mixed lesions with foamy microglia were characterized by enrichment of lymphocytes and immune-oligodendrocytes, immunoglobulin production, complement activation, iron dysregulation, and demyelination. Conversely, mixed lesions with ramified microglia were associated with axonal regeneration and growth, myelin stability, and remyelination. Our data has shed light on the cellular and molecular mechanisms driving lesion expansion and failure of repair in MS.

Taken together, in the second part of this thesis, we have highlighted the complex interplay between pathological characteristics in the MS brain, and we have identified cellular and molecular pathways of lesion dynamics contributing to lesion expansion and failure of remyelination.

Part 3: Genetic susceptibility for clinical severity is associated with more severe pathology

In the third part of this thesis, we aimed to biologically validate the severity SNP rs10191329 in the *DYSF-ZNF638* locus recently identified by the International Multiple Sclerosis Genetics Consortium and to identify possible mechanisms underlying disease progression in homozygous risk carriers.

The SNP rs10191329 is the first known SNP to be associated with a more severe clinical disease in MS. Homozygous risk carriers have a shorter time to requiring a walking aid compared to homozygous non-risk carriers and heterozygous risk carriers. In **chapter 8**, we found that homozygous carriership of SNP rs10191329 was associated with increased brainstem and cortical pathology. Therefore, our data validate the biological relevance of the risk SNP rs10191329.

In **chapter 9**, we found that homozygous risk carriers compared to homozygous non-risk carriers for the risk SNP rs10191329 had a higher proportion of active and mixed lesions with specifically foamy microglia, a higher abundance of lesional T cells, and more acute axonal stress and neuronal loss. As rs10191329 is in the *DYSF-ZNF638* locus, it is possible that dysferlin and ZNF638 play a role in disease progression in MS. In homozygous risk carriers we found an increased density of *DYSF*⁺ cells in the normal-appearing grey matter and of *ZNF638*⁺ oligodendrocytes in the normal-appearing white matter. Neurons and oligodendrocytes had higher mitochondrial gene expression, implying more cellular stress, in homozygous risk carriers compared to homozygous non-risk carriers. Our findings indicate that homozygous risk carriers have an increased susceptibility to tissue damage.

Taken together, in the third part of this thesis, we have biologically validated the severity SNP rs10191329, and our data implies involvement of ZNF638 and dysferlin in MS disease progression.

CONCLUSION

In conclusion, this thesis elucidates the critical roles of microglia and neurons in the progression of MS. By investigating lesion formation, pathological heterogeneity, and genetic susceptibility, we have identified key molecular triggers and pathways involved in MS pathology. This research reveals the importance of microglia homeostasis and compact myelin, the dynamics of lesion expansion, and the impact of genetic risk factors on disease severity. These insights contribute to a deeper understanding of MS progression and may guide the development of new biomarkers and therapeutic strategies to better manage and treat people with MS.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

PROGRESSIE VAN MULTIPELE SCLEROSE: DE ROL VAN MICROGLIA EN NEURONEN

Multipale sclerose (MS) is een neuro-inflammatoire aandoening, waarbij er demyeliniserende laesies ontstaan in het centrale zenuwstelsel. Vanwege een tekort aan kennis van de moleculaire mechanismen achter laesie formatie en laesie progressie, is er ook een tekort aan toepasselijke biomarkers om ziekte progressie te monitoren, en zijn er geen therapieën beschikbaar die ziekte progressie tegengaan of kunnen omkeren. Het doel van dit proefschrift is om pathologische mechanismen die ziekte progressie drijven te ontmaskeren, specifiek gericht op de rol van microglia en neuronen. In **deel 1** richten we ons op laesie formatie. Gezien nieuwe laesies uit het normaal-ogende weefsel ontstaan, onderzoeken we veranderingen die in het normaal-ogende weefsel zijn ontstaan voordat er laesies zijn gevormd. Door deze vroege veranderingen in het weefsel in kaart te brengen, kunnen we onderzoeken wat mogelijk de aanleidingen van laesie formatie zijn, en kunnen we moleculaire mechanismes die geassocieerd zijn met laesie formatie identificeren. In **deel 2** onderzoeken we pathologische heterogeniteit en laesie transitie. Microglia zijn zeer dynamische cellen, die snel op stimuli kunnen reageren. Geactiveerde microglia hebben een spectrum aan morfologie die ze kunnen aannemen, met aan het ene uiteinde een vertakte, ramified morfologie, en aan het andere uiteinde van het spectrum een ronde, foamy morfologie waarbij de microglia lipiden hebben opgenomen. Om de moleculaire mechanismen te ontrafelen die betrokken zijn bij laesie uitbreiding en het falen van remyelinisatie, vergelijken we laesies met ramified microglia met laesies met foamy microglia,. In **deel 3** richten we ons op de genetische predispositie voor ziekte progressie. Onlangs is gevonden dat een homozygote mutatie (SNP) in het rs10101329 locus is geassocieerd met snellere klinische ziekte progressie. In dit deel van het proefschrift vergelijken wij MS relevante pathologie van homozygote risico dragers voor de SNP rs10191329 met homozygote non-risico dragers om deze SNP biologisch te valideren en om mechanismen achter ziekte progressie te ontdekken.

Deel 1: Verlies van microglia homeostase kan leiden tot initiatie van laesie formatie

CD200 en CD47 zijn beide checkpoint moleculen die door neuronen en oligodendrocyten tot expressie worden gebracht om microglia in een homeostatische staat te houden. In **hoofdstuk 2** laten we zien dat CD200 expressie lager is in MS normaal-ogende grijze stof vergeleken met controle grijze stof, en dat vergeleken met MS normaal-ogende grijze stof expressie

van CD200 en CD47 lager is in de peri-laesie grijze stof en in grijze stof laesies. Lagere expressie van deze moleculen kan impliceren dat de microglia minder geïnhibeerd zijn en daardoor makkelijker te activeren zijn. CD200 zou daarom een rol kunnen spelen in laesie formatie, en CD200 en CD47 zouden beiden een rol kunnen spelen in laesie expansie. CD200 is negatief gecorreleerd met de hoeveelheid corticale laesies en met de proportie van actieve en gemixte laesies in de witte stof, en positief gecorreleerd met de proportie inactieve laesies in de witte stof. Samen suggereert dit dat CD200 inderdaad is geassocieerd met laesie formatie en met voortdurende demyeliniserende activiteit van laesies.

