

In vitro activatie van monocyten van zwangere vrouwen door verschillende typen bacteriële lipopolysacchariden leiden tot veranderingen in de immuunrespons

Gepubliceerd: 11-12-2008 Laatste bijgewerkt: 06-05-2024

Doel van deze studie is met behulp van sonicaten van verschillende soorten mondbacteriën en geïsoleerd LPS (als in vitro ontstekings-stimuli) inzicht te krijgen in cytokine-productie en expressie van toll-like receptoren op monocyten in...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestopt
Type aandoening	Bacteriële infectieziekten
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON32389

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

Veranderde immuunrespons op orale bacteriën tijdens de zwangerschap

Aandoening

- Bacteriële infectieziekten
- Complicaties bij de moeder tijdens de zwangerschap

Synoniemen aandoening

afweerreactie tijdens de zwangerschap, immuunreactie

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Universitair Medisch Centrum Groningen

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: Immuunrespons, Monocyten, Orale micro-organismen, Paropathogene bacteriën, Zwangerschap

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

Expressie van toll-like receptoren op monocyten tijdens de zwangerschap.

Cytokine-productie van monocyten tijdens de zwangerschap na stimulering met sonicaten van verschillende orale pathogene micro-organismen en LPS van *E. coli* en *P. gingivalis*.

Secundaire uitkomstmaten

Niet van toepassing

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Uit de literatuur blijkt dat er een relatie bestaat tussen zwangerschapscomplicaties en aanwezigheid van een infectie bij de moeder tijdens de zwangerschap. Een voorbeeld hiervan is de aangetoonde associatie tussen vaginose en vroeggeboorte. Er is groeiend bewijs dat parodontitis tijdens de zwangerschap een risicofactor is voor het ontwikkelen van zwangerschapscomplicaties zoals vroeggeboorte en pre-eclampsie. Parodontitis is een ernstige en destructieve ontsteking van de omliggende weefsels van de gebitselementen, veroorzaakt door een vnl. uit gram-negatieve bacteriën bestaande mengflora. Hoewel er meer dan 500 bacteriesoorten in de mondholte geïdentificeerd zijn, blijkt de aanwezigheid van slechts een kleine selecte groep paropathogene bacteriën, zoals *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Micromonas micros* en *Porphyromonas gingivalis*, een rol te spelen bij het ontstaan van parodontitis. Gram-negatieve bacteriën bevatten lipopolysacchariden (LPS) in hun celwand die

het immuunsysteem aanzetten tot productie van pro-inflammatoire cytokines, zoals IL-1 en TNF- α . Met name *P. gingivalis* is in staat tot productie van grote hoeveelheden LPS. Er is in toenemende mate aandacht voor de rol van LPS op de immuunrespons tijdens de zwangerschap. In het verleden is al aangetoond dat infusie van LPS van de enterobacterie *E. coli* in een extreem lage dosis resulteert in een pre-eclampsisch syndroom in de zwangere rat, gekenmerkt door o.a. hypertensie en proteïnurie. Dit syndroom is specifiek voor de zwangerschap: op identieke wijze behandelde niet-zwangere ratten vertonen deze symptomen niet. Dit geeft aan dat zwangere ratten veel gevoeliger zijn voor LPS dan niet-zwangere ratten.

In onze recent uitgevoerde ratstudie **The effect of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharides in pregnant rats: a pilot study** hebben wij bovengenoemd onderzoek herhaald met LPS van *P. gingivalis* om een eventuele rol van deze lipopolysacchariden in de pathogenese van pre-eclampsie nader te onderzoeken. De resultaten van onze studie laten zien dat LPS van *P. gingivalis* leidt tot groeivertraging van de placenta en de foetus, en ook leidt tot hypertensie, maar niet een echt pre-eclampsisch syndroom in de zwangere rat induceert. LPS van verschillende soorten bacteriën lijken dus verschillende effecten op de zwangerschap hebben. Of voor deze soort LPS ook geldt dat zwangere ratten gevoeliger zijn voor LPS dan niet-zwangere ratten, moet nog blijken uit een vervolgstudie.

Het immuunsysteem herkent LPS van verschillende bacteriesoorten met behulp van specifieke patroon-herkenningsmechanismen (de zgn. toll-like receptoren) op de celwand van monocytën. Tot nu toe zijn 13 verschillende toll-like receptoren geïdentificeerd, waarvan TLR-4 en TLR-2 het meest bestudeerd zijn. TLR-4 herkent LPS van veel gram-negatieve bacteriën, o.a. dat van *E. coli*. TLR-2 herkent vooral peptidoglycaan van gram-positieve bacteriën, maar recente onderzoeken laten echter zien dat het LPS van de gram-negatieve bacterie *P. gingivalis* TLR-2 activeert en niet TLR-4. Dit laatste gegeven zou kunnen worden verklaard door het feit dat de chemische structuur van het lipide A van het LPS van *P. gingivalis* afwijkend is van dat van LPS van *E. coli*. Activatie van een specifieke toll-like receptor zal de monocyt aanzetten tot een gemoduleerde immuunrespons. Activatie van TLR-4 leidt tot productie van cytokines die de cellulaire immuunrespons stimuleren, de zg Th1 cytokines. Voorbeelden hiervan zijn IL-1, IL-6 en TNF- α . De activatie van TLR-2 leidt tot de productie van cytokines die een humorale immuunrespons stimuleren, de zg Th2-immuunrespons. Voorbeelden hiervan zijn PGE2, IL-4, IL-5, IL-10 en IL-13. Een Th2-respons lijkt een voorwaarde te zijn voor een succesvolle zwangerschap. Volgens de huidige theorieën zou de Th1-/Th2-ratio tijdens de zwangerschap veranderd zijn ten gunste van de Th2-cytokines. Men denkt dan ook dat Th1-immuniteit niet compatibel is met zwangerschap. Een pathologische zwangerschap, zoals bv pre-eclampsie, is dan ook geassocieerd met een shift in Th1-Th2 ratio richting Th1. Hoe de shift richting Th1 tijdens pre-eclampsia bewerkstelligd wordt is nog onbekend. Wellicht speelt de activatie van verschillende toll-like receptoren (als gevolg van een door een paropathogene mengflora veroorzaakte infectie, zoals bv parodontitis) een rol in het activeren van verschillende immunologische reacties. Uit onze proefdier-experimenten zouden we kunnen

