Downloaded from UvA-DARE, the institutional repository of the University of Amsterdam (UvA)
http://dare.uva.nl/document/212305

File ID	212305
Filename	Nederlandse samenvatting

SOURCE (OR PART OF THE FOLLOWING SOURCE):

Type	Dissertation
Title	Recognition of infection and inflammation in the kidney
Author	K.M. Heutinck
Faculty	Faculty of Medicine
Year	2011
Pages	208
ISBN	978-94-90371-72-2

FULL BIBLIOGRAPHIC DETAILS:
http://dare.uva.nl/record/373821

Copyright

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.

UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (http://dare.uva.nl)

NEDERLANDSE SAMENVATTING

De hoofdtaak van het menselijke immuunsysteem is bescherming bieden tegen lichaamsvreemde en schadelijke stoffen. Het binnendringen van een ziekteverwekker brengt een zogenoemde ontstekingsreactie op gang welke wordt gekenmerkt door locale productie van cytokinen en chemokinen die immuuncellen activeren en aantrekken. Een ontstekingsreactie is cruciaal voor de afweer tegen virale en bacteriële infecties. De keerzijde van ontsteking is weefselschade als gevolg van het binnendringen van leukocyten en de inflammatoire eiwitten die deze immuuncellen produceren.

Interstitiële nefritis in niertransplantatie patiënten

Tijdens ontstekingsreacties in de nier kan beschadiging van met name tubulus epitheelcellen (TECs) leiden tot verminderde nierfunctie, wat in ernstige gevallen noodzaak geeft tot dialyse of niertransplantatie. Niertransplantatie is momenteel de beste behandelingsoptie voor patiënten met nierinsufficiëntie. Ontvangers van een niertransplantaat hebben vervolgens weer een verhoogde kans op het ontwikkelen van nierontstekingen, c.q. interstitiële nefritis. Allereerst herkent het immuunsysteem van de ontvanger een allogene donornier als lichaamsvreemd, wat leidt tot afstoting. Een afstotingsreactie kan worden voorkomen door medicijnen die het immuunsysteem onderdrukken. Immuunsuppressiva hebben echter verschillende bijwerkingen waaronder een verhoogde kans op infecties met virussen, bacteriën en schimmels. Infecties zijn daarom een tweede en vanwege verbeterde immuunsuppressiva steeds belangrijkere oorzaak voor interstitiële nefritis in patiënten met een niertransplantaat.

Infecties kunnen worden waargenomen door zowel immuun- en niercellen met behulp van speciale receptoren welke binden aan moleculaire structuren die kenmerkend zijn voor bepaalde ziekteverwekkers, zoals bijvoorbeeld viraal dubbelstrengs (ds) RNA of glycolipiden in de celwand van bacteriën. Activering van deze receptoren brengt verschillende signaleringsroutes op gang, die gezamenlijk de vermenigvuldiging en verspreiding van de ziekteverwekker remmen. Om de pathologie van verschillende vormen van interstitiële nefritis te begrijpen, is het belangrijk om te weten welke eiwitten en transcriptiefactoren betrokken zijn bij deze signaleringsroutes en wat de wisselwerking is tussen de deelnemende moleculen. Dit proefschrift omvat onderzoek naar twee bekende oorzaken van interstitiële nefritis in niertransplantatie patiënten: afstoting en virale infectie. Centraal staan het herkennen van een virus, de ontwikkeling van een immuunreactie en het belang van de interactie tussen cellen van het immuunsysteem en niercellen tijdens ontsteking.