In **hoofdstuk 3** hebben we de axon-myeline eenheid in de MS normaal-ogende witte stof gekarakteriseerd. We hebben gevonden dat de paranodale en juxtapanodale regio's langer zijn in MS normaal-ogende witte stof vergeleken met controle witte stof, en dat deze regio's meer overlap hebben. Met elektronenmicroscopie hebben we laten zien dat de myeline minder compact om de axonen gewikkeld zit. Samen zou dit kunnen betekenen dat er een hogere energie nodig is voor het axon om een actiepotential te genereren. We laten zien dat er inderdaad een hogere dichtheid is van axonale mitochondria in MS normaal-ogende witte stof dan in controle witte stof. Dit zou kunnen leiden tot pathologische hoeveelheden vrije zuurstof radicalen, die myeline kunnen oxideren wat weer kan bijdragen aan initiatie tot demyelinisatie. Aangezien de ultra-structurele alteraties zijn gecorreleerd met de dichtheid van geactiveerde of fagocyterende microglia en met de dichtheid van T cellen, is het mogelijk dat lokale inflammatie bijdraagt aan deze vroege alteraties van de axon-myeline eenheid.

In **hoofdstuk 4** hebben we mechanismes van laesie formatie geïdentificeerd door clusters van microglia, of nodules, te profileren in de (normaal-ogende) witte stof in MS en na beroerte. We laten zien dat de genexpressie van microglia nodules vergelijkbaar is met die van actief demyeliniserende laesies. Microglia nodules in MS vergeleken microglia nodules na een beroerte zijn vaker gesitueerd in een inflammatoire omgeving, aangezien ze in nabij contact zijn met geactiveerde T cellen en met immunoglobuline producerende B cellen. Microglia nodules in MS zijn geassocieerd met vroege demyelinisatie, omdat 1) ze vaak geoxideerde fosfolipiden hebben gefagocyteerd, 2) hun gen expressie impliceert dat ze lipiden metaboliseerden, en 3) sommige microglia nodules om gedeeltelijk gedemyeliniseerde axonen heen gewikkeld zitten. Co-stimulatie van microglia nodules in MS door pro-inflammatoire cytokines of immunoglobuline en geoxideerde fosfolipiden zou kunnen resulteren in een hyper metabool en hyper inflammatoir fenotype. Het gen expressie profiel van microglia nodules en de fusie van het mitochondriale netwerk indiceren samen dat inderdaad de microglia nodules in MS hyper metabool en hyper

inflammatoir zouden kunnen zijn, wat zou kunnen bijdragen aan de progressie van microglia nodules naar MS laesies.

Tezamen tonen de data in het eerste deel van dit proefschrift aan dat voorafgaand aan laesie formatie in MS het normaal-ogend weefsel niet erg normaal is. Verlies van homeostase van microglia, mogelijk door een verlies van CD200 expressie, en het minder compact wikkelen van myeline om axonen heen dragen bij aan laesie formatie, en microglia nodules zijn het eerste begin punt van MS laesies.

Deel 2: Laesies met foamy microglia breiden uit en laesies met ramified microglia zijn regeneratief

In **hoofdstuk 5** hebben we een factor analyse uitgevoerd op kwantitatieve en kwalitatieve neuropathologische data. We vonden drie onafhankelijke dimensies van MS pathologie, en hebben deze gevalideerd met klinische, genetische, en neuropathologische data. Dimensie 1 associeert met een hogere proportie van actieve en gemixte laesies, B en T cel aanwezigheid, neuro-axonale dichtheid, en een ernstiger klinisch beloop. Deze dimensie reflecteert waarschijnlijk demyelinisatie en immuun cel activiteit, geassocieerd met pathologische en klinische progressie van MS. Dimensie 2 associeert met een hogere proportie van actieve laesies, ramified microglia, reactieve sites, aanwezigheid van microglia nodules, en genetische MS risico varianten. Deze dimensie representeert waarschijnlijk microglia activiteit en initiatie van laesie formatie. Dimensie 3 associeert met een hoger aantal gemixte en inactieve laesies, lagere proportie geremyeliniseerde laesies, weinig B en T cel aanwezigheid, en weinig acute axonale schade. Deze dimensie reflecteert waarschijnlijk verlies van laesie activiteit. Samen belichten onze bevindingen de complexe wisselwerking tussen pathologische karakteristieken en hun relatie tot ziekte progressie.

In **hoofdstuk 6** hebben we onderzocht wat het pathologische correlaat van de biomarker neurofilament light chain (NfL) is. NfL is een onderdeel is van het neuronale cytoskelet, dus de hoeveelheid NfL in het cerebrospinale vloeistof is een indicator van neuro-axonale schade in het brein. We vonden we dat de hoeveelheid NfL positief correleert aan de hoeveelheid axonaal verlies en acute axonale stress in MS normaal-ogende witte stof. We vonden verder dat de hoeveelheid NfL positief correleert met de proportie actieve en gemixte laesies met foamy microglia, en niet met die met ramified microglia. In lijn hiermee lieten we zien dat er op eiwit-niveau ook meer acute axonale stress (gemeten met APP⁺ axonale fragmenten en bulbs) in actieve en gemixte laesies met foamy microglia is vergeleken met die met ramified microglia. Tezamen laat onze data zien dat laesies met foamy microglia meer geassocieerd zijn met axonale schade

en stress dan laesies met ramified microglia, wat mogelijk implicaties heeft voor MS laesie dynamiek.

In **hoofdstuk 7** hebben we spatiële transcriptomics uitgevoerd op gemixte laesies met ramified microglia en op gemixte laesies met foamy microglia. We hebben verschillende cellulaire en moleculaire mechanismes geïdentificeerd van laesie expansie en gebrek aan remyelinisatie. Gemixte laesies met foamy microglia zijn gekarakteriseerd door een toename aan lymfocyten en immunoligodendrocyten, immunoglobuline productie, complement activatie, ijzer dysregulatie en demyelinisatie. Daartegenover zijn gemixte laesies met ramified microglia geassocieerd met axonale groei, myeline stabiliteit, en remyelinisatie. Onze data heeft inzicht gegeven in de cellulaire en moleculaire mechanismen die laesie-expansie en falen van herstel bij MS aandrijven.

Concluderend, in het tweede deel van dit proefschrift onderzochten we complexe samenwerking tussen pathologische karakteristieken in het MS brein. We identificeerden cellulaire en moleculaire mechanismes van laesie dynamiek die bijdragen aan laesie expansie en remyelinisatie.

