

Parijs is nog ver...

(Zoetemelk)



Summary

Samenvatting

SAMENVATTING

De mensheid is in voortdurende interactie met al dan niet pathogene micro-organismen en de evolutie heeft vooral geselecteerd op vreedzame co-existentie van beide. Succesvolle overleving voor de mens als soort wordt bepaald door de interacties tussen gastheer en pathogeen, vooral op cellulair niveau: co-existentie met wederzijds voordeel aan de ene kant en beschermende afweerreacties aan de andere kant. De menselijke afweerreacties tegen infectieziekten zijn gericht op het elimineren van het veroorzakende pathogeen maar zijn vaak ook verantwoordelijk voor schade aan gezonde cellen en weefsels van de gastheer. Variatie in genen die coderen voor bij de afweer betrokken receptoren en signaaleiwitten beïnvloeden de vatbaarheid voor, en de ernst van, infectieziekten zoals bacteriële meningitis (BM).

De studies in dit proefschrift hebben als doel de details van de pathofysiologie en de gastheerrespons in geval van BM te ontrafelen en te achterhalen hoe genetische variatie bovengenoemde processen beïnvloedt en daarmee de uitkomst van ziekte.

In **DEEL I** wordt ingegaan op meningitis veroorzaakt door *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tub*). In *hoofdstuk 2* wordt een retrospectief cohort van 554 kinderen met tuberculeuze meningitis (TBM) in Zuid-Afrika beschreven, een land met incidentiecijfers voor deze ziekte die tot de hoogste wereldwijd behoren. In deze studie wordt de relatie tussen presenterende symptomen in relatie tot de uitkomst na het doormaken van TBM beschreven. Variabelen die onafhankelijk geassocieerd waren met een slechte prognose waren etniciteit, verder gevorderd ziektestadium, hoofdpijn, convulsies, aangedane motorische functies, hersenstamstoornissen en cerebrale infarctering. TBM begint met aspecifieke symptomen en de diagnose wordt meestal pas gesteld als er al irreversibele neurologische schade is optreden. Alle inspanningen zijn gericht op het eerder stellen van de diagnose.

Om de details van de pathofysiologie en de inflammatoire reacties in geval van TBM beter te onderzoeken en te begrijpen zijn proefdierstudies van eminent belang. In *hoofdstuk 3* wordt een overzicht gepresenteerd van proefdiermodellen die ontwikkeld zijn om de pathofysiologie, en dan met name granuloomvorming en de lokale afweerreactie, in het centraal zenuwstelsel (CZS) in geval van TBM te bestuderen. Het bestuderen van TBM in proefdiermodellen is essentieel voor het begrip van zowel de gastheerfactoren als de pathogeen geassocieerde factoren. Studies met mensapen zijn onvervangbaar voor de laatste testfase van geneesmiddelen en vaccin onderzoek. Het konijnenmodel lijkt menselijke ziekte het meest nauwgezet na te bootsen. Het muizenmodel is echter superieur in het bestuderen van de details van de immunologische respons en is tevens zeer geschikt om de genetica van de afweer te bestuderen.

In *hoofdstuk 4* wordt een nieuw muizenmodel beschreven om de pathofysiologie van TBM te bestuderen en vooral de inflammatoire mediators in het CZS. Rechtstreekse intracerebrale inoculatie van *M. tub* genereert granuloomvorming in de muizenhersenen en bootst menselijke TBM pathogenese na waarbij subependymale *Rich foci* ontstaan na primaire pulmonale infectie. Hoewel de patronen van cytokine en chemokine responsen verschillen van de menselijke situatie, lijkt het wel een geschikt model om de inflammatoire respons in de hersenen te bestuderen en de receptoren en eiwitten die daarbij betrokken zijn te identificeren.

DEEL II beschouwt meningitis veroorzaakt door *Neisseria meningitidis* (NM) en *Streptococcus pneumoniae* (SP) en gaat in op de invloed van genetische variatie op de primaire aangeboren afweerreacties in geval van BM en hoe dit de prognose beïnvloedt. In *hoofdstuk 5* wordt een overzicht gegeven van bestudeerde polymorfismen (SNPs) in patiëntcohorten met invasieve pneumokokken of invasieve meningokokken ziekte, inclusief meningitis. De SNPs worden beschreven in het kader van de essentiële stappen in de pathogenese van BM. Studies met betrekking tot genen die de epitheliale adhesie beïnvloeden, de aangeboren herkenning van pathogenen, en genen die coderen voor complement en cytokinen, worden samengevat. Hoewel er verscheidende SNPs zijn beschreven met een duidelijke invloed op de gevoeligheid voor het ontwikkelen van ernstige infecties met pneumokokken of meningokokken, zijn er nauwelijks studies die zich specifiek gericht hebben op BM.

