



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Cytokine responses to lipopolysaccharide in vivo and ex vivo : Genetic polymorphisms and inter-individual variation

Schippers, E.F.

Citation

Schippers, E. F. (2006, June 27). *Cytokine responses to lipopolysaccharide in vivo and ex vivo : Genetic polymorphisms and inter-individual variation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4452>

Version: Corrected Publisher's Version

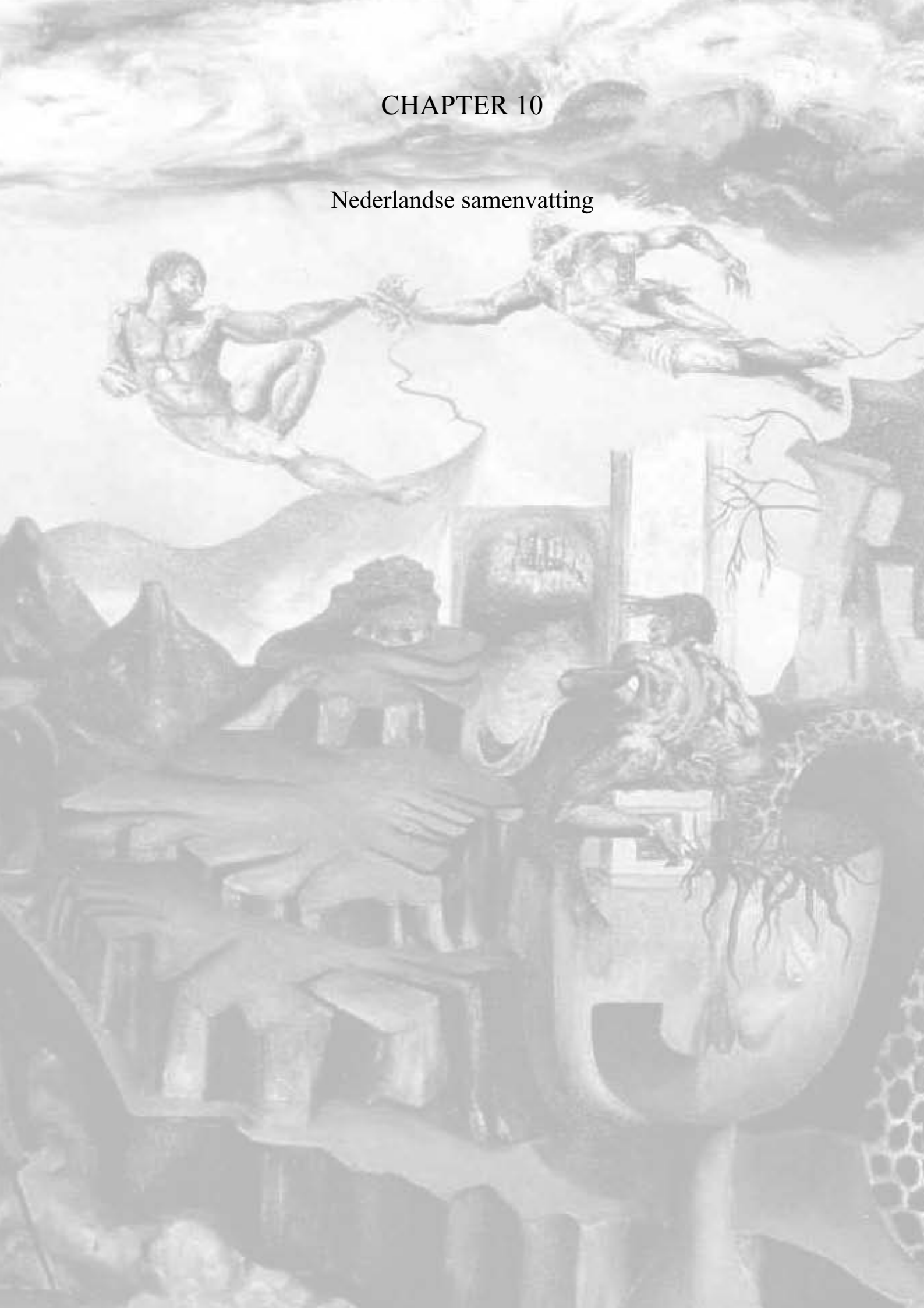
License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4452>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