Deel 3: Genetische predispositie voor klinische progressie is geassocieerd met verergerde pathologie

In het derde deel van dit proefschrift hadden we het doel om de SNP geassocieerd met versnelde klinische progressie rs10191329 in de *DYSF-ZNF638* locus, welke recentelijk is ontdekt door de International Multiple Sclerosis Genetics Consortium biologisch te valideren. Daarnaast wilden we mogelijke mechanismes onderliggend aan ziekteprogressie in homozygote dragers identificeren.

De SNP rs10191329 is de eerste SNP die geassocieerd wordt een versneld ziektebeloop in MS. In **hoofdstuk 8** laten we zien dat homozygote dragerschap van de SNP rs10191329 is geassocieerd met een toename aan pathologie in de hersenstam en de cortex. Hiermee hebben we de biologische relevantie van de risico SNP rs10191329 gevalideerd.

In **hoofdstuk 9** hebben we gevonden dat homozygote risico dragers vergeleken met homozygote niet risico dragers voor rs10191329 een hogere proportie hadden van actieve en gemixte laesies met foamy microglia, meer T cellen hebben in laesies, en meer acute axonale stress en neuronaal verlies hebben. Aangezien rs10191329 in de *DYSF-ZNF638* locus ligt, is het mogelijk dat *dysferline* en *ZNF638* een rol spelen in ziekte progressie in MS. In homozygote risico dragers hebben we een hogere dichtheid gevonden van *DYSF+* cellen in de normaal-ogende grijze stof en van *ZNF638+* oligodendrocyten in de

normaal-ogende witte stof. Neuronen en oligodendrocyten hebben hogere genexpressie voor mitochondriale genen, wat impliceert dat er meer cellulaire stress is in homozygote risico dragers vergeleken met homozygote non-risico dragers. Samen impliceert dit dat homozygote risico dragers gevoeliger zijn voor weefsel schade.

Samengevat, in het derde deel van dit proefschrift hebben we de klinische progressie SNP rs10191329 biologisch gevalideerd. Onze data impliceert dat ZNF638 en dysferline een rol kunnen spelen in MS ziekte progressie.

CONCLUSIE

In conclusie, dit proefschrift heeft belangrijke mechanismes geïdentificeerd waarmee microglia en neuronen bijdragen aan de progressie van MS. Door laesie formatie, pathologische heterogeniteit, en genetische predispositie te onderzoeken, hebben we belangrijke moleculaire veroorzakers en mechanismes gevonden die een rol spelen in MS pathologie. Dit onderzoek belicht het belang van microglia homeostase en compacte myeline, de dynamiek van laesie expansie, en de invloed van van genetische risico factoren op ziekteprogressie. Deze inzichten dragen bij aan een beter begrip van MS progressie, wat mogelijk kan leiden tot de ontwikkeling van nieuwe biomarkers en therapeutische interventies om mensen met MS beter te behandelen.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Chapter 2

| Name | Location | Contribution |
|------------------------------|--|--|
| Aletta M.R. van den Bosch | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Dennis Wever | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; revising the manuscript |
| Pleun Schonewille | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; analysis and interpretation of data; revising the manuscript |
| Sabine L. Schuller | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; analysis and interpretation of data; revising the manuscript |
| Joost Smolders | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands MS Center ErasMS, Departments of Neurology and Immunology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Jörg Hamann | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Amsterdam Institute for immunology and Infectious Diseases, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Inge Huitinga | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

Chapter 11

Chapter 3

| Name | Location | Contribution |
|---------------------------------|--|--|
| Aletta M.R. van den Bosch | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Sophie Hümmert | Department of Neurogenetics, Max Planck Institute for Multidisciplinary Sciences, Göttingen, Germany | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; revising the manuscript |
| Anna Steyer | Department of Neurogenetics, Max Planck Institute for Multidisciplinary Sciences, Göttingen, Germany | Study concept and design; revising the manuscript |
| Torben Ruhwedel | Department of Neurogenetics, Max Planck Institute for Multidisciplinary Sciences, Göttingen, Germany | Acquisition of data; analysis of data; revising the manuscript |
| Jörg Hamann | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Amsterdam Institute for immunology and Infectious Diseases, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands | Interpretation of data; revising the manuscript |
| Joost Smolders | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands MS Center ErasMS, Departments of Neurology and Immunology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands | Interpretation of data; revising the manuscript |
| Klaus-Armin Nave | Department of Neurogenetics, Max Planck Institute for Multidisciplinary Sciences, Göttingen, Germany | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Christine Stadelmann | Department of Neuropathology, University Medical Center Göttingen, Göttingen, Germany | Study concept and design; acquisition of data; interpretation of data; revising the manuscript |

Chapter 3 (continued)

| Name | Location | Contribution |
|----------------------|--|---|
| Maarten H.P. Kole | Department of Axonal Signaling, Netherlands Institute for Neuroscience, Royal Netherlands Academy for Arts and Sciences, Amsterdam, The Netherlands Cell Biology, Neurobiology and Biophysics, Department of Biology, Faculty of Science, University of Utrecht, Utrecht, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Wiebke Möbius # | Department of Neurogenetics, Max Planck Institute for Multidisciplinary Sciences, Göttingen, Germany | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Inge Huitinga # | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

= equal contributions

Chapter 11

Chapter 4

| Name | Location | Contribution |
|------------------------------|--|--|
| Aletta M.R. van den Bosch | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Marlijn van der Poel | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Nina L. Fransen | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; analysis and interpretation of data; revising the manuscript |
| Maria C.J. Vincenten | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; revising the manuscript |
| Anneleen M. Bobeldijk | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; revising the manuscript |
| Aldo Jongejan | Department of Epidemiology and Data Science, Amsterdam Public Health Research Institute, Amsterdam University Medical Centers, Amsterdam, The Netherlands | Analysis of data; drafting and revising the manuscript |
| Hendrik J. Engelenburg | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; revising the manuscript |
| Perry D. Moerland | Department of Epidemiology and Data Science, Amsterdam Public Health Research Institute, Amsterdam University Medical Centers, Amsterdam, The Netherlands | Analysis of data; drafting and revising the manuscript |
| Joost Smolders | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands MS Center ErasMS, Departments of Neurology and Immunology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

Chapter 4 (continued)

| Name | Location | Contribution |
|---------------|--|---|
| Inge Huitinga | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Jörg Hamann | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Amsterdam Institute for immunology and Infectious Diseases, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