In *hoofdstuk 6* wordt de ontdekking van een significante associatie beschreven met variatie in het gen dat codeert voor Toll-like receptor 9 (TLR9) en de gevoeligheid voor het krijgen van meningokokkenmeningitis. Het *TLR9 +2824-A* allel werd significant vaker gevonden bij 392 controles in vergelijking met 389 overlevers van meningokokkenmeningitis op de kinderleeftijd hetgeen een beschermend effect van deze SNP impliceert. De biologische consequentie van deze genetische variatie lijkt gelegen in het feit dat het de mogelijkheid van TLR9, om moleculaire motieven op het oppervlak van meningokokken te herkennen, beïnvloedt. Het heeft tot gevolg dat de afweerreactie ten gunste wordt beïnvloed, waarmee het beschermt tegen ernstige ziekte in het geval van kolonisatie met meningokokken.

In *hoofdstuk 7* wordt een studie beschreven die *TLR9* genotypen vergelijkt binnen de groep van meningitis overlevers die geclusterd zijn op grond van variabelen die de ernst van ziekte bepalen. Zowel *TLR9 -1237* als *TLR9 +2848* SNPs waren geassocieerd met een verlaagde incidentie van bacteriëmie met NM maar ook met een meer uitgesproken lokale inflammatoire respons in het CZS, weerspiegeld door een hoger celgetal in de liquor en lagere glucosewaardes in liquor in vergelijking met die in het bloed. Het lijkt er dus op dat dragers van een van deze SNPs relatief beschermd zijn tegen het krijgen van bacteriëmie of sepsis met meningokokken. In

geval van onverhoopte acquisitie van een dergelijk pathogeen in de bloedbaan en daarop volgende meningitis zijn zij beter in staat het micro-organisme te klaren uit de liquor, echter wel tegen de prijs van neuronale schade, weerspiegeld door een hogere incidentie van gehoorsverlies na het doormaken van meningitis.

Hoofdstuk 8 beschrijft een studie naar de vatbaarheid voor BM waarbij naar meerdere bij de afweer betrokken genen wordt gekeken. Genotype frequenties van SNPs in *TLR2*, *TLR4*, *NOD1*, *NOD2*, and *CASP1* van 473 overlevers van BM op de kinderleeftijd werden vergeleken met gezonde en etnisch vergelijkbare controles. *TLR4* +896 en *NOD2* SNP8 waren significant geassocieerd met vatbaarheid voor meningokokkenmeningitis. Daarnaast konden we twee combinaties van aan elkaar gerelateerde genen onderscheiden, namelijk *TLR2* en *TLR4* SNPs alsmede *TLR4* en *NOD2* SNPs, die beiden sterk geassocieerd waren met vatbaarheid voor meningokokkenmeningitis.

Hoofdstuk 9 beschrijft een de genotypeverdeling van 11 SNPs in 7 immuunresponsgenen (*TLR2*, *TLR4*, *TLR9*, *NOD1*, *NOD2*, *CASP1* and *TRAIL*) over 393 overlevers van BM die geclusterd waren op grond van 13 klinisch gevalideerde variabelen voor ernst van ziekte. *TLR4* +896 mutante allelen waren sterk geassocieerd met gehoorsverlies na het doormaken van meningitis. In een multigenanalyse bleek het gecombineerde dragerschap van *TLR2* +2477 wild type met *TLR4* +896 mutante allelen het risico op gehoorsverlies te vergoten. Dragerschap van een of meer mutante allelen van *TLR4* +896 of *TLR9* -1237 vergrootte ook het risico op gehoorsverlies na het doormaken van meningitis.

SNPs in immuunresponsgenen dragen bij aan de vatbaarheid en de klinische ernst alsmede de prognose van BM. De aangeboren eerstelijns afweer speelt een belangrijke rol in de afweer tegen BM en daaraan gerelateerde neuronale en cochleaire schade. Genetische markers kunnen gebruikt worden om hoog risico patiënten te identificeren door voorspelregels te ontwikkelen om het patiëntspecifieke risico op gehoorsverlies en andere lange termijn gevolgen van BM te inventariseren. Daarnaast geeft het meer inzicht in de ingewikkelde immuunrespons in het CZS, hetgeen mogelijk weer resulteert in nieuwe therapeutische strategieën.

*To achieve great things,
Two things are needed:
A plan, and not quite enough time.*

(Bernstein)