concluderen dat LPS van gram-negatieve bacteriën die TLR-4 activeren pre-eclampsie-achtige verschijnselen (hypertensie en proteïnurie) opwekken, terwijl LPS van gram-negatieve bacteriën die TLR-2 activeren, alleen hypertensie en groeivertraging induceren. Het huidige project is er dan ook op gericht om te toetsen of de expressie van TLR-4 and TLR-2 op monocytën verandert tijdens de zwangerschap. Daarnaast willen we bestuderen of verschillende soorten LPS van verschillende gram-negatieve bacteriën (zoals *E. coli* en *P. gingivalis*) monocytën stimuleren tot productie van Th1 of Th2 cytokines. Gezien de verhoogde gevoeligheid van zwangere individuen voor LPS, willen we ook bestuderen of de cytokine-productie van monocytën na stimulatie met verschillende soorten LPS verandert tijdens de zwangerschap.

Doel van het onderzoek

Doel van deze studie is met behulp van sonicaten van verschillende soorten mondbacteriën en geïsoleerd LPS (als in vitro ontstekings-stimuli) inzicht te krijgen in cytokine-productie en expressie van toll-like receptoren op monocytën in bloedmonsters van zwangere en niet-zwangere vrouwen.

Onderzoeksopzet

Bij 20 zwangeren zullen bij routine-bloedafname bij 30 weken zwangerschap twee buisjes bloed worden afgenomen. Bij 20 age-matched, niet-zwangere controles zullen twee buisjes bloed worden afgenomen in de folliculaire fase van de menstruele cyclus. Van beide groepen (zwangeren en niet-zwangeren) zal in volbloed (ongestimuleerd) mbt fluoriserende antilichamen gekeken worden naar de expressie van TLR-2 en TLR-4 op de monocyt. Het aantal monocytën dat deze TLR*s tot expressie brengt en de dichtheid van de expressie zal worden gemeten met behulp van flow cytometrie. Voor het bepalen van de cytokine-productie van zwangere en niet-zwangere monocytën zullen de bloedmonsters in vitro worden gestimuleerd met sonicaten van verschillende soorten orale paropathogene bacteriën en verschillende doseringen LPS van *E. coli* en *P. gingivalis*. Na stimulatie zal de productie van verschillende soorten cytokines (zoals oa IL-1 beta, IL-6, IL-10, IL-13, IL-18 en TNF-alfa) gemeten worden (flow cytometrie/ ELISA). Ook zal gekeken worden naar recent ontdekte, nieuwe interleukines IL-23 en IL-27 (IL-12 familie) die geassocieerd worden met een Th1-immuunrespons en een verstoorde placentaire implantatie.

Inschatting van belasting en risico

Voor de bloedbepalingen zal gebruik worden gemaakt van tijdens de zwangerschap afgenomen bloedmonsters (routine-bloedmonsters bij 30 weken zwangerschap). Voor dit doel zullen bij de routine-bloedafname twee buisjes extra buisje bloed worden afgenomen. Aan de controles zal worden gevraagd om éénmalig twee buisjes bloed af te staan in de folliculaire fase. Om ernstige parodontitis en de aanwezigheid van orale pathogene micro-organismen uit te sluiten zal bij alle

deelnemers een snelle screening van het tandvlees (met behulp van de DPSI-score) worden uitgevoerd en zullen subgingivale plaque-samples worden afgenomen. Het vaststellen van de DPSI-score en het afnemen van de plaque-samples brengen geen risico's met zich mee.

Contactpersonen

Publiek

Universitair Medisch Centrum Groningen

A. Deusinglaan 1
9713 AV Groningen
Nederland

Wetenschappelijk

Universitair Medisch Centrum Groningen

A. Deusinglaan 1
9713 AV Groningen
Nederland

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)
65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

Leeftijd < 40 jaar

Kaukasisch ras

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Meerling-zwangerschap
Groeivertraling van de foetus
Hypertensie
Chronische ziekten
Leeftijd > 40 jaar
Roken
Griep of koorts twee weken voorafgaande aan de bloedafname
Ernstige parodontitis
Aanwezigheid van P. gingivalis

Onderzoeksopzet

Opzet

Type:	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen
Onderzoeksmodel:	Anders
Toewijzing:	Niet-gerandomiseerd
Blinding:	Open / niet geblindeerd
Controle:	Geneesmiddel
Doel:	Algemeen wetenschappelijk

Deelname

Nederland	
Status:	Werving gestopt
(Verwachte) startdatum:	01-09-2008
Aantal proefpersonen:	40
Type:	Verwachte startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO

Soort: Eerste indiening
Toetsingscommissie: METC Universitair Medisch Centrum Groningen (Groningen)

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL23423.042.08