Chapter 11

Chapter 5

| Name | Location | Contribution |
|---------------------------|--|--|
| Alyse de Boer | Department of Biomedical Sciences of Cells and Systems, Section Molecular Neurobiology, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Aletta M.R. van den Bosch | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Nienke J. Mekkes | Department of Biomedical Sciences of Cells and Systems, Section Molecular Neurobiology, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands Machine Learning Lab, Data Science Center in Health, University of Groningen, University Medical Center Groningen, The Netherlands | Analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Nina L. Fransen | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; revising the manuscript |
| Ekaterina Dagkesamanskaia | Department of Biomedical Sciences of Cells and Systems, Section Molecular Neurobiology, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands Machine Learning Lab, Data Science Center in Health, University of Groningen, University Medical Center Groningen, The Netherlands | Analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Eric Hoekstra | Department of Biomedical Sciences of Cells and Systems, Section Molecular Neurobiology, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands | Interpretation of data; revising the manuscript |

Chapter 5 (continued)

| Name | Location | Contribution |
|-----------------|---|--|
| Joost Smolders | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands MS Center ErasMS, Departments of Neurology and Immunology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands | Interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Jörg Hamann | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Amsterdam Institute for immunology and Infectious Diseases, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands | Interpretation of data; revising the manuscript |
| Inge Huitinga | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands The Netherlands Brain Bank, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Inge R. Holtman | Department of Biomedical Sciences of Cells and Systems, Section Molecular Neurobiology, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands The Netherlands Brain Bank, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; drafting and revising the manuscript |

Chapter 11

Chapter 6

| Name | Location | Contribution |
|-----------------------------------|--|--|
| Aletta M.R. van den Bosch * | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Nina L. Fransen * | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Matthew R.J. Mason | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Analysis of data; revising the manuscript |
| Annemieke Rozemuller | Department of Pathology, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands | Interpretation of data; revising the manuscript |
| Charlotte E. Teunissen | Neurochemistry lab, Department of Clinical Chemistry, Amsterdam Neuroscience, Amsterdam UMC, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands | Analysis of data; revising the manuscript |
| Joost Smolders | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands MS Center ErasMS, Departments of Neurology and Immunology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Inge Huitinga | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

* = equal contributions

Chapter 7

| Name | Location | Contribution |
|-----------------------------------|--|--|
| Aletta M.R. van den Bosch * | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Jia H. Khoo * | BGI Research, Riga, Latvia | Study concept and design; acquisition of data; analysis of data; drafting and revising the manuscript |
| Zhigang Lu | BGI Research, Riga, Latvia | Analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Dennis Wever | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; revising the manuscript |
| Li Pu | BGI Research, Riga, Latvia | Acquisition of data; revising the manuscript |
| Bart Eggen | Department of Neuroscience, Section Medical Physiology, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands | Interpretation of data; revising the manuscript |
| Joost Smolders | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands MS Center ErasMS, Departments of Neurology and Immunology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Jörg Hamann | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Amsterdam Institute for immunology and Infectious Diseases, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Zhouchun Shang # | BGI Research, Riga, Latvia | Revising the manuscript |
| Jan Mulder # | Department of Neuroscience, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

Chapter 11

Chapter 7 (continued)

| Name | Location | Contribution |
|--------------------|---|---|
| Inge Huitinga # | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

* or # = equal contributions

Chapter 8

| Name | Location | Contribution |
|-----------------------------------|---|--|
| Aletta M.R. van den Bosch * | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Hendrik J. Engelenburg * | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Dennis Wever | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; revising the manuscript |
| Adil Harroud | UCSF Weill Institute for Neurosciences, Department of Neurology, University of California, San Francisco, CA, USA The Neuro (Montreal Neurological Institute and Hospital), Department of Neurology and Neurosurgery, McGill University, Montreal, Quebec, Canada | Study concept and design; interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Jörg Hamann | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Amsterdam Institute for immunology and Infectious Diseases, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Inge Huitinga | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Joost Smolders | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands MS Center ErasMS, Departments of Neurology and Immunology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

* = equal contributions

Chapter 11

Chapter 9

| Name | Location | Contribution |
|---------------------------|--|--|
| Hendrik J. Engelenburg | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| Aletta M.R. van den Bosch | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting and revising the manuscript |
| J.Q. Alida Chen | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Acquisition of data; analysis and interpretation of data; revising the manuscript |
| Cheng-Chih Hsiao | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands | Interpretation of data; revising the manuscript |
| Inge Huitinga | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Jörg Hamann | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Amsterdam Institute for immunology and Infectious Diseases, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |
| Joost Smolders | Neuroimmunology Research Group, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands MS Center ErasMS, Departments of Neurology and Immunology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands | Study concept and design; interpretation of data; revising the manuscript |

CURRICULUM VITAE

PhD training

| | Year |
|---|-----------|
| Courses | |
| Introduction course ONWAR | 2020 |
| Neurodegenerative diseases (ONWAR) | 2021 |
| Molecular biology and genetics (ONWAR) | 2021 |
| Summer School Cajal: Glial cells in health and disease, Bordeaux | 2023 |
| Seminars, workshops and masterclasses | |
| Annual ONWAR meetings | 2021-2023 |
| Swammerdam lectures ONWAR | 2020-2024 |
| Masterclass with Beth Stevens | 2021 |
| Oral presentations | |
| ACTRIMS, online: Neurofilament light chain levels correlate with lesion activity and axonal damage in MS | 2021 |
| MS Research days, online: Profiling microglial nodules in MS reveals likely involvement in MS lesion formation | 2021 |
| Neuroscience symposium NIN, Amsterdam: Ultrastructural alterations in MS normal appearing white matter and implications for lesion formation | 2022 |
| MS Research days, Rotterdam: Ultrastructural alterations in the normal appearing white matter in MS correlate with activated microglia and lymphocytes | 2022 |
| GliaNed, Amsterdam: The axon-myelin unit in human optic nerve shows ultrastructural alterations in MS that correlate with inflammation | 2022 |
| IMSGC meeting, Amsterdam: Testing two SNPs associated with MS severity in the MS cohort of the Netherlands Brain Bank | 2022 |
| Omics analyses of brain function and brain disease, Amsterdam: Regenerative and degenerative properties of mixed active/inactive lesions in post-mortem human MS tissue | 2023 |
| Microglia, Groningen: Spatial transcriptomics reveals mechanisms of degeneration and regeneration in multiple sclerosis | 2024 |
| Neuroscience symposium NIN, Amsterdam: Spatial transcriptomics reveals mechanisms of degeneration and regeneration in multiple sclerosis | 2024 |
| Dutch Neuroscience Meeting, Tiel (invited): Oligodendrocyte and myelin alterations in MS: implications for MS lesions formation and expansion | 2024 |

