

Rol en effect van amyloïde eiwitten op NET-vorming in het centrale zenuwstelsel

Gepubliceerd: 17-07-2023 Laatste bijgewerkt: 08-04-2024

In dit onderzoeksvoorstel willen we chemische reportermoleculen ontwikkelen om neutrofiële activiteit en NET-vorming in realtime te bestuderen. We zullen systematisch het effect van hersengeassocieerde amyloïde fibrillen op NET-vorming bestuderen en...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving nog niet gestart
Type aandoening	Auto-immuunziekten
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON53562

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

NETs

Aandoening

- Auto-immuunziekten
- Centraal zenuwstelsel infecties en ontstekingen

Synoniemen aandoening

Neurodegeneratie, neuronale toxiciteit

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Radboud Universiteit Nijmegen

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: Amyloïde eiwitten, Immuunsysteem, NETose, Neutrofielen

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

De gegevens die zijn verkregen uit in vitro-experimenten zullen het resultaat van het onderzoek zijn.

Secundaire uitkomstmaten

Niet van toepassing.

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Neutrofielen worden actief geworven als eerstehulpverleners op plaatsen van infecties en beschermen ons lichaam tegen infiltratie van schadelijke pathogenen. Na stimulatie ondergaan neutrofielen een specifiek celdoodmechanisme genaamd NETosis, wat een kritische aangeboren immuunrespons is die wordt gekenmerkt door ROS-productie en de afgifte van chromatine versierd met antimicrobiële peptiden en serineproteasen, vergezeld van verschillende pro-inflammatoire en immunostimulerende moleculen. Hoewel tot 60% van ons circulerend bloed uit neutrofielen bestaat, zijn ze bij gezonde personen vrijwel afwezig in het centrale zenuwstelsel. Onlangs is echter ontdekt dat neutrofielen de anders beschermende bloed-hersenbarrière kunnen passeren en onze hersenen kunnen binnendringen onder specifieke neuropathologische aandoeningen zoals de ziekte van Alzheimer (AD), multiple sclerose (MS), amyotrofische laterale sclerose (ALS) en de ziekte van Parkinson. (PD).

In overeenstemming met de aanwezigheid van neutrofielen in de zieke hersenen, wordt het steeds duidelijker dat bacteriële infecties kunnen bijdragen aan het ontstaan **van verschillende neurologische pathologieën in de ontwikkeling. Chronische parodontale infectie werd bijvoorbeeld in verband gebracht als een mogelijke oorzaak van de ziekte van Alzheimer en *Porphyromonas gingivalis* werd onlangs geïdentificeerd als een keystone-pathogeen. Hier werd een positieve correlatie gevonden tussen bacteriële infectie en de vorming van A β -plaques, een kenmerkend kenmerk van AD en waarvan recentelijk is vastgesteld dat het antimicrobiële eigenschappen heeft. In overeenstemming met hun rol in

aangeboren immuniteit, werden neutrofielen ook gevonden in de omgeving van A β -afzettingen en de verminderde corticale bloedstroom die vaak wordt waargenomen bij AD-patiënten werd toegeschreven aan neutrofielenadhesie in hersencapillairen. Op een vergelijkbare manier werden neutrofielen en neutrofiele extracellulaire vallen (NET's) ook gevonden in de cerebrospinale vloeistof van patiënten met andere neurodegeneratieve ziekten zoals MS.

Naast het momenteel geaccepteerde mechanisme van microbiële-geïnduceerde neutrofielactivering en NET-vorming, werd onlangs aangetoond dat amyloïdefibrillen zelf uit drie verschillende eiwitbronnen (bijv. α -synucleïne, Sup35 en transthyretine) ook in vitro NET-vorming induceerden. De begeleidende afgifte van NET-geassocieerde proteasen degradeerde de amyloïde fibrillen verder tot kortere peptideproducten die verhoogde toxiciteit voor lever- en niercellen vertoonden. Vanwege de betrokken celbeschadigende processen is het verleidelijk om te speculeren dat door amyloïde geïnduceerde NETosis bijdraagt **aan neurotoxiciteit. De in vivo pathogene relevantie van de aanwezigheid van neutrofielen in hersenweefsel en het effect van de bijbehorende NET's op neuronale cellen en ziekteprogressie is echter nog niet systematisch onderzocht.

