



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

β 2-glycoprotein I in innate immunity

Ağar, C.

Publication date
2011

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Ağar, C. (2011). *β 2-glycoprotein I in innate immunity*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

CHAPTER

8

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Çetin Ađar



INLEIDING

Ondanks dat we dagelijks in contact komen met bacteriën, virussen en parasieten, wordt een gezond mens nauwelijks ziek. Dit hebben we mede te danken aan ons afweersysteem, dat binnengedrongen bacteriën of virussen onschadelijk maakt. Naast de bovenstaande ziektemakers helpt ons afweersysteem ook afvalstoffen en kankercellen op te ruimen. Ons afweersysteem is bedoeld om lichaamsvreemde stoffen aan te vallen, maar soms gaat het fout en spreken we over een auto-immuunziekte. Het afweersysteem gaat dan lichaamseigen cellen en stoffen als lichaamsvreemd zien en valt deze dan ook aan. Voorbeelden van auto-immuunziekten zijn reuma, multiple sclerose, psoriasis, coeliakie en diabetes. Bij zo'n auto-immuunziekte worden antistoffen gemaakt tegen de eigen weefsels. Een antistof is opgebouwd uit biologische moleculen dat in ons lichaam wordt geproduceerd als reactie op stoffen die ons afweersysteem activeren. Wanneer zo'n antistof dan bind aan een lichaamsvreemde of lichaamseigen stofje, wordt deze opgeruimd, waarbij dus dit in het geval van een bacterie positief is, maar bij een auto-immuunziekte juist ten nadele van ons is.

Eén van de ziektes die ook tot de auto-immuunziekten wordt gerekend is het antifosfolipiden syndroom. Dit syndroom komt vooral voor bij jonge vrouwen, 8 op de 10 is vrouw, en de verschijnselen zijn trombose, het verliezen van de foetus en herhaalde miskramen. Het antifosfolipiden syndroom kenmerkt zich door de aanwezigheid van antistoffen tegen vooral het lichaamseigen eiwit beta 2 glycoproteïne 1 (afgekort als β_2 GPI). Wanneer de antistoffen het eiwit β_2 GPI in het bloed tegenkomen binden ze eraan en dit resulteert dan in de bovenstaande verschijnselen. Hoewel eiwitten essentieel zijn voor ons bestaan is er in de laatste 40 jaar geen overtuigende functie aan β_2 GPI gekoppeld (inleiding hoofdstuk 1).

DOEL

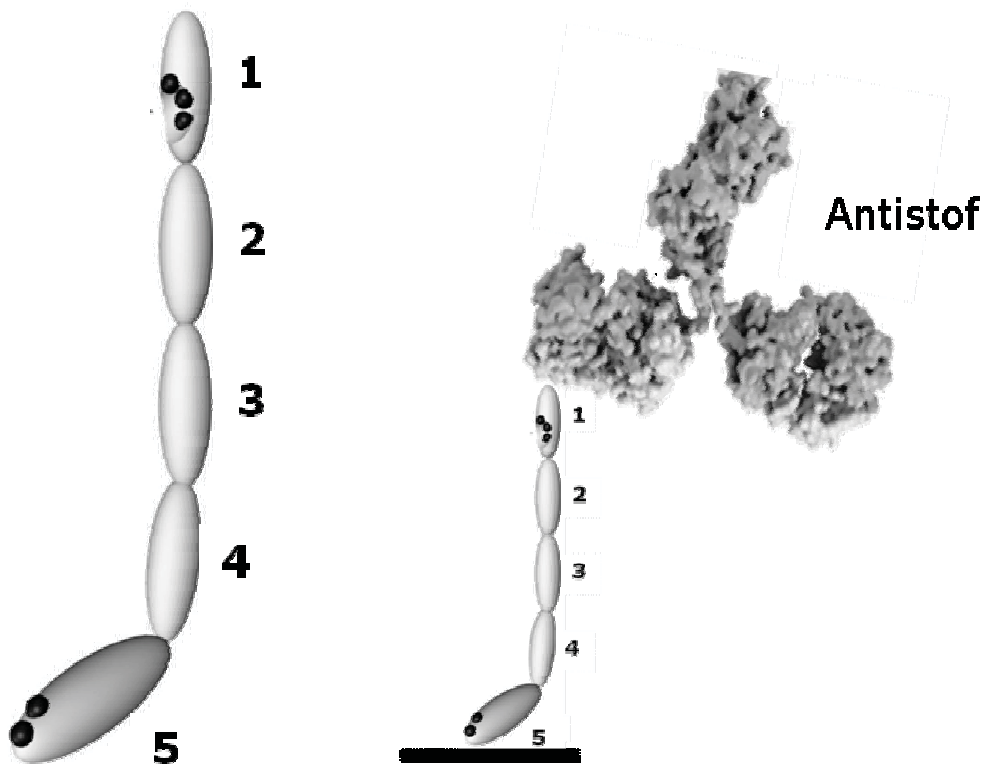
Mijn promotieonderzoek van de afgelopen 4 jaar heeft als voornaamste doel gehad om een functie voor dit eiwit te vinden. Daarnaast hebben we ook gekeken waarom er antistoffen tegen het lichaamseigen eiwit β_2 GPI gemaakt worden en hoe deze antistoffen het antifosfolipiden syndroom kunnen veroorzaken.