PhD training *(continued)*

| | Year |
|--|-------------|
| Poster presentations | |
| GLIA, online: Profiling microglia nodules in MS: possible implications for MS lesion formation | 2021 |
| Gordon research conference, Lucca: Ultrastructural alterations in the normal appearing white matter in MS correlate with activated microglia and lymphocytes | 2022 |
| ECTRIMS, Amsterdam: Ultrastructural alterations in the normal appearing white matter in MS correlate with activated microglia and lymphocytes | 2022 |
| GLIA, Berlin: Profiling of MS microglia nodules reveals enriched propensity for lesion formation | 2023 |
| MS Research days, Leuven: Spatial transcriptomics reveals mechanisms of degeneration and regeneration in multiple sclerosis lesions | 2024 |
| Other | |
| Visiting the department of Neurogenetics, Max Planck Institute for Multidisciplinary Sciences, Göttingen: collaboration with Wiebke Möbius | 2021 |
| Visiting the department of Neuroscience, Karolinska Institute, Stockholm: collaboration with Jan Mulder | 2022 |
| Organising the annual ONWAR meeting, Woudschoten | 2021-2022 |
| Teaching | |
| Sylvia Korhorn (supervision master thesis) | 2020 |
| Jolinde van Bergen (supervision master thesis) | 2021 |
| Sabine Schuller (supervision master internship) | 2021 |
| Pleun Schonewille (supervision master internship) | 2022 |
| Dunya Selemangel (supervision master internship) | 2023 |
| Parameters of esteem | |
| Best poster presentation, ONWAR | 2021 |
| ECTRIMS abstract grant | 2021 |
| Aspasia travel grant, to visit the Max Planck institute in Göttingen | 2021 |
| Best poster presentation, Gordon research conference | 2022 |
| Figure selected for the cover of <i>Annals of Neurology</i> | 2023 |
| Auxilium MarMar grant, to participate in the Cajal summerschool | 2023 |
| GLIA travel grant | 2023 |
| Best oral presentation, ONWAR | 2023 |
| Rogier Hintzen Talent Award | 2023 |

LIST OF PUBLICATIONS

Engelenburg HJ, **van den Bosch AMR**, Chen A, Hasiao C, Melief M, Huitinga I, Hamann J, Smolders J. The progression-associated genetic variant in the DYSF-ZNF638 locus associates with increased neuronal loss and inflammation in multiple sclerosis. *In submission*.

Blok KM, Klein Kranenburg RAM, Ananth K, Engelenburg JH, **van den Bosch AMR**, Giannini L, de Beukelaar J, Seelaar H, Huitinga I, Green A, Wokke B, Abdelhak A, Smolders J. Multifaceted biomarkers suggest a similar profile of CNS pathology in relapsing and progressive multiple sclerosis. *In submission*.

Klotz L, Smolders J, Lehto J, Matilainen M, Lutje L, Buchholz L, Albrecht S, Walter C, Varghese J, Thomas C, **van den Bosch AMR**, Airas L, Huitinga I, Kuhlmann T. Broad rim lesions are a novel pathological and imaging biomarker for rapid disease progression in multiple sclerosis. *In revision*.

Van den Bosch AMR, Wever D, Schonewille P, Schuller SL, Smolders J, Hamann J, Huitinga I. Cortical CD200-CD200R and CD47-SIRP α expression is associated with multiple sclerosis pathology. *Brain Communications*, 2024, Aug; 6(4): Doi: 10.1093/braincomms/fcae264. PMID: 39175944.

De Boer A, **van den Bosch AMR**, Mekkes NJ, Fransen N, Dagkesamanskaia K, Hoekstra E, Hamann J, Smolders J, Huitinga I, Holtman IR. Disentangling the heterogeneity of multiple sclerosis through identification of independent neuropathological dimensions. *Acta Neuropathologica*, 2024, May; 147(90). Doi: 10.1007/s00401-024-02742-w. PMID: 38771530.

Peruzzotti-Jametti L, Willis C, Hamel R, Krzak G, Reisz J, Prag H, Wu V, Xiang Y, **van den Bosch AMR**, Nicaise A, Roth L, Bates G, Huang H, Vincent A, Frezza C, Ciscomi C, Marioni J, D'Alessandro A, Takats Z, Murphy M, Pluchino S. Mitochondrial complex I activity in microglia sustains neuroinflammation. *Nature*, 2024, March 13. Doi: 10.1038/s41586-024-07167-9. PMID: 38480879.

Van den Bosch AMR, van der Poel M, Fransen N, Vincenten MCJ, Bobeldijk A, Jongejan A, Moerland P, Hamann J, Huitinga I. Profiling of microglia nodules in multiple sclerosis reveals propensity for lesion formation. *Nature Communications*, 2024, Feb; 1667(15). Doi: 10.1038/s41467-024-46068-3. PMID: 38396116.

International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, MultipleMS consortium. Locus for severity implicates CNS resilience in progression of multiple sclerosis. *Nature*, 2023, June 28. Doi: 10.1038/s41586-023-06250-x. PMID: 37380766.

van den Bosch AMR, Hümmert S, Steyer A, Ruhwedel T, Hamann J, Smolders J, Nave KA, Stadelmann C, Kole MHP, Möbius W, Huitinga I. Ultrastructural axon-myelin unit alterations in multiple sclerosis correlate with inflammation. *Annals of Neurology*, 2023 Apr; 93(4):856-870. Doi: 10.1002/ana.26585. PMID: 36565265.

van den Bosch AMR, Fransen N, Mason M, Rozemuller AJ, Teunissen C, Smolders J, Huitinga I. Neurofilament light chain levels in multiple sclerosis correlate with lesions containing foamy macrophages and with acute axonal damage. *Neurology Neuroimmunology Neuroinflammation*, 2022 Mar 3;9(3):e1154. doi: 10.1212/NXI.0000000000001154. PMID: 35241571.

Jarvis LB, Rainbow DB, Coppard V, Howlett SK, Georgieva Z, Davies JL, Mullay HK, Hester J, Ashmore T, **van den Bosch AMR**, Grist JT, Coles AJ, Mousa HS, Pluchino S, Mahbubani KT, Griffin JL, Saeb-Parsy K, Issa F, Peruzzotti-Jametti L, Wicker LS, Jones JL. Therapeutically expanded human regulatory T-cells are super-suppressive due to HIF1A induced expression of CD73. *Communications Biology*, 2021 Oct 14;4(1):1186. doi: 10.1038/s42003-021-02721-x. PMID: 34650224.