CHAPTER 10

Nederlandse samenvatting



Al sinds mensenheugenis is het mensen opgevallen dat infectieziekten bij de ene persoon veel ernstiger verlopen dan bij de andere. Terwijl de één nauwelijks ziekteverschijnselen vertoont wordt de ander levensbedreigend ziek. Vaak is er wel een duidelijk aanwijsbare oorzaak voor deze verschillen. Zo zijn mensen met al aanwezige ziekten, zoals ziekten van de bloedvaten of kanker meer kwetsbaar. Soms ligt de oorzaak in het feit dat iemand een bijzonder agressieve bacterie heeft opgelopen, die in korte tijd ogenschijnlijk kerngezonde mensen doodziek kan maken (vleesetende bacterie, nekkramp bacterie). Het komt ook voor dat iemand door een infectie zodanig wordt verrast dat hij of zijn arts de ziekte onderschat en er te laat een behandeling wordt ingesteld. Vaak is er echter geen voor de hand liggende verklaring voor de grote verschillen tussen de ziekteverschijnselen van dezelfde ziekte bij verschillende personen.

Om beter te begrijpen hoe de verschillen verklaard kunnen worden, is het belangrijk te kijken naar de werking van het afweersysteem van de mens. Ons afweersysteem is vrij ingewikkeld en bestaat uit allerlei verschillende onderdelen die voor een deel met elkaar zijn verweven. Tijdens ons leven ontwikkelen wij een afweersysteem dat specifiek gericht is tegen bepaalde ziekteverwekkers (verworven immuniteit, acquired immunity). Dit systeem wordt levenslang getraind en zal bij ieder contact met een nieuwe ziekteverwekker een afweerreactie tot stand brengen. Omdat het afweersysteem daar enige tijd voor nodig heeft zijn we dan wel een tijdje (meestal een kleine week) ziek. Als er vervolgens geen complicaties optreden herstellen we volledig en zijn we voor de rest van ons leven immuun tegen deze ziekteverwekker. Van deze laatste eigenschap van het verworven afweersysteem wordt dankbaar gebruik gemaakt door mensen te vaccineren. Door het inbrengen van een entstof wordt de infectie nagebootst en zijn we, vaak levenslang, beschermt tegen deze ziekte. Hoewel dit afweersysteem prachtig werkt, heeft het ook een groot nadeel. Het heeft vrij veel tijd nodig om met een reactie te komen. Waarschijnlijk is de mens daarom nog met een ander soort afweersysteem uitgerust, dat dit nadeel niet heeft. Dit onderdeel van het afweersysteem is al direct bij de geboorte aanwezig en wordt om die reden het aangeboren afweersysteem (innate immunity) genoemd. Dit afweersysteem is in staat om heel snel na het binnendringen van een ziekteverwekker te reageren, en vormt in feite de eerste verdedigingslinie. Ziekteverwekkers verraden hun aanwezigheid door het al dan niet opzettelijk afgeven van stoffen aan hun omgeving. Deze stoffen worden herkend door een groot arsenaal aan antennes (receptoren) die vóórkomen op cellen van het afweersysteem. Bij het gelijktijdig prikkelen van verschillende antennes ontstaat een patroon dat het afweersysteem in staat stelt een gerichte reactie te maken tegen de binnengedrongen ziekteverwekker. Lipopolysaccharide (LPS) is zo'n stof en is afkomstig uit de celwand (het omhulsel) van sommige bacteriën. LPS wordt herkend door cellen van het aangeboren afweersysteem (vooral door de zogenaamde monocytën) en deze cellen

worden er vervolgens door geactiveerd. Ze gaan activerende stoffen produceren waarvan de belangrijkste Tumor Necrosis Factor(TNF)- α wordt genoemd. Deze stof zweept het gehele afweersysteem op tot een verhoogde activiteit. Tegelijkertijd worden er ook remmende stoffen geproduceerd, de belangrijkste daarvan is Interleukine(IL)-10. De balans tussen deze twee stoffen is van groot belang. Als de balans in één van beide richtingen doorslaat ontstaat er een probleem. Zowel een te hoge als een te lage activiteit van het afweersysteem kan ertoe leiden dat er schadelijke effecten voor het lichaam ontstaan, hetzij door de afweerreactie zelf of door de binnendringende ziekteverwekker. Bloedvergiftiging (sepsis) is een ernstige ziekte die kan optreden zodra een infectie uit de hand loopt. In Nederland sterven per jaar naar schatting 5000 mensen aan bloedvergiftiging. De meest voorkomende ziekten die bloedvergiftiging kunnen veroorzaken zijn longontsteking, buikvliesontsteking en blaasontsteking.

