

Het effect van N1-N2 neutrofielen op bot en kraakbeen regeneratie

Gepubliceerd: 21-05-2024 Laatste bijgewerkt: 02-12-2024

Het doel van deze studie is het onderzoeken van de kenmerkende oppervlaktebiomarkers en cytokines die worden aangetroffen in het medium van N1- en N2-neutrofielen. Bovendien heeft deze studie tot doel de verschillende effecten van N1- en N2-...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestart
Type aandoening	Botafwijkingen (excl. congenitaal en breuken)
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON56745

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

Neutrofielen en bot- en kraakbeenregeneratie

Aandoening

- Botafwijkingen (excl. congenitaal en breuken)

Synoniemen aandoening

Fractuur genezing, kraakbeen schade

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Medisch Universitair Ziekenhuis Maastricht

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: Botregeneratie, Kraakbeenregeneratie, Neutrofielen

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

De primaire uitkomstmaat van deze studie is het onderzoeken van de specifieke oppervlaktebiomarkers en cytokines die aanwezig zijn in het medium van de N1- en N2-neutrofielen middels ELISA en flowcytometrie. Verder zal het effect van deze neutrofielen op de osteogenese en chondrogenese worden onderzocht middels prestoblaauw kleuring, ALP-activiteit, qPCR, alizarinerood- en alcianblauwkleuring.

Secundaire uitkomstmaten

Een secundaire uitkomstmaat is het onderzoeken van de metabolieten geproduceerd door N1- en N2-neutrofielen en de ruimtelijke distributie hiervan middels MALDI-MSI.

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

60-70% van de witte bloedcellen zijn neutrofielen. Ze spelen een cruciale rol in het aangeboren immuunsysteem. Neutrofielen fungeren als frontlinieverdedigers tegen PAMPs en DAMPs en migreren naar ontstekingsplaatsen door vervorming, adhesie, infiltratie en migratie. Verder voeren neutrofielen essentiële functies uit via verschillende mechanismen, zoals de vorming van NET's en de productie van cytokinen en granulaire eiwitten.

Fridlender et al. beschreef twee soorten neutrofielen, N1 pro-inflammatoire en N2 anti-inflammatoire neutrofielen, gelijkend op M1 en M2 macrofaag fenotypes. De N1/N2 neutrofielen zijn onderzocht in meerdere specialismes. Voortbouwend op de inzichten van Fridlender et al., ontwikkelde Ohms et al. een protocol om menselijke neutrofielen in vitro te polariseren in N1- en N2-fenotypes. Hierdoor werd verdere verkenning van de kenmerken van N1- en N2-neutrofielen mogelijk gemaakt. In daaropvolgende onderzoeken hebben onderzoekers vergelijkbare methoden gebruikt om verschillende neutrofiele fenotypes te identificeren op basis van biomarkers. Subsets van neutrofielen, aangeduid als

N1 (gekaracteriseerd door CD54 en CD95) en N2 (gedefinieerd door CD182), werden hierbij onderzocht.

Bot- en kraakbeengenezing is een proces waarbij de actieve deelname van neutrofielen betrokken is. De vele rollen van neutrofielen bij botregeneratie omvatten diverse mechanismen, zoals de vorming van NET's, angiogenese, invloed op de extracellulaire matrix en interactie met macrofagen. Echter is er een gebrek aan onderzoeken die de uiteenlopende effecten van neutrofielen koppelen aan N1/N2-neutrofielenfenotypes. Cai et al. hebben de rol van N2-neutrofielen bij de genezing van muizenbotten aangetoond. Het blijft echter onduidelijk of N1- en N2-neutrofielenfenotypes kunnen worden toegeschreven aan de diverse rollen die worden waargenomen bij menselijke botregeneratie. Bovendien is de herkenning van N1- en N2-neutrofielen erg complex op het gebied van kraakbeenregeneratie.

In deze studie gebruiken we de polarisatie van N1- en N2-neutrofielen om potentiële differentiële effecten op de osteogene differentiatie van menselijke mesenchymale stamcellen en de chondrogenese te onderzoeken. Onze hypothese is dat N1-neutrofielen deze processen remmen, terwijl N2-neutrofielen zowel osteogenese als chondrogenese bevorderen.