BEVINDINGEN

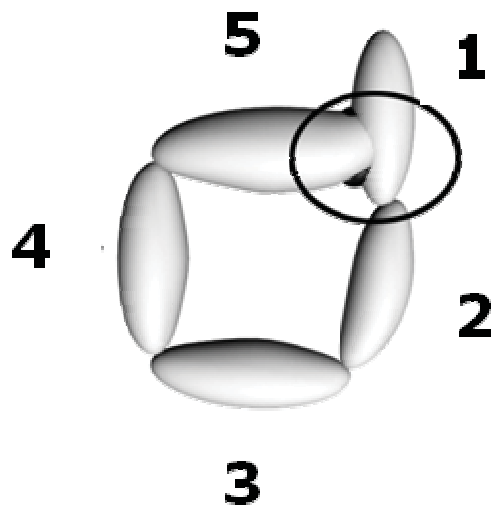
De andere benaming voor het eiwit β_2 GPI is apolipoproteïne H. Een apolipoproteïne is onderdeel van een lipoproteïne, zoals LDL en HDL, beter bekend als respectievelijk het slechte en het goede cholesterol. Het goede cholesterol, HDL, heeft naast zijn functie in de vethuishouding van ons lichaam ook een functie in ons afweersysteem, waarbij het helpt om afbraakproducten van bacteriën op te ruimen. Onze theorie was dat als β_2 GPI een onderdeel van HDL zou zijn, het misschien óók een beschermende rol zou kunnen spelen in ons afweersysteem. Voordat we konden aantonen dat β_2 GPI een beschermende functie zou hebben tezamen met HDL, moesten we eerst aantonen dat er inderdaad een interactie bestond tussen het HDL en β_2 GPI. Uit ons onderzoek bleek dat, met de verschillende technieken die we in het laboratorium gebruiken, β_2 GPI geen onderdeel was van HDL en ook niet van andere lipoproteïnes (hoofdstuk 2). De naam apolipoproteïne zou dus niet zomaar gebruikt mogen worden voor het eiwit β_2 GPI. Dit is zeker van belang voor wetenschappers die in het veld van vetten en cholesterol hun onderzoek uitvoeren. Daarnaast toont het aan dat resultaten uit het verleden niet zomaar blindelings overgenomen dienen te worden.

In ons onderzoek hebben we naast het zoeken naar een nieuwe functie voor β_2 GPI ook gekeken naar de structuur en opbouw van het eiwit β_2 GPI. Om het antifosfolipiden syndroom te constateren bij

mogelijke patiënten moeten er experimenten uitgevoerd worden in diagnostisch laboratorium. Wanneer er gekeken werd naar de resultaten van de verschillende experimenten waren er tegenstrijdigheden in de uitkomsten. De manier hoe een experiment werd uitgevoerd, bepaalde de uitkomst van de diagnose van de patiënt. Een theoretische reden hiervoor was de vorm van het eiwit. In de literatuur werd het eiwit β_2 GPI beschreven als een hockeystick. Opgebouwd uit 4 aan elkaar vastzittende langgerekte bollen en een 5^{de} langgerekte bol die in een hoek vastzat aan de andere 4; het uiteinde van een hockeystick (zie plaatje links hieronder). Het eiwit β_2 GPI bindt aan oppervlakken via bolletje 5, waarna antistoffen dan kunnen binden aan de andere uiteinde, bolletje 1. Dit complex van β_2 GPI gebonden aan het oppervlak met een antistof eraan veroorzaakt de verschijnselen van het antifosfolipiden syndroom. (zie plaatje rechts hieronder).