Peruzzotti-Jametti L, Bernstock JD, Willis CM, Manferrari G, Rogall R, Fernandez-Vizarra E, Williamson JC, Braga A, **van den Bosch AMR**, Leonardi T, Krzak G, Kittel Á, Benincá C, Vicario N, Tan S, Bastos C, Bicci I, Iraci N, Smith JA, Peacock B, Muller KH, Lehner PJ, Buzas EI, Faria N, Zeviani M, Frezza C, Brisson A, Matheson NJ, Viscomi C, Pluchino S. Neural stem cells traffic functional mitochondria via extracellular vesicles. *PLoS Biology*, 2021 Apr 7;19(4):e3001166. doi: 10.1371/journal.pbio.3001166. PMID: 33826607.

Hsiao CC, Fransen NL, **van den Bosch AMR**, Brandwijk KIM, Huitinga I, Hamann J, Smolders J. White matter lesions in multiple sclerosis are enriched for CD20dim CD8+ tissue-resident memory T cells. *European Journal of Immunology*, 2021 Feb;51(2):483-486. doi: 10.1002/eji.202048665. PMID: 32949467.

Bernstock JD, Peruzzotti-Jametti L, Leonardi T, Vicario N, Ye D, Lee YJ, Maric D, Johnson KR, Mou Y, **van den Bosch AMR**, Winterbone M, Friedman GK, Franklin RJM, Hallenbeck JM, Pluchino S. SUMOylation promotes survival and integration of neural stem cell grafts in ischemic stroke. *EBioMedicine*. 2019 Apr;42:214-224. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.03.035. PMID: 30905846.

van Montfort SJT, van Dellen E, **van den Bosch AMR**, Otte WM, Schutte MJL, Choi SH, Chung TS, Kyeong S, Slooter AJC, Kim JJ. Resting-state fMRI reveals network disintegration during delirium. *NeuroImage Clinical*, 2018 Jun 19;20:35-41. doi: 10.1016/j.nicl.2018.06.024. PMID: 29998059.

DANKWOORD

Dat was het dan, we zijn aangekomen op het meest gelezen hoofdstuk van het proefschrift: het dankwoord! Ik ben enorm dankbaar voor iedereen die mij de afgelopen jaren heeft bijgestaan. Alles wat in dit proefschrift staat is mede mogelijk gemaakt door de steun die ik van vrienden, familie en collega's heb gekregen. Dankzij hen kan ik echt met veel plezier en trots terugkijken op de afgelopen jaren.

Allereerst **Inge**, onze professor. In 2017 kwam ik stage lopen in jouw onderzoeksgroep. Hier werd ik door jouw enthousiasme en je kennis over het humane brein continue geprikkeld, en leerde ik al gauw hoe leuk onderzoek doen is. Bedankt voor het vertrouwen dat je in mij had om een PhD te komen doen. Bedankt voor je steun, ook in persoonlijke situaties, en bedankt dat je zorgzaam over de onderzoeksgroep waakt. Ik kijk altijd uit naar onze meetings, en dan vooral naar de brainstorm sessies waar we alle kanten op vliegen. Je hebt me geleerd om naar het grotere plaatje te kijken en om conceptueel na te denken, en je hebt me het zelfvertrouwen gegeven om met mijn eigen ideeën aan de slag te gaan.

Jörg, wat was het fijn om met jou samen te werken, en wat ben ik blij en vereerd dat je mijn copromotor bent. Je oog voor detail, vlijmscherpe inhoudelijke vragen, en constructieve feedback, hebben mij enorm geholpen. Je hebt me strategisch leren nadenken. De structuur en daarmee rust die je hebt gebracht aan mijn promotietraject was voor mij ontzettend fijn en belangrijk. Zonder jou was mijn promotie traject zeker een heel stuk chaotischer geweest.

Joost, het is altijd een feestje op vrijdag, als je jouw NIN-dag hebt, om te kunnen sparren over iedereens data. Je vermogen om eerdere bevindingen aan elkaar te koppelen is bewonderingswaardig. Dankzij je enthousiasme komen je geliefde T en B cellen toch een aantal keer voor in dit proefschrift! Bedankt voor het vertrouwen om me te betrekken bij je samenwerkingen, voor je kritische vragen, en voor je onuitputtelijke interesse in mijn onderzoek.

De leden van de oppositie, **Prof. Lucassen, Prof. Uitdehaag, Prof. van der Valk, Prof. Kole, Dr. Mulder** and **Dr. Absinta**, bedankt voor de tijd om mijn proefschrift te lezen en te beoordelen, thank you for reading and evaluating my thesis. Prof. Kole, Maarten, bedankt voor de fijne samenwerking en voor het delen van je kennis over axonen en het actiepotentiaal. Dr. Mulder, Jan, bedankt voor je gastvrijheid om in je lab mee te mogen draaien voor een paar weken, om het spatial transcriptomics project op te zetten.

De **hersendonoren** van de Nederlandse Hersenbank en hun nabestaanden wil ik graag bedanken. Zonder hun vertrouwen in onderzoek en zonder hun donatie zouden geen van deze onderzoeken mogelijk zijn geweest.

Aan alle (oud) groepsleden van de Neuroimmunologie groep, **Jeen, Alida, Dennis, Niamh, Andy, Lukas, Felipe, Matthew, Karel, Marlijn, Nina, Manon, Jackelien**, bedankt voor het delen van al jullie kennis, voor de leuke discussies, de prettige samenwerkingen, en natuurlijk voor jullie gezelligheid! Bedankt dat jullie mijn geklaag en geklier hebben doorstaan, en voor de vele snack-loopjes naar het AMC. Thank you all for sharing your knowledge with me, for the fun discussions, the pleasant collaborations, and of course for all the gezelligheid! Thank you for putting up with me, and for all the snack-walks to the AMC. **Jeen**, wat ontzettend leuk om niet alleen tijdens onze stage maar ook tijdens onze PhD naast elkaar te zitten, en wat bijzonder dat je naast me wil staan tijdens mijn promotie als mijn paranimf. Ik heb ontzettend veel aan je steun gehad tijdens dit traject, heel erg bedankt! **Alida**, mijn AA teamgenoot! Helaas waren onze gezamenlijke meetings maar van korte duur, maar ik vond het ontzettend leuk om te zien hoe je steeds beter op je plek bent gekomen, en je project echt eigen hebt gemaakt. Bedankt voor het opladen in de zon met me, zowel op het NiN als in Lucca, en voor al je pasta-recept inspiratie. Heel veel succes met al je projecten! **Dennis**, het was erg leuk om je zo te zien groeien binnen onze groep, van junior technician naar lab manager. Bedankt dat je ons (meestal) veilig weet te houden, en voor al je geweldig vermakelijke verhalen. **Hsiao, Andy**, good luck on your quest around the world! **Niamh**, I am so happy you decided to join our group after we met in Lucca! Thank you for livening up our discussions, for proof-reading my texts, and for all the wine we have drank together already. Much more of that to come! **Lukas**, bedankt voor je heerlijke humor, en heel veel succes met het verder opzetten van je project. Ik kijk er erg naar uit om te zien wat je allemaal gaat ontdekken in de broad rim lesions! **Felipe**, you have only been in our group for a short time, but you have already been a great person to have on our team! Good luck with your ME project, I am looking forward to your findings. **Matthew**, thank you for your valuable input in my projects, and for guiding me in my statistics. Your experience and knowledge will be greatly missed in our lab. **Karel**, bedankt voor je interessante en vaak indrukwekkende verhalen uit de kliniek. **Marlijn** en **Nina**, bedankt voor jullie vertrouwen om jullie opgestarte projecten naar een goed einde te kunnen brengen. Door jullie kon ik met een vliegende start aan mijn promotietraject beginnen. **Manon**, onze talloze uren achter de LDM waren niet voor niks, bedankt voor al je hulp! **Jackelien**, bedankt voor onze openhartige gesprekken, en voor het vermaak als ik het even niet zag zitten. Ik hoop nog veel updates over je kinderen en kippen te krijgen, en ik hoop dat je binnenkort ook geitjes kan verwelkomen.

