

13.2.3 Zenuwvezels en bronchiale hyperreactiviteit

Het onderzoek beschreven in *hoofdstuk 5* is gebaseerd op het idee dat de fijne gevoelszenuwen (C-vezels) in de long betrokken zijn bij de toename van bronchiale hyperreactiviteit als gevolg van virale luchtweginfecties, zoals dit ook bij diersystemen is aangetoond. Het is mogelijk dat de stoffen die door de C-vezels worden uitgescheiden (neurokininen) een versterkt samentrekkend effect hebben op het spierweefsel van de luchtwegen doordat de prikkel drempel voor uitsluit van deze stoffen lager wordt, of omdat er meer uitsluit c.q. minder afbraak van neurokininen is. Bradykinine is een stof die via prikkeling van de C-vezels tot luchtwegvernauwing leidt, althans bij mensen met astma. Bradykinine wordt evenals de neurokininen afgebroken door het enzym NEP. We hebben onderzocht of de bronchiale hyperreactiviteit voor bradykinine verandert onder invloed van een RV16 infectie. Dat blijkt wel het geval, maar anders dan we verwacht hadden. Herhaalde provocaties met bradykinine bleken te leiden tot verminderde gevoeligheid voor die stof (tolerantie). Na RV16 infectie trad echter nauwelijks tolerantie op. Er was dus geen absolute maar wel een relatieve toename van de bronchiale hyperreactiviteit na RV16 infectie. Hoewel moeilijk te verklaren is dit toch een aanwijzing dat C-vezels een rol spelen bij de toegenomen bronchiale hyperreactiviteit na een RV16 infectie. Het lijkt er echter op dat er ook andere mechanismen in het spel zijn.

13.2.4 Tekenen van ontsteking: sputumonderzoek

Onderzoek van sputum (slijm uit de longen) wordt al van oudsher toegepast in de geneeskunde. De hoeveelheid, kleur, geur, consistentie van sputum, en de aanwezigheid van bepaalde ontstekingscellen of microorganismen in sputum kunnen soms veelzeggend zijn over de ziekte waaraan een patiënt lijdt. De groene kleur van het sputum van sommige astmapatiënten wordt bijvoorbeeld verklaard door het grote aantal "witte" bloedcellen in het sputum. De toepassing van moderne immunologische technieken heeft aangetoond dat het sputum van astmapatiënten tevens verhoogde concentraties van ontstekingsmediatoren (o.a. signaalstoffen) bevat. De samenstelling het sputum met betrekking tot deze mediators kan een indicatie geven over de aard van de ontsteking. De eerder beschreven veranderingen van de functie en prikkelbaarheid van de longen na RV16 infectie wezen al in de richting van een toename van ontsteking. In *hoofdstuk 6* wordt beschreven dat een RV16 infectie inderdaad gepaard gaat met een toename van concentraties van ontstekingsmediatoren in het sputum, hoewel er geen duidelijke verschuivingen waren in de percentages van de verschillende typen witte bloedcellen. Deze stoffen zijn mogelijk deels afkomstig van eosinofiele granulocyten (zoals ECP), deels van andere witte bloedcellen waaronder de neutrofiële granulocyten (IL-8), en deels uit de slijmvliezbekleding van de long (IL-8). Het is opvallend dat de sterkste verhoging van ECP gevonden werd bij de patiënten met de grootste toename van bronchiale hyperreactiviteit.

13.2.5 Tekenen van ontsteking: onderzoek van het longslijmvlies

Gezien de toegenomen luchtwegobstructie en hyperreactiviteit die samengaat met tekenen van verergerde ontsteking in de luchtwegen, lijkt het aannemelijk dat de afweer en ontsteking zich ook in het longweefsel zelf manifesteren. Witte bloedcellen bereiken de luchtwegen door uit de bloedvaten te treden en door het weefsel te migreren. Een afweerreactie van witte bloedcellen in het weefsel zou diverse veranderingen tot gevolg kunnen hebben die de bronchiale hyperreactiviteit doen toenemen. Ook het longweefsel zelf zou een actieve rol kunnen spelen in de ontsteking, onder andere door de migratie van witte bloedcellen te bevorderen. Een volgende stap was daarom het onderzoeken van het longweefsel zelf (*hoofdstukken 7 en 8*). Dit weefsel werd verkregen door tijdens een bronchoscopie kleine hapjes van het longslijmvlies te nemen.

Deze weefselstukjes werden zodanig bewerkt dat microscopisch onderzoek mogelijk was. Daarna werden de microscoopbeelden gedigitaliseerd. Met behulp van de computer hebben we vervolgens de verschillende typen witte bloedcellen geteld. Dit werd gedaan in welomschreven gebieden, namelijk de cellaag die de luchtwegen bekleedt (epitheel) en de laag die daar direct onder ligt (lamina propria). Het bleek dat er na infectie een toegenomen aantal was van het type witte bloedcel dat lymfocyt genoemd wordt. Lymfocyten zijn cellen die onder meer gespecialiseerd zijn in het registreren van de afweer tegen virale infecties, maar ook de allergische ontsteking zoals die bij astma gezien wordt. Hoe groter de toename van lymfocytenaantallen in het epitheel, hoe geringer de toename van bronchiale hyperreactiviteit. Dit zou er op kunnen wijzen dat de functie van lymfocyten mede bepalend is voor het al of niet verslechteren van astma tijdens infectie.

