

## Nederlandse samenvatting

Een aanhoudende ontsteking als reactie op ingeademde externe prikkels, zoals bij roken, wordt gezien als een belangrijke kenmerk voor chronisch obstructief longlijden (COPD). Deze ontsteking wordt onderhouden door een continue migratie van witte bloedcellen naar het longweefsel, waarbij speciale extracellulaire signaal eiwitten (cytokines en chemokines) betrokken zijn. Neutrofiële granulocyte is één van die witte bloed cellen die naar het longweefsel migreert en waarvan men denkt dat het daar een rol speelt in weefsel beschadiging. Neutrofiële granulocyten zijn belangrijke cellen voor het immuunsysteem omdat ze het lichaam verdedigen tegen micro-organismen. Ze kunnen namelijk bacteriën onschadelijk maken door ze “op te eten”. Dit “opeten” wordt ook wel fagocytose genoemd. Tijdens fagocytose komen veel schadelijke stoffen vrij die bedoeld zijn voor het vernietigen van de bacteriën. Bij onjuiste productie van deze schadelijke stoffen kunnen deze cellen ook veel schade toebrengen aan weefsels. Daarom bestaat de volledige activatie van deze cellen uit twee stappen. Tijdens de eerste stap worden de cellen in staat van paraatheid gebracht (pre-activatie), waarna een tweede activatie (bijvoorbeeld een infectie) resulteert in fagocytose en productie van toxische stoffen (zie ook Fig. van hoofdstuk 1).

In dit proefschrift is onderzocht of circulerende neutrofiële granulocyten zijn geactiveerd in patiënten met COPD. Neutrofiële granulocyten kunnen na activatie verscheidene nieuwe eiwitten maken, zoals cytokines, chemokines, intracellulaire signaal eiwitten en eiwitten die in de wand van de cel zitten. Dus onderzoek naar de expressie van deze eiwitten kan duidelijk maken of deze cellen geactiveerd zijn. Eventuele expressie patronen zouden meer inzicht kunnen geven door welke stimuli deze cellen zijn geactiveerd. Daarnaast zouden deze expressie patronen ook meer inzicht kunnen geven in de ernst van COPD. Het maken van nieuwe eiwitten gebeurt via de processen transcriptie en translatie. Van het DNA dat als een mal fungeert, wordt een tijdelijke copie gemaakt tijdens het proces transcriptie. Deze tijdelijk copie van een gen wordt messenger RNA genoemd en fungeert weer als mal voor het maken van het desbetreffende eiwit. Dit proces wordt translatie genoemd. Activatie van deze cellen is onderzocht doormiddel van messenger RNA expressie patronen van de neutrofiële granulocyten.

Hoofdstuk 2 toont aan dat neutrofiële granulocyten, gestimuleerd met enkele cytokines, verschillende gen expressie patronen laten zien. Dus aan de hand van deze gen expressie patronen zouden we kunnen bepalen op welke manier neutrofiële granulocyten zijn geactiveerd in COPD patiënten. Inderdaad, de gen expressie patronen van neutrofiële granulocyten van ernstige COPD patiënten vertonen een patroon van activatie die overeenkomt met die van neutrofiële granulocyten geactiveerd met signaal eiwitten zoals  $\text{TNF}\alpha$  of LPS. Deze activatie is significant bij de meer ernstige COPD patiënten en correleert met de ernst van COPD. Uit het gen expressie patroon van neutrofiële granulocyten blijkt dat deze cellen ook cytokines en chemokines kunnen produceren,