Aan iedereen van de hersenbank, het obductieteam, sectie assistenten, en neuropathologen, heel erg bedankt voor jullie inzet, dag en nacht. In het bijzonder aan **Michiel, Danae, Paul, Isabell, Leanne, Mignon, Marja, Minke, An, Petra, Ashley, Marylin**, en **Vanessa** bedankt voor jullie inzet om hersenonderzoek mogelijk te maken, voor alle taart momenten, en voor het delen van jullie kennis over het humane brein. Zonder jullie zou dit hele proefschrift niet mogelijk zijn geweest. **Danae**, bedankt voor je gezelligheid, en voor al je hulp bij de MS karakterisatie. Het was erg fijn om altijd even binnen te kunnen komen vallen met een wild verhaal, voor wat afleiding, of voor een gezamenlijk klaag-moment. **Isabell** en **Michiel**, bedankt voor jullie hulp met MS weefsel uitgifte en het uitpluizen van aanvragen. Jullie houden de boel op orde!

Aan iedereen van het NIN, maar in het bijzonder **Luuk, Amber, Giorgia, Sarah, Daan, Viktor, Paul** en **Kieran**, bedankt voor de gezelligheid, het delen van frustraties en voor de karaoke avonden. Dat er nog veel mogen volgen! Thank you for all the fun times, for sharing frustrations, and for karaoke nights. I hope that there will be many more to follow! **Roeland, Joris** en **Joop**, bedankt voor de talloze uren hulp en vermaak bij de microscopen.

Aan de studenten die ik heb mogen begeleiden tijdens hun stages, **Sabine, Pleun, Dunya**, bedankt voor jullie directe en indirecte bijdragen aan dit proefschrift. Ik vond het ontzettend leuk om te zien hoe enthousiast jullie waren over jullie projecten, en om jullie steeds zelfstandiger te zien worden in het lab en meer zelfvertrouwen te zien krijgen in jullie experimenten. Ik hoop dat jullie hebben kunnen zien hoe leuk werken in een lab kan zijn.

I have had the luck to be able to work with great people during my PhD from other institutes. **Wiebke**, thank you for hosting me in Göttingen, to learn about the beauty of electron microscopy, and thank you for welcoming me in your home (and for letting me meet your chickens). I have enjoyed our talks and discussions, thank you for the pleasant collaboration. I look forward to seeing you again at conferences. **Sophie**, I have enjoyed our collaboration together. Thank you for showing me around the lab and Göttingen. Good luck with your PhD! **Jia**, we have managed to find common ground in completely different areas of expertise, which has made the spatial transcriptomics project a success. I have greatly enjoyed working together and getting to know you. All the luck in the rest of your career, wherever that may take you! **Rianne Gorter**, bedankt voor de leuke online meetings over onze samenwerking in spe, en bedankt voor je bemoedigende woorden. Succes in Calgary! **Alyse**, we hebben samen wat moois kunnen maken van een enorm chaotische MS-Dbase. Bedankt voor deze prettige samenwerking.

Rianne en Annabel, wat heb ik een ongelooflijk geluk om jullie als vriendinnen te hebben. Ik weet dat ik altijd bij jullie terecht kan, maakt niet uit waarvoor, en jullie hebben vaak eerder door dan ik als ik iets nodig heb. Heel erg bedankt dat jullie er zijn. **Ria**, er waren tijden in onze studie dat we gemiddeld 12 uur per dag samen waren (ja dit hadden we uitgerekend). Je was er vanaf het begin van de studie bij, en ik vind het heel bijzonder dat je nu bij mijn verdediging ook erbij bent als mijn paranimf. Laten we nog vaak Zatte drinken bij het Badhuis! **An**, het maakt niet uit waar ik je voor bel, je bent altijd overal voor in, en daardoor hebben we de leukste spontane avonden uit gehad, films gezien, wedstrijden gerend, en vakanties gehad. Bedankt voor je enthousiasme en je luisterende oor! Ik vind het echt heel gaaf om te zien dat je je zo inzet voor wat je belangrijk vindt. Bedankt dat je me hierin soms mee neemt en me op een andere manier naar situaties leert kijken, door jou is de wereld een betere plek. Laten we nog vaak een van onze 4 recepten maken!

Kimberley, Kim, ik ben zo blij dat we de afgelopen jaren elkaar zo veel beter hebben leren kennen. Het is heerlijk om te zien hoe heerlijk jezelf je bent. En wat is het leuk om te zien hoeveel energie jij uit je werk kan halen! Je verdient de wereld, je bent een prachtig mens. Bedankt dat je mijn cheerleader bent, en dat ik bij jou zowel kan komen ontladen als opladen.

Stascha, Rachele, Maite, en Lisa, bedankt voor alle etentjes, fietstochten, dansjes, drankjes en koffie-dates. Door jullie waren de afgelopen jaren een heel stuk vrolijker en gezelliger! **Julia, Alies, Caroline, Charlotte, Iris, Sophia, Roosje**, oftewel de *BB's*, bedankt voor de leuke borrels, etentjes en kleding-ruil! Ik vind het erg leuk om te zien hoe iedereen sinds het begin van de studententijd is gegroeid, en om te zien waar iedereen terecht is gekomen.