Doel van het onderzoek

Het doel van deze studie is het onderzoeken van de kenmerkende oppervlaktebiomarkers en cytokines die worden aangetroffen in het medium van N1- en N2-neutrofielen. Bovendien heeft deze studie tot doel de verschillende effecten van N1- en N2-neutrofielen op bot- en kraakbeenregeneratie te onderzoeken. We veronderstellen dat N1-neutrofielen ontstekings eigenschappen vertonen (verhoogde niveaus van CD54, CD95, Tumor Necrosis Factor α (TNF- α), IL-8, Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1)), wat leidt tot de remming van bot- en kraakbeenregeneratie. Omgekeerd verwachten we dat N2-neutrofielen ontstekingsremmende eigenschappen vertonen (verhoogde niveaus van CD182, SDF-1 α), waardoor bot- en kraakbeenregeneratie wordt bevorderd.

Onderzoeksopzet

De studie is opgezet als in vitro studie waarbij vers humaan bloed wordt gebruikt. Het bloed zal worden afgenomen van gezonde vrijwilligers door middel van venapunctie.

Neutrofielen zullen in het laboratorium uit het donorbloed worden geïsoleerd en in vitro worden gestimuleerd met behulp van een gespecialiseerd kweekmedium. Na stimulatie zullen de neutrofielen waarvan wordt verwacht dat ze de N0-, N1- en N2-fenotypes vertonen, worden onderzocht met behulp van flowcytometrie en ELISA. Vervolgens worden deze gebruikt om BMSC's of chondrocyten te stimuleren. De osteogene en chondrogene capaciteit van respectievelijk BMSCs en chondrocyten wordt nadien geanalyseerd. Ten laatste zullen de N0-, N1- en N2-neutrofielen kunstmatig worden gehecht aan objectglaasjes voor MALDI-MSI, om

de unieke metabolieten en hun ruimtelijke verdeling geassocieerd met de N0-, N1- en N2-fenotypes te analyseren.

Inschatting van belasting en risico

The bloedafname wordt verricht door, voor bloedafname, gekwalificeerd personeel van het Azm of de UM. Een enkele bloedafname van 10ml is een kleine invasieve procedure waarbij geen nadelige gevolgen worden verwacht. Deelnemers hoeven voorafgaand aan bloedafname niet nuchter te zijn. Deelnemers hebben geen voordelen van deelname aan de studie. Wel verwachten we dat deze studie bijdraagt aan nieuwe inzichten in de fractuur- en kraakbeengenezing, waardoor patiënten in de toekomst mogelijk voordelen van deze studie ervaren.

Contactpersonen

Publiek

Medisch Universitair Ziekenhuis Maastricht

P. debyelaan 25
Maastricht 6229 HX
NL

Wetenschappelijk

Medisch Universitair Ziekenhuis Maastricht

P. debyelaan 25
Maastricht 6229 HX
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 mannen en vrouwen, leeftijd >18 jaar.
Getekend toestemmingsformulier voor deelname in de studie.

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Actieve infectie, zoals: Verkoudheid, griepklachten, keelpijn, koortslip,
gastrointestinale infecties, overige infecties
Een tattoo of piercing binnen de afgelopen 6 maanden
Kleine mond/kaak chirurgie in de afgelopen 24 uur, of een grote operatie binnen
één maand.
Recente anemie
Recente reis naar een land waar mug-overdraagbare infecties bestaan, zoals
malaria, dengue en zika.
HIV positieve deelnemers
Intraveneus drugsgebruik
Zwangerschap en borstvoeding
Maligniteit in de voorgeschiedenis.

Onderzoeksopzet

Opzet

Type: Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Blinding: Open / niet geblindeerd

Controle: Geen controle groep

Doel: Algemeen wetenschappelijk

Deelname

Nederland

Status: Werving gestart

(Verwachte) startdatum: 01-07-2024

Aantal proefpersonen: 20

Type:

Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO

Datum:

21-05-2024

Soort:

Eerste indiening

Toetsingscommissie:

METC academisch ziekenhuis Maastricht/Universiteit
Maastricht, METC azM/UM (Maastricht)

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

NL86025.068.24