Doel van het onderzoek

In dit onderzoeksvoorstel willen we chemische reportermoleculen ontwikkelen om neutrofiele activiteit en NET-vorming in realtime te bestuderen. We zullen systematisch het effect van hersengeassocieerde amyloïde fibrillen op NET-vorming bestuderen en het effect van de begeleidende secretiemoleculen op neuronale activatie en synapsgroei in vitro en in vivo onderzoeken. De specifieke doelstellingen zijn als volgt:

1. Ontwikkeling van moleculaire reporters en op activiteit gebaseerde sondes om NET's in vitro en in vivo te bestuderen en te identificeren.
2. Evalueer de infiltratie en activering van neutrofielen bij neurodegeneratieve aandoeningen met behulp van immunokleuring en op activiteit gebaseerde sondes.
3. Evalueer het effect van amyloïden en aggregaten op NET-vorming op geïsoleerde neutrofielen in vitro.
4. Evalueer het effect en de toxiciteit van NET's op neuroncellen.

Onderzoeksopzet

Om neutrofielen en NET-vorming in vitro en in vivo te bestuderen, zullen we activity-based probes (ABP) ontwikkelen voor een reeks eiwitten die specifiek worden uitgescheiden door neutrofielen tijdens NETosis, namelijk neutrofiel elastase (NE), cathepsin G (CatG), Peptidyl Arginine Deiminase (PAD) en Myeloperoxidase (MPO). De bereide sondes zullen eerst worden geëvalueerd op hun geschiktheid om enzymactiviteit tijdens NETosis op neutrofielen te detecteren.

Het proces van NETose kan worden gestart door verschillende triggers en verlopen via een NADPH-oxidase-afhankelijke en een NADPH-oxidase-onafhankelijke route. Beide routes resulteren in NET's met een unieke moleculaire samenstelling en het is daarom interessant om het effect van amyloïde-geïnduceerde NETose in meer detail te onderzoeken. Hier willen we onderzoeken of amyloïde-eiwitten van verschillende structuur en grootte neutrofielen activeren en NETosis induceren. We zullen verschillende conformaties van amyloïde genereren, variërend van monomeren tot oligomeren en fibrillen met behulp van gevestigde protocollen, en deze in vitro met neutrofielen incuberen. Activering zal worden gekwantificeerd met behulp van de op activiteit gebaseerde sondes en door NETosis

Neutrofielen zijn van zeer korte duur (ongeveer 1 dag) en moeten daarom worden geïsoleerd uit vers bloedmonsters. Bloedmonsters (10-40 ml) worden afgenomen via venapunctie in het RadboudUMC in EDTA-antistollingsbuisjes na ondertekende geïnformeerde toestemming. De exacte hoeveelheid hangt af van de aard van het geplande experiment en het aantal neutrofielen en is nodig om het uit te voeren. Donoren zullen niet in de loop van de tijd worden gevolgd of worden onderworpen aan andere procedures dan het doneren van bloed. Dit onderzoek zal geen bevindingen opleveren die stressvol of klinisch relevant kunnen zijn voor de donoren, aangezien de enige klinische parameter die zal worden gecontroleerd het celgetal is.

Neutrofielen zullen worden geïsoleerd uit het gedoneerde bloed volgens de standaard operationele procedures (SOP) en daaropvolgende in vitro-experimenten zullen worden uitgevoerd op de dag van donatie. Nadat de experimenten zijn voltooid, worden alle materialen weggegooid; biomaterialen die bij dit onderzoek betrokken zijn, worden niet opgeslagen.

Inschatting van belasting en risico

Risico en lasten: risico is verwaarloosbaar en de last is minimaal. De meest voorkomende risico's die verband houden met bloeddonatie uit de arm van de proefpersoon zijn korte pijn en/of blauwe plekken. Infectie, overmatig bloeden, stolling of flauwvallen zijn ook mogelijk, maar onwaarschijnlijk.

Voordelen: er is geen ander voordeel dan een waardebon van 15€ voor Bol.com. Deelname van het onderwerp zal de onderzoekers echter helpen om kennis op te doen.

Contactpersonen

Publiek

Radboud Universiteit Nijmegen

Heyendaalseweg 135
Nijmegen 6525 AJ
NL

Wetenschappelijk

Radboud Universiteit Nijmegen

Heyendaalseweg 135
Nijmegen 6525 AJ
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

Gezonde donoren tussen 18 en 64 jaar oud. Andere specifieke inclusiecriteria zoals geslacht en etnische achtergrond zijn onbelangrijk.

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Donoren die niet gezond zijn of zich niet lekker voelen, of mensen die ouder dan 64 of jonger dan 18 zijn.

Onderzoeksopzet

Opzet

Type: Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Blinding: Open / niet geblindeerd

Controle: Geen controle groep

Doel: Algemeen wetenschappelijk

Deelname

Nederland

Status: Werving nog niet gestart

(Verwachte) startdatum: 01-06-2023

Aantal proefpersonen: 40

Type: Verwachte startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO

Datum: 17-07-2023

Soort: Eerste indiening

Toetsingscommissie: CMO regio Arnhem-Nijmegen (Nijmegen)

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

CCMO

ID

NL82453.091.23