Tot onze verbazing zag het eiwit β_2 GPI onder een zeer sterke microscoop er niet uit als een hockeystick, maar als een soort ronde donut (voor de microscopieplaatjes zie bladzijde 26, figuur 1 A tot en met D). In deze ronde vorm was er een interactie tussen bolletje 1 en bolletje 5, zoals afgebeeld hieronder. Deze 2 vormen verklaarden ons waarom er dus ook een verschil was in de laboratoriumtesten die gedaan werden op antifosfolipiden syndroom patiënten. Daarnaast hebben we met andere moderne laboratoriumapparatuur kunnen bevestigen dat er inderdaad 2 verschillende vormen van het eiwit β_2 GPI



bestaan en dat deze ronde vorm in stand wordt gehouden door een interactie van bolletje 1 met 5. Omdat de ronde vorm van het eiwit β_2 GPI direct uit bloed is gezuiverd, hebben we de conclusie getrokken dat dit de echte vorm is zoals β_2 GPI eruit moet zien en wanneer het bindt aan oppervlakken of aan een antistof het open gaat en de hockeystickachtige vorm laat zien (hoofdstuk 3). Dit is uitermate van belang niet alleen in de ontwikkeling van nieuwe experimenten om antifosfolipiden syndroom te kunnen diagnosticeren, maar zeer zeker ook van belang in de wetenschap, daar men moet weten met welk van de twee vormen er onderzoek gedaan wordt. Daarnaast is het belangrijk om te weten of de twee vormen ook verschillende functies hebben.

Zoals ik hiervoor uitgelegd heb, waren we op zoek naar een functie van het eiwit β_2 GPI in combinatie met HDL in ons afweersysteem. Helaas, konden we geen interactie tussen deze twee ontdekken. Wat we toen wel hebben gevonden is dat β_2 GPI op zichzelf een interactie vertoont met een stofje genaamd LPS, zonder dat het daarvoor HDL nodig heeft. LPS is een component van de buitenste schil van een bacterie. Wanneer een bacterie wordt ontdekt door ons afweersysteem wordt deze aangevallen en breekt de bacterie in verschillende stukken uiteen. Vele van deze stukken bestaan uit LPS. Wanneer nu LPS niet goed verwijderd wordt uit ons bloed of wanneer er zoveel bacteriën zijn dat deze niet opgeruimd kunnen worden, kan een individu sepsis krijgen; een bloedvergiftiging met een hoog dodelijke afloop. Eén op de vier patiënten overleeft het niet. Doordat we een interactie zagen tussen β_2 GPI en LPS hebben we verschillende experimenten uitgevoerd in het laboratorium. Daarnaast hebben we ook gekeken naar de reactie van 23 gezonde mannelijke vrijwilligers wanneer ze een hoeveelheid, niet dodelijke, LPS kregen. We hebben hun bloedwaarden onderzocht en gekeken hoe ziek ze ervan werden. Ook hebben we gekeken naar patiënten op de intensive care die wel of geen sepsis hadden en deze met elkaar vergeleken.

Alle resultaten, zowel die uit ons laboratorium als de humane proeven, wezen erop dat het eiwit β_2 GPI een beschermende functie had in ons afweersysteem (hoofdstuk 4). Uit laboratorium experimenten bleek dat het schadelijke effect van LPS veel minder was wanneer het eiwit β_2 GPI erbij zat. We ontdekten dat wanneer de ronde donutvorm van β_2 GPI het schadelijke LPS tegenkomt, het bindt aan LPS, waarna het opengaat en dan wordt opgenomen door cellen in ons afweersysteem die als een soort opruimers door ons bloed circuleren. In gezonde vrijwilligers ontdekten we dat hoe meer β_2 GPI ze hadden in hun bloed des te beter beschermd ze waren voor LPS. In de patiënten op de intensive care ontdekten we dat diegenen die sepsis hadden een enorm

verlaagde hoeveelheid van het eiwit β_2 GPI hadden. Dit ten gevolge van het feit dat door de opname van het LPS- β_2 GPI complex door de opruimers in ons bloed een vermindering optrad van het totale gehalte aan β_2 GPI in het bloed. Dus het eiwit β_2 GPI circuleert in ons bloed in een gesloten vorm, wanneer schadelijke stoffen als LPS in contact komen met β_2 GPI, verandert β_2 GPI van vorm en de cellen ruimen het schadelijke LPS dat vastzit aan β_2 GPI op. Hierdoor daalt dus het gehalte aan β_2 GPI in ons bloed, hetgeen dat na een dag of 2 weer wordt aangevuld.