De functie van granzymen in de afstoting van allogene niertransplantaten

Cytotoxische lymfocyten spelen een belangrijke rol in de afstotingsreactie van een donornier. Ze kunnen op twee manieren niercellen doden: door het uitscheiden

van toxische granzymen en door het activeren van zogenoemde “dood-receptoren” zoals CD95. Granzymen zijn enzymen van de serine protease familie, die worden opgeslagen in blaasjes in het cytoplasma, genaamd granulen. Granzymen worden samen met het porievormende eiwit perforine vrijgelaten wanneer een cytotoxische lymfocyt een geïnfecteerde of allogene cel herkent. De karakteristieken en functie van granzymen, en andere serine proteasen die worden geproduceerd door cellen van het immuunsysteem, worden beschreven in **hoofdstuk 2**. De best bestudeerde granzymen in de mens zijn granzyme A en granzyme B, die verschillende eiwitten knippen waaronder caspases, waardoor een pro-apoptotische signaleringsroute wordt aangezet die leidt tot celdood. Wij hebben ontdekt dat de hoeveelheid granzyme A producerende cellen in de urine van niertransplantatie patiënten is toegenomen tijdens een afstotingsreactie (**hoofdstuk 3**). Zelfs wanneer een afstotingsreactie niet direct leidt tot een verminderde nierfunctie, bekend als subklinische rejectie, blijkt granzyme A verhoogd te zijn. Onze resultaten impliceren dat het bepalen van granzyme A producerende cellen in de urine een nieuwe en patiëntvriendelijke manier kan zijn om afstotingsreacties te diagnosticeren in niertransplantatie patiënten.

De hoeveelheid nierschade en daarmee de afname in nierfunctie tijdens een afstotingsreactie worden niet alleen bepaald door de activiteit van immuuncellen. De niercellen kunnen zichzelf beschermen tegen de aanvallen van cytotoxische lymfocyten. SerpinB9 is een eiwit wat de activiteit van granzyme B remt. Cellen die veel serpinB9 bevatten zijn daarom minder gevoelig voor celdood opgewekt door dit schadelijke enzym. Onze onderzoeksgroep heeft eerder gevonden dat TECs serpinB9 bevatten en dat de hoeveelheid van de granzyme B remmer is verhoogd tijdens subklinische rejectie. Hieruit komt de hypothese voort dat serpinB9 bijdraagt aan het behoud van nierfunctie tijdens subklinische rejectie. In **hoofdstuk 4**, hebben wij onderzocht of de hoeveelheid serpinB9 in primaire TECs gereguleerd wordt door verschillende signaalstoffen, die worden geproduceerd tijdens een ontstekingsreactie. Onze experimenten hebben aangetoond dat dsRNA TECs aanzet tot het produceren van meer serpinB9, terwijl andere inflammatoire cytokines en Toll-like receptor (TLR) liganden geen effect hebben op de hoeveelheid serpinB9. dsRNA wordt gevormd tijdens het vermenigvuldigen van bijna alle virussen en vormt een alarmsignaal voor een virale infectie. Wij hebben aangetoond dat TECs drie receptoren bevatten die dsRNA herkennen: TLR3, MDA5 en RIG-I. Activering van MDA5 en RIG-I, welke aanwezig zijn in het cytoplasma, verhoogt serpinB9 expressie, net als activering van de endosomale receptor TLR3. Bovendien hebben wij door middel van immunohistologie laten zien dat serpinB9 expressie in de nier inderdaad verhoogd is tijdens infectie met cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV) en BK virus (BKV).

Expressie en functie van dsRNA receptoren in tubulus epitheel cellen

Recent onderzoek heeft aangetoond dat dsRNA receptoren een belangrijke rol spelen in het opwekken van anti-virale immuunreacties. Aangezien primaire TECs

TLR3, MDA5 en RIG-I bevatten, hebben wij het expressiepatroon van deze dsRNA receptoren bekeken in biopten van niertransplantatie patiënten. Tijdens infectie met CMV, EBV en BKV is de hoeveelheid TLR3, MDA5 en RIG-I in de nier verhoogd, wat duidt op activiteit van de receptoren (**hoofdstuk 6**). Infectie met CMV, EBV of BKV is een bekend probleem bij ontvangers van een donornier en kan leiden tot interstitiële nefritis en nierschade. Wij zijn daarom gaan onderzoeken welke signaleringsroutes worden aangezet in primaire TECs na herkenning van viraal dsRNA. Activering van de dsRNA receptoren resulteert in de productie van inflammatoire cytokines die immuuncellen activeren. Daarnaast veroorzaakte dsRNA een type I interferon reactie, waarvan bekend is dat het de vorming van nieuwe virusdeeltjes in de cel remt (**hoofdstuk 6**).