Kara, Michelle, Manon, Stefanie, Freya en Karlijn, wauw wat hebben wij veel meegemaakt met z'n allen. Het is zo bijzonder dat we er nog altijd voor elkaar zijn, ondanks dat onze levens sinds de middelbare school zulke andere wegen op zijn gegaan. We hebben samen gelachen en gehuild, en lief en leed gedeeld, en ik weet dat we dat zullen blijven doen. Bedankt dat we altijd tijd maken voor elkaar.

Jurriena, mijn eerste vriendin in Amsterdam! Bedankt dat je er al die jaren voor me bent geweest. We zijn samen volwassen geworden, en ik geniet ervan om je nu in je nieuwe rol als moeder te zien groeien. Je doet het fantastisch, bedankt dat je er altijd voor me bent.

Tessa, ik ben ontzettend blij dat wij samen veel te vroeg in de ochtend in een roeiboot zijn gestapt in Cambridge, en dat hier zo'n mooie vriendschap uit is

gekomen. Onder andere onze avonturen samen, vele brunches, en onze fijne avondjes kletsen onder het genot van een kaasplank, zorgen ervoor dat ik met veel plezier terug denk aan deze tijd. Toch mooi dat we 010 en 020 afwisselen. Ik kijk er naar uit om Guatemala met je te gaan ontdekken!

Regan, thank you for making me feel welcome in Cambridge. You kept me sane, both in and out of the lab, and made my internship unforgettable. I'm happy I will get to return the favor now that you will be moving to Amsterdam! **Clay**, it was so much fun to see you fall in love with this beautiful city, thank you for letting me show you around. Your positive energy and your stories always cheer me up. Succes met je Nederlandse lessen.

Ysanne, ondanks dat we blijkbaar samen hebben gestudeerd, hadden we toch het NIN nodig om elkaar tegen te komen. Ik ben blij met jou als vriendin, en ik vind het heel leuk dat ik nooit helemaal (of helemaal niet) kan voorspellen hoe onze avonden lopen. Laten we dit vaak blijven doen!

Jolanda, Lara, en Sascha, bedankt dat jullie me altijd welkom hebben laten voelen, en me helemaal opgenomen hebben in jullie familie. Het betekent heel veel voor me dat ik gelijk meegenomen werd in tradities en weekendjes weg. **Renee, Margriet, Senna, en Ties**, het is altijd gezellig bij jullie, bedankt dat jullie altijd geïnteresseerd zijn in waar ik mee bezig ben.

Oma, ik denk dat de vele uren die ik met u en opa in de keuken heb doorgebracht mij de basis heeft gegeven om nu met zo veel plezier in het lab te werken. Wat is het heerlijk om bij u langs te kunnen fietsen, en uren te kunnen kletsen over alles en nog wat. Uw liefde en openhartigheid naar iedereen in uw omgeving is bewonderingswaardig. Bedankt dat u en opa het belang hiervan aan ons hebben meegegeven.

Oscar, mijn grote broer, en **Nienke**, wat fijn dat ik soms wat bij jullie wat kan afkijken hoe ik dingen moet aanpakken. Bedankt dat jullie er voor me zijn. Het is heel leuk om te zien hoe jullie het leven als gezin uitpluizen, met de lieve **Isa en Hugo**. Ik kijk er naar uit om ze verder op te zien groeien.

Charlotte, ik ben heel erg blij met jou als zus. Fijn dat je tegenwoordig dichterbij woont (in ieder geval hetzelfde continent). Ik vind het erg bijzonder dat je de kaft van dit proefschrift hebt ontworpen. Bedankt dat ik altijd welkom ben, en weet dat je dat ook altijd bij mij bent. Ik vind het leuk dat we steeds meer naar elkaar toe zijn gegroeid! Bedankt dat je er altijd voor me bent.

Pap en **Mam**, ik kan jullie niet genoeg bedanken. Door jullie heb ik geleerd wat het betekent om door te zetten, om creativiteit te omarmen, om mezelf te vertrouwen en om nieuwsgierig te blijven. Ik vind het leuk dat ik een beetje in jullie voetsporen heb kunnen stappen, en ook heb kunnen zien hoe interessant en spannend biologie is. Doordat ik weet dat ik altijd op jullie terug kan vallen als het mis gaat, heb ik grote stappen durven te zetten. Heel erg bedankt!

En dan als laatste, **Sam**. Je hebt me de afgelopen jaren stabiliteit gegeven. Je zorgt ervoor dat ik altijd zal blijven lachen, ongeacht hoe de dingen lopen (of hoe slecht je grap is). Ik weet dat je me steunt en er voor me bent, bedankt dat je dit zo duidelijk maakt. Ik heb van jou geleerd hoe mooi het kan zijn om af en toe even te stil te blijven staan om ergens van te genieten, in plaats van steeds maar te blijven rennen. Ik kijk er naar uit om samen de wereld verder te ontdekken. Ik hou van je.

“Just smile and wave.” – Skipper the Penguin.

ABOUT THE AUTHOR



Aletta Marthe Roswitha van den Bosch was born on October 9th in 1995 in Boxmeer, the Netherlands. After obtaining her Gymnasium degree at het Elzendaalcollege in Boxmeer in 2013, she began studying Psychobiology at the University of Amsterdam. Intrigued by fundamental neuroscience and pathophysiological mechanisms involved in brain disorders, she started the research master's program Neurobiology: Pathophysiology and Psychopharmacology at the University of Amsterdam in 2017.

During her master's degree, she performed internships focusing on multiple sclerosis (MS) at the NeuroImmunology group at the Netherlands institute of Neuroscience and the PluchinoLab at the University of Cambridge. There, she delved into MS pathology, neuro-immunology, and cellular metabolism, sparking her passion to continue research on MS in her PhD.

In 2020, she began her PhD at the NeuroImmunology group at the Netherlands institute of Neuroscience, under the supervision of Prof. Inge Huitinga, Dr. Jörg Hamann and Dr. Joost Smolders. Here, she explored the intricate pathophysiological mechanisms of disease progression in MS, focusing on microglia and neurons. During her PhD, she participated in a number of international collaborations. She visited the Karolinska institute in Stockholm to perform experiments, and she obtained funding to visit the Max Planck institute in Göttingen and to participate in the Cajal summer school on glial cells in health and disease in Bordeaux. In 2022, she received the Best Poster Presentation Award at the Gordon Research Conference in Lucca, and in 2023 she was honored with the Rogier Hintzen Talent Award.

Aletta lives in Amsterdam with Sam Scheeren.