waardoor deze cellen naast het aanbrengen van weefselschade ook de ontstekings reactie kan reguleren. Deze regulatie wordt bepaald door een balans van remmende en stimulerende cytokines/chemokines. Het lijkt dat deze balans in cirulerende neutrofiele granulocyten van COPD patiënten is verstoort in het nadeel van remmende cytokines.chemokines. Door deze mindere productie van ontstekings remmende cytokines zouden neutrofiele granulocyten een rol kunnen spelen bij de handhaving van de ontsteking. Verder blijkt dat naast deze verhoogde activatie van neutrofiele granulocyten, de activatie variabel is binnen een patiënt (Hoofdstuk 4). Dit is vooral zichtbaar bij een acute aanval (exacerbatie) van COPD (Hoofdstuk 3). Hierbij verandert het gen expressie patroon van neutrofiele granulocyten vergeleken met de meer stabiele periode. In plaats van een verhoogde activatie tijdens de meer stabiele periode van COPD, lijken de neutrofiele granulocyten weer vrij normaal tijdens een exacerbatie. Een verklaring kan zijn dat de geactiveerde neutrofiele granulocyten migreren naar de luchtwegen door hyperactivatie, terwijl de cellen die achterblijven in het bloed bestaan uit niet geactiveerde cellen of uit net geproduceerde cellen door het beenmerg. Het is bewezen door andere studies dat de instroom van neutrofiele granulocyten, maar ook dat van andere witte bloed cellen, toeneemt tijdens een exacerbatie van COPD. Verder is het waarschijnlijk dat hyperactivatie van neutrofiele granulocyten vooral in ernstige COPD patiënten, die al een lage longfunctie hebben, leidt tot een verdere daling in longfunctie. Deze daling in longfunctie zal dan eerder tot ernstige klachten lijden of te wel resulteren in een exacerbatie, terwijl bij een mildere COPD patiënt, deze daling in longfunctie nog niet zal resulteren in ernstige klinische symptomen of een exacerbatie. Dus het volgen van de activatie van neutrofiele granulocyten kan helpen bij een beter diagnose van een exacerbatie en kan leiden tot een betere afstemming van het toedienen van medicatie.

Verder hebben we de activatie van intracellulaire signaal eiwitten door cytokines en chemokines in granulocyten vergeleken met de functie van deze cellen. Cytokines en chemokines activeren beide de intracellulaire signaal eiwitten, Src kinases, die op hun beurt een ander signaal eiwit, Protein Kinase B (PKB) kunnen activeren (Hoofdstuk 5). Activatie van Src kinases door cytokines en chemokines spelen een belangrijke rol in het functioneren van neutrofiele granulocyten. Cytokines en chemokines reguleren de overleving van neutrofiele granulocyten en zijn belangrijk voor het maken van schadelijke stoffen zoals zuurstof radicalen. Een ander intracellulair signaal eiwit, Rac, wordt ook geactiveerd door chemokines, maar niet door cytokines. In Hoofdstuk 6 hebben we gevonden dat activatie van Rac resulteert in een verandering in binding van een extracellulair signaal eiwit, IgA. Het is bekend dat binding van IgA resulteert in fagocytose en productie van toxische stoffen door deze cellen. Dus activatie van Rac maakt de cel veel gevoeliger voor IgA oftewel Rac pre-activeert de cel zodat IgA de cel volledig kan activeren.

Verder is er in samenwerking met het Academisch Medisch Centrum te Amsteram een nieuwe techniek ontwikkeld om op een snelle en eenvoudige manier de activatie van

intracellulaire signaal eiwitten te kunnen meten (Hoofdstuk 7). Door deze techniek is het een stuk eenvoudiger om veel patiënten te screenen op de activatie van intracellulaire signaal eiwitten. De combinatie van de activatie van intracellulaire signaal eiwitten en de gen expressie patronen zou een nog beter inzicht kunnen geven op welke manier cellen zijn geactiveerd.

Samenvattend kan gezegd worden dat naast een beter inzicht in de rol van deze cellen in abnormale ontstekings reacties, zoals die zich afspeelt bij COPD, het ook belangrijk is om het onderliggende mechanisme van activatie van granulocyten te begrijpen. Aan de hand van deze informatie kunnen nieuwe specifieke remmers worden ontwikkeld, die eventuele weefsel schade zouden kunnen voorkomen.