Naast het opwekken van pro-inflammatoire en anti-virale cytokines is recentelijk bekend geworden dat dsRNA receptor activering kan leiden tot celdood. In verschillende tumoren kan dsRNA geprogrammeerde celdood, apoptose, veroorzaken door de balans tussen pro- en anti-apoptotische eiwitten te verstoren. Wij zijn daarom gaan onderzoeken of dsRNA invloed heeft op de levensvatbaarheid van TECs. Wij hebben ontdekt dat activering van dsRNA receptoren invloed heeft op de expressie van verschillende eiwitten die een rol spelen in apoptose (**hoofdstuk 5**). Op zichzelf veroorzaakt dsRNA geen celdood aangezien naast pro-apoptotische eiwitten ook anti-apoptotische eiwitten worden geproduceerd in TECs. Eiwitten van de inhibitor of apoptosis (IAP) familie, spelen hierbij een belangrijke rol: in de aanwezigheid van een IAP-remmer veroorzaakt dsRNA wel massale apoptose in TECs. Cytotoxische lymfocyten hebben liganden voor dood-receptoren op hun membraan en zoals eerder genoemd kunnen ze hiermee virus geïnfecteerde cellen uit de weg ruimen. Interactie tussen de dood-receptor CD95 en CD95-ligand zet de zogenoemde extrinsieke apoptoseroute aan. In sommige celtypes is activering van CD95 voldoende om celdood te veroorzaken, in andere cellen zoals TECs is een tweede apoptotisch signaal noodzakelijk. Wij hebben ontdekt dat activering van TLR3, MDA5 of RIG-I TECs gevoelig maakt voor celdood opgewekt door CD95. Deze resultaten impliceren dat virus geïnfecteerde TECs ontvankelijk worden voor celdood opgewekt door dood-receptoren.

CMV infectie activeert het immuunsysteem

Persisterende virussen, zoals CMV, beïnvloeden niet alleen cellen die ze infecteren maar ook cellen van het immuunsysteem. In **hoofdstuk 7** hebben wij de activatiestatus van het immuunsysteem onderzocht in niertransplantatie patiënten met een primaire CMV infectie. Wij hebben gekeken naar de aanwezigheid van verschillende cytokines, chemokines en acutefase-eiwitten in serum voor infectie, tijdens de piek van de infectie en één jaar na infectie. CMV veroorzaakte een systemische verhoging van IFNγ , IL-12 en IP-10, welke kenmerkend zijn voor een T helper type 1 reactie. CMV wordt niet volledig opgeruimd door het immuunsysteem, maar blijft latent aanwezig

in onder andere endotheelcellen. Wij hebben aangetoond dat de T helper type 1 signatuur blijft voortbestaan tijdens de latente fase. Continue activatie van het immuunsysteem draagt zeer waarschijnlijk bij aan de pathogenese van chronische ziekten die zijn geassocieerd zijn met een eerder doorgemaakte CMV infectie.

Conclusie

Viraal dsRNA zet TECs aan tot het produceren van pro-inflammatoire en anti-virale cytokines die het immuunsysteem kunnen alarmeren en virusvermenigvuldiging kunnen remmen. Bovendien worden virus-geïnfecteerde TECs gevoeliger voor celdood opgewekt door dood-receptoren, terwijl ze juist beschermd zijn tegen de schadelijke effecten van granzymen. Vervolgonderzoek zal moeten uitwijzen in welke situaties een virale infectie in de nier leidt tot een verhoogde of juist verminderde gevoeligheid voor aanvallen van cytotoxische lymphocyten. Hierbij speelt de wisselwerking tussen pro-inflammatoire, anti-virale en pro-apoptotische signaleringsroutes een belangrijke rol. Onze bevindingen geven meer inzicht in de signaalroutes die verantwoordelijk zijn voor het aanzetten van een ontstekingsreactie en het ontstaan van nierschade. Deze inzichten kunnen in de toekomst helpen bij de ontwikkeling van nieuwe therapieën ter vermindering van nierschade als gevolg van verschillende vormen van interstitiële nefritis.