Als we ervan uitgaan dat de balans tussen stimulatie en remming van het afweersysteem van belang is voor het verdere verloop van een infectie, dan ligt het voor de hand om aan te nemen dat erfelijke factoren hierbij een rol spelen. In genen van verschillende personen blijken soms heel kleine verschillen te zitten, die polymorfismen worden genoemd. Vaak gaat het om een verschil in slechts 1 schakeltje (base-paar, Single Nucleotide Polymorphism of SNP) in een lange DNA keten dat we een gen noemen. Uit eerder onderzoek is gebleken dat deze kleine verschillen verantwoordelijk kunnen zijn voor verschillen in het verloop van, onder andere, infectieziekten. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift was erop gericht meer inzicht te krijgen in de rol van bekende, genetische verschillen in genen die betrokken zijn bij het tot stand komen van een afweerreactie op LPS.

Zoals hiervoor beschreven herkent het afweersysteem ziekteverwekkers door de aanwezigheid van stoffen die door ziekteverwekkers worden afgegeven aan hun omgeving. LPS bindt aan een oppervlaktestructuur (antenne) die toll-like receptor-4 (TLR4) wordt genoemd (zie Figuur 1 in hoofdstuk 1). Na binding aan TLR4 wordt een cascade in beweging gezet (domino effect) die uiteindelijk leidt tot activatie van genen in de kern van de desbetreffende cel. De genen die worden geactiveerd bevatten de genetische code voor eiwitten, cytokines genaamd (zoals TNF- α en IL-10) die vervolgens door de cel worden uitgestort in hun omgeving. In de genen van TLR4, TNF- α en IL-10 zijn in de afgelopen jaren diverse ‘single nucleotide polymorphisms’ (SNPs) ontdekt. In het onderzoek beschreven in dit proefschrift hebben wij onderzocht in hoeverre deze SNPs verantwoordelijk zijn voor verschillen in de reactie op LPS. Om dit bij mensen te onderzoeken zijn we op zoek gegaan naar een omstandigheid waaronder patiënten met LPS worden geconfronteerd. We zijn terecht gekomen bij patiënten die een operatie aan hun hart moeten ondergaan. Tijdens deze operatie worden patiënten aangesloten op een hart-

longmachine. Het hart kan dan tijdelijk worden stilgezet, zodat de chirurg de operatie rustig kan uitvoeren. De hart-longmachine houdt de bloedsomloop kunstmatig in stand. Hoewel dit op zich goed lukt, is de bloedsomloop toch minder goed dan onder normale omstandigheden. Vooral de darmen worden onder deze omstandigheid minder goed van zuurstof voorzien. Daardoor raken de darmen een beetje doorlaatbaar (lek), en komen stoffen die zich in de darminhoud bevinden in het bloed terecht. Omdat het gaat om heel kleine hoeveelheden, is dat voor de meeste stoffen geen probleem. Een belangrijke uitzondering is het LPS. Zelfs heel kleine hoeveelheden van deze stof kunnen een afweerreactie tot stand brengen. In de praktijk blijkt dat ongeveer de helft van de patiënten die een dergelijke operatie ondergaat een zekere mate van afweerreactie op LPS vertoont. Om deze reden hebben wij deze situatie gebruikt om ons onderzoek uit te voeren. Uiteindelijk hebben we bijna 200 patiënten onderzocht. Kort voor de operatie hebben we van deze mensen bloed afgenomen waaraan we in het laboratorium LPS hebben toegevoegd en vervolgens ook de cytokines hebben gemeten. Tijdens en kort na de operatie hebben we bloed afgenomen dat werd onderzocht op de aanwezigheid van LPS en meerdere cytokines (zoals TNF- α en IL-10). Daarnaast hebben we van deze patiënten de genen onderzocht en gekeken of er bepaalde SNPs aan- of afwezig waren. Vervolgens hebben we de verschillende metingen met elkaar vergeleken om te onderzoeken welke factoren de verschillen in productie van cytokines verklaarden.