Nadere bestudering van het epitheel toonde een toename van een molecuul aan dat de migratie van witte bloedcellen bevordert, namelijk ICAM-1 (*hoofdstuk 7*). Het is niet toevallig dat we dit molecuul onderzochten, aangezien het de specifieke receptor (hechtingstructuur) is voor de meeste rhinovirussen, inclusief RV16. Hechting aan ICAM-1 katalyseert de infectie van de cel. Er zijn aanwijzingen dat een infectie de expressie van ICAM-1 doet toenemen, maar het is ook mogelijk dat ICAM-1 expressie toeneemt als gevolg van de afweerreactie. Hoe dan ook, de toegenomen expressie zou in potentie de verspreiding van de infectie kunnen bevorderen. Of infectie van de longen daadwerkelijk op uitgebreide schaal plaatsvindt, moet nog worden vastgesteld.

13.2.6 Behandeling van virusgeassocieerde exacerbaties van astma

Wat te doen tegen een astma-aanval door een rhinovirus infectie? Het tekort schieten van de therapeutische mogelijkheden waren (en zijn) de drijfveren voor onderzoek naar de ziektemechanismen van virusgeassocieerde exacerbaties van astma. Op dit moment baseert men de keuze van therapie op de geldende algemene richtlijnen voor behandeling van astma in het algemeen en exacerbaties in het bijzonder. Corticosteroïden, hormoonachtige ontstekingsremmende stoffen die per inhalatie (inhalatiesteroïden) of soms per tablet genomen worden, vormen de basis van astmatherapie. In de laatste studie van dit proefschrift hebben we onderzocht of onderhoudsbehandeling met inhalatiesteroïden al of niet een gunstig effect heeft op het astma gedurende een rhinovirus infectie (*hoofdstuk 8*). We vonden dat onderhoudsbehandeling op zich een resulteerde in een verbetering van de bronchiale hyperreactiviteit en verlaging van de aantallen eosinofiele granulocyten in longweefsel. Dit zijn bekende effecten van inhalatiesteroïden. Nieuw was dat deze verbetering behouden bleef gedurende en na de infectie. Echter, er waren geen significante verschillen met de patiënten die geen voorbehandeling met inhalatiesteroïden gehad hadden, óók niet met betrekking tot virusgeïnduceerde de toename in ICAM-1 expressie en de aantallen lymfocyten in longweefsel. Hoewel een duidelijk gunstige (of ongunstige) werking van inhalatiesteroïden op de rhinovirus-geassocieerde effecten in deze studie niet kon worden aangetoond, zouden astmapatiënten wel kunnen profiteren van een betere uitgangspositie door gebruik van deze medicatie.

13.3 CONCLUSIES IN DIT PROEFSCHRIFT

1. Verkoudheden door experimentele rhinovirus 16 infectie leiden tot een toename van astma symptomen en variabele luchtweg obstructie in de eerste week na infectie (*hoofdstuk 3*).