Nu we aangetoond hadden dat we een nieuwe functie voor een tot nu toe functieloos eiwit hadden gevonden wilden we ook laten zien dat dit eiwit in andere dieren aanwezig zou zijn met dezelfde functie. Dit zou bevestigen dat de evolutie, of God – Jahweh – Allah (dit laat ik aan u de lezer over) energie had gestoken in de instandhouding van deze specifieke functie van dit eiwit.

De mens is ingedeeld in de klasse van de zoogdieren, waaronder bijvoorbeeld de aap, koe, hond maar bijvoorbeeld ook de egel onder vallen. De klasse van de zoogdieren valt weer onder te verdelen in de stam van de gewervelde dieren (vogels, amfibieën, reptielen en vissen). We hebben daarom ook gekeken in 40 verschillende gewervelde dieren, waaronder 25 zoogdieren, naar de aanwezigheid van het eiwit β_2 GPI. Daarbij ging onze aandacht vooral uit naar een specifiek stukje in het β_2 GPI eiwit dat de bindingsplaats vormt voor LPS en daardoor dus ook potentieel de beschermende functie zou kunnen bezitten.

Uit ons onderzoek bleek dat alle 25 zoogdieren en een groot deel van de gewervelde dieren dit LPS bindend stukje in het β_2 GPI eiwit hadden en dus hierdoor ook de beschermende functie van β_2 GPI zouden bezitten (hoofdstuk 5). Daarnaast hebben we ontdekt dat er meerdere belangrijke stukken in het eiwit zitten die theoretisch verklaren dat het eiwit β_2 GPI een ronde gesloten vorm moet hebben, hetgeen onze conclusie uit hoofdstuk 3 nog sterker maakt.

Als laatste hebben we geprobeerd uit te zoeken of een verandering van de gesloten naar de open vorm van β_2 GPI tot gevolg kan hebben dat het antifosfolipiden syndroom ontstaat. Zoals hiervoor beschreven leidt het binden van β_2 GPI aan bepaalde stoffen een verandering in de vorm van β_2 GPI; van gesloten naar open. Hierdoor is de interactie tussen bolletje 1 en 5 van β_2 GPI verbroken. Bolletje 1 is nu vrij en antistoffen kunnen aan dit stukje binden. De vraag is nu: (1) zijn die antistoffen al aanwezig in het bloed en binden ze aan β_2 GPI, waardoor het antifosfolipiden syndroom ontstaat? of (2) worden de antistoffen aangemaakt wanneer bolletje 1 bloot gesteld wordt, nadat β_2 GPI van vorm verandert, waarna het antifosfolipiden syndroom kan ontstaan? Door muizenproeven hebben we ontdekt dat het optie 2 is. Wanneer herhaalde malen een klein onderdeel van de buitenste schil van de bacteriën in muizen ingespoten werden ontwikkelden deze niet alleen antistoffen tegen de bacterie (de reactie van het afweersysteem tegen indringers), maar ook tegen het lichaamseigen eiwit β_2 GPI (hoofdstuk 6). Onze theorie is dat door binding van β_2 GPI aan LPS of aan een bacterie de vorm van β_2 GPI verandert en bolletje 1 vrij is van bolletje 5. Door deze blootstelling komt het normaal gesproken afgeschermd deel van bol 1 in contact met het afweersysteem en wordt als lichaamsvreemd beschouwd. Doordat dit herhaaldelijk gebeurt, wordt er op een gegeven moment antistoffen tegen bolletje 1 gemaakt. Het openen van het eiwit β_2 GPI en de aanmaak van antistoffen tegen β_2 GPI kan in potentie het antifosfolipiden syndroom veroorzaken.