In het onderzoek beschreven in hoofdstuk 2 en 3 hebben we onderzocht of het toedienen van antibiotica in de week voor de operatie kan voorkómen dat er tijdens en na de operatie LPS in de bloedsomloop terecht komt. Hoewel het aantal bacteriën in de darm duidelijk lager werd, bleek er geen vermindering op te treden in de hoeveelheid LPS die in de bloedsomloop terecht kwam. Verder was ook de mate van afweerreactie niet verschillend tussen de patiënten die antibiotica hadden gebruikt en zij die dat niet hadden toegediend gekregen. Uit verder onderzoek zal moeten blijken wat de verklaring is voor deze waarneming.

In het onderzoek beschreven in hoofdstuk 5 en 6 hebben we onderzocht wat de samenhang was tussen de mate van LPS dat tijdens de operatie - en kort daarna - in de bloedsomloop kwam en de hoeveelheid vrijgekomen cytokines (TNF- α en IL-10). We hebben gevonden dat er een duidelijke samenhang is. Hoe meer LPS er tijdens de operatie in het bloed komt hoe groter de hoeveelheid aan cytokines die wordt geproduceerd. We hebben echter ook waargenomen dat er cytokines vrijkomen bij patiënten die helemaal geen LPS in hun bloed hadden. Dit betekent dat er nog andere factoren betrokken zijn bij het vrijkomen van cytokines. Uit vervolgonderzoek zal moeten blijken welke factoren dat zijn.

In hoofdstuk 8 hebben we onderzocht in hoeverre het verschijnen van LPS in de bloedsomloop en de productie van cytokines invloed had op de toestand van de patiënt na

de operatie. Wat we gevonden hebben is dat patiënten die meer LPS in hun bloed hadden grotere problemen kregen met het functioneren van hun bloedsomloop. Verder hadden patiënten met een hoge concentratie van IL-10 in het bloed na de operatie een slechter functionerend hart.

In hoofdstuk 4, 5 en 6 hebben we onderzocht of het mogelijk is om met een bloedonderzoek te voorspellen hoe mensen op LPS in hun bloed zullen reageren. We hebben dat onderzocht door bloed, afgenomen voor de operatie, in het laboratorium bloot te stellen aan LPS. Vervolgens hebben we de hoeveel cytokines die vrijkwamen gemeten. Tijdens de operatie hebben we in het bloed van deze mensen soortgelijke metingen gedaan. Door de metingen van iedere patiënt naast elkaar te leggen, konden we kijken of er bepaalde patronen optraden die een zekere mate van voorspelling gaven. Het bleek dat de hoeveelheid TNF- α die in het laboratorium vrijkwam na stimulatie met een hoge concentratie LPS in grote mate voorspellend was voor de hoeveelheid TNF- α die tijdens de operatie vrij kwam. Voor IL-10 hebben we hetzelfde gevonden.

In hoofdstuk 5 hebben we onderzocht in hoeverre SNPs in het TNF- α gen effect hebben op het vermogen om TNF- α te produceren, zowel tijdens de operatie als in het laboratorium. We hebben hiervoor geen bewijs kunnen vinden.

In hoofdstuk 6 hebben we hetzelfde onderzocht als in hoofdstuk 5, maar dan voor het IL-10 gen. We hebben van een aantal SNPs in het IL-10 gen kunnen aantonen dat dit effect heeft op de hoogte van de IL-10 productie. Inmiddels zijn er ook onderzoeken door anderen verricht die soortgelijke resultaten hebben opgeleverd. We hebben hier dus een belangrijke aanwijzing gevonden dat deze SNPs voor een deel verantwoordelijk zijn voor de verschillen die worden gevonden in de wijze van het ontwikkelen van een afweerreactie.

In de hoofdstukken 5, 6 en 7 hebben we onderzocht in hoeverre genetische verschillen in de receptoren van LPS (TLR4, nod2) en het CCR5 gen effect hadden op het vermogen om te reageren op LPS. We hebben van de verschillende genetische polymorfismen geen effect kunnen aantonen.

De belangrijkste conclusie van ons onderzoek is dat het bestuderen van patiënten die een hartoperatie ondergaan een goede manier is om onderzoek te doen naar de afweerreactie op LPS. Het vrijkomen van LPS is bij deze patiënten een belangrijke factor bij het ontstaan van een afweerreactie. We moeten ons echter wel realiseren dat er nog vele andere factoren een rol spelen bij het ontstaan van deze afweerreactie. Deze factoren zijn nog grotendeels onbekend en toekomstig onderzoek zal hierin opheldering moeten brengen.