2. Experimentele rhinovirus 16 infecties leiden tot een toename van bronchiale hyperreactiviteit voor histamine in de acute fase van de verkoudheid (*hoofdstuk 4,5*).
3. De mate van verslechtering van de variabele luchtweg obstructie en bronchiale hyperreactiviteit is positief gerelateerd aan de verkoudheidsymptomen en de afweerreactie, weerspiegeld door toename van interleukine-8 in het neusspoelsel, en de daling van het aantal lymfocyten en stijging van het aantal neutrofiele granulocyten in het bloed (*hoofdstuk 3 en 4*).
4. Het is aannemelijk dat ongemyeïniseerde sensibele zenuwen (C vezels) betrokken zijn bij de respons op rhinovirus infecties bij mensen met astma, gezien de verdwijning van tolerantie voor herhaalde bradykinine provocaties (*hoofdstuk 5*). Echter, hun rol bij de ontwikkeling van rhinovirusgeassocieerde exacerbaties van astma is vooralsnog onduidelijk.
5. Rhinovirus 16 infecties induceren de vrijmaking van pro-inflammatoire en chemotactische mediators (*IL-8, IL-6, ECP*), zowel in het sereet van de neus als in de lagere luchtwegen (*hoofdstuk 4 en 6*).
6. De vroege toename van de hoeveelheid ECP in sputum is geassocieerd met een toename van de bronchiale hyperreactiviteit (*hoofdstuk 6*), terwijl de latere depletie van eosinofiele granulocyten in de bronchiale mucosa geassocieerd is met een verminderde toename van bronchiale hyperreactiviteit (*hoofdstuk 8*).
7. Na rhinovirus 16 infectie bij astmapatiënten bevatten de neutrofiele granulocyten in sputum een toegenomen hoeveelheid IL-8, hetgeen laat zien dat neutrofielen betrokken zijn bij de ontstekingsreactie op een rhinovirus infectie (*hoofdstuk 6*). Verder bleek de accumulatie van neutrofielen in het bronchiale epitheel te correleren met de verslechtering van luchtwegobstructie (*hoofdstuk 8*).
8. Verkoudheden door een rhinovirus 16 infectie gaan gepaard met een toename van ICAM-1 expressie in bronchiaal epitheel, hetgeen positief gecorreleerd is met een toename van het aantal mestcellen in het epitheel, en een toename in de aantallen CD3+ en CD4+ cellen in de bronchiale lamina propria (*hoofdstuk 7 en 8*).
9. Rhinovirus 16 infectie induceert een toename in het aantal CD3+ cellen in de bronchiale mucosa, zowel bij steroid-naïve patiënten, als bij astmapatiënten die voorbehandeld zijn met inhalatiesteroïden. Accumulatie van T cellen in het epitheel, met name CD8+ cellen bij voorbehandelde patiënten, en CD4+ cellen bij steroid-naïve patiënten, is gecorreleerd met een verminderde toename van bronchiale hyperreactiviteit (*hoofdstuk 8*).
10. Voorbehandeling met inhalatiesteroïden gedurende 2 weken resulteert in reductie van het aantal geactiveerde eosinofiele granulocyten in de bronchiale mucosa, en geringere verbetering van de bronchiale hyperreactiviteit. Deze anti-inflammatoire therapie blijkt evenwel geen effect op de rhinovirus 16-geïnduceerde toename van ICAM-1 expressie (*hoofdstuk 7*) of T cel accumulatie (*hoofdstuk 8*) te hebben.

13.4 TOT SLOT

13.4.1 Perspectief

Het doel van het onderzoeken in dit proefschrift was het verkrijgen van inzicht in de klinische en pathofysiologische effecten van een rhinovirus infectie, en de onderliggende mechanismen van virus-geassocieerde verslechtering van astma. Wat is er bereikt? Ten eerste is het duidelijk geworden dat experimentele rhinovirus infecties een milde exacerbatie van astma kunnen

induceren, die in tijdsverloop, maar niet in de aard van de fysiologische effecten verschilt van verslechtering zoals we die bijvoorbeeld kennen na blootstelling aan allergenen, en meer lijkt op exacerbaties zoals die in de dagelijkse praktijk gezien worden. De aandacht is gevestigd op frequente metingen van luchtwegobstructie door de patiënt zelf als "vinger aan de pols" voor het tijdig detecteren en behandelen van verslechtering van het astma na een virale luchtweginfectie.

Bij het ontstaan van rhinovirus-geïnduceerde exacerbaties spelen de antivirale immuunrespons en een ontstekingsreactie in het slijmvlies van zowel de neus als de longen een rol. Naast zenuwvezels zijn er diverse types ontstekingscellen betrokken bij deze processen, en deze reageren met een toegenomen productie van ontstekingsmediatoren in de luchtwegen. Voorbehandeling met ontstekingsremmende inhalatiesteroïden had geen duidelijk effect op de gemeten verandering gedurende de rhinovirusinfectie. Deze gegevens bieden aanknopingspunten om het nut van zowel bekende als nieuw te ontwikkelen geneesmiddelen juist in deze specifieke situatie te onderzoeken. Zodoende kan de behandeling van aanvallen van astma wellicht verbeteren door deze (anders dan nu het geval is) aan te passen aan de oorzaak van de verslechtering. Met name de toegenomen expressie van ICAM-1 in de lagere luchtwegen is interessant in het licht van de ontwikkeling van de soluble ICAM-1, bedoeld als antiviraal middel. Juist bij astma zou toepassing van dit middel in de long wellicht van nut zijn.

13.4.2 Verder onderzoek

Het is nu duidelijk dat een rhinovirus infectie bij astmapatiënten tot verslechtering van hun aandoening kan leiden, waarom gebeurt dit juist bij mensen met astma? Mogelijk zijn er verschillen in de antivirale afweerreactie, of in de (functie van) celtypen en weefsels die bij de ontstekingsreactie betrokken zijn. Vormen de structurele afwijkingen aan de longen een reden waarom een virale luchtweginfectie harder toeslaat bij mensen met astma? Het ontrafelen van deze aspecten zal ons in staat stellen om mensen met een verhoogd risico voor het krijgen van een ernstige exacerbatie te identificeren. Verder zou de kennis die hierover opgedaan wordt bij astma mogelijk ook betrekking kunnen hebben op andere longziekten zoals COPD, cystic fibrosis, en bronchopulmonale dysplasie. Experimentele rhinovirusinfecties bij mensen met astma en gezonden zouden een nuttige methode zijn om in de bovenstaande zaken meer duidelijkheid te brengen.