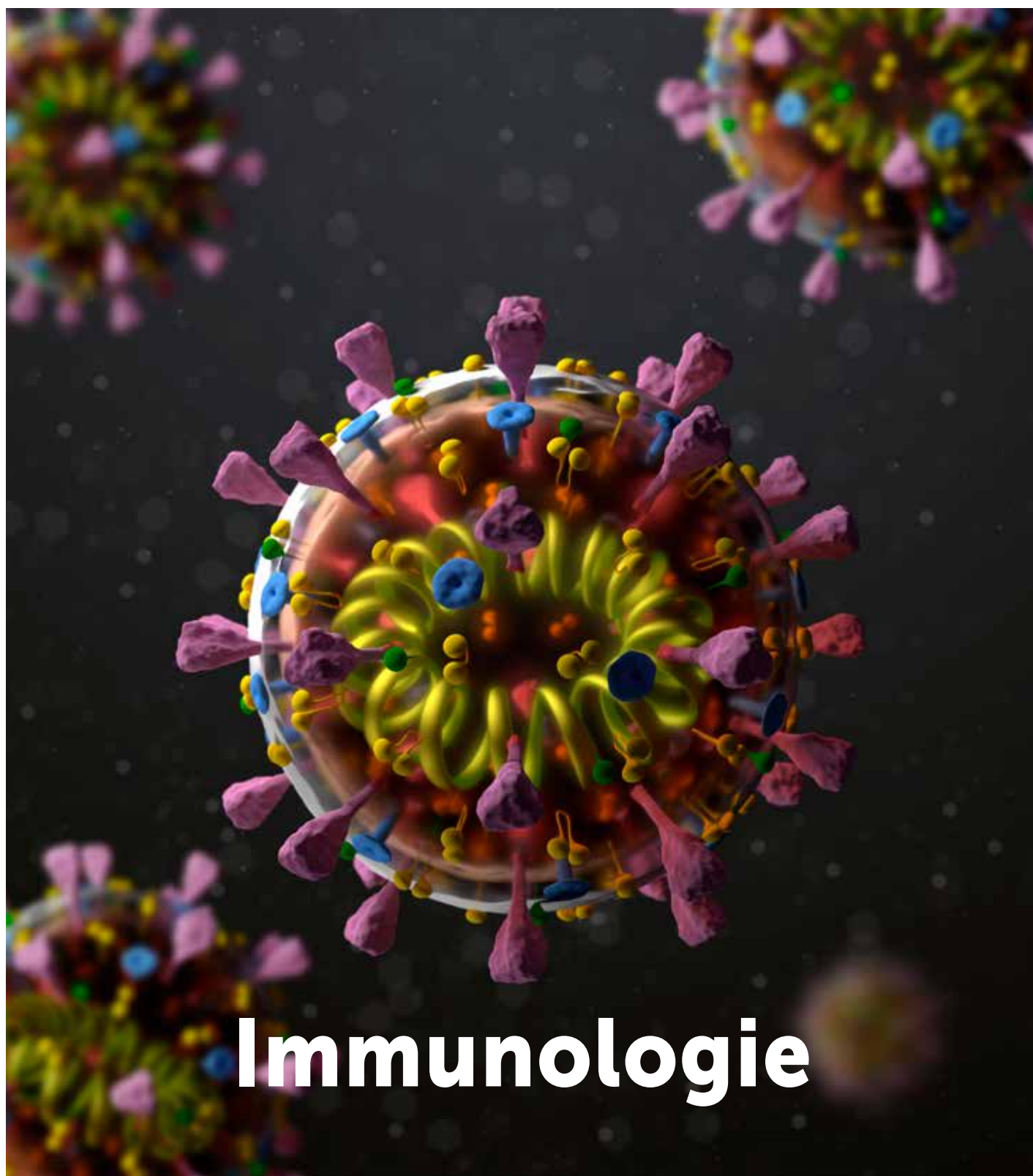


VAP VISIE Analyse

Gezamenlijke uitgave VAP NVML

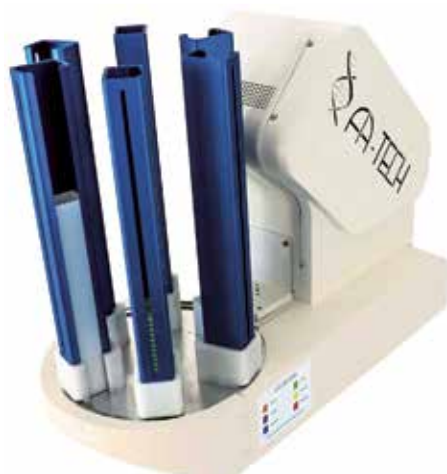
JUNI 2020



Immunologie

FA-TECH DIAGNOSTICS EUROPE

LASER PRINTER FOR TISSUE CASSETTES



FA-TECH VEGA

LASER CASSETTES MARKER



FA-TECH ESPO

PRINTER VOOR OBJECTGLASJES



FA-TECH NOVA

LASER CASSETTES MARKER

De cassette en glasprinters van Fa-Tech diagnostics bieden permanente onuitwisbare markering van weefsel cassettes en microscoopglasjes met tekst, lineaire barcodes en twee dimensionale barcodes.

De printers zijn speciaal geschikt voor laboratoria die behoefte hebben aan een betrouwbare oplossing voor het markeren, identificeren en tracking van cassettes als onderdeel van een barcode-based workflow management systeem.

De systemen zijn volledig te integreren met Lab management systemen wat de mogelijkheid van on-demand printing biedt. Met een snelheid van 12 cassettes per minuut en maximaal 100 karakters én 2D barcode, kan alle benodigde data overgebracht worden op coupes en cassettes.

Neem vrijblijvend contact op voor meer informatie of een demonstratie.

Fa-Tech Diagnostics Europe BV biedt het PA laboratorium de beste technologie en verschillende oplossingen voor een betere patiëntveiligheid en zorg.

Uw distributeur in de Benelux:



CoreMed BV • 't Holland 31 • 6921GX Duiven • The Netherlands

T: +31(0)316 820 387 • E: info@coremed.nl

Colofon VAPvisie

Redactie

Reddy Schreuder (voorzitter mediagroep)
Erik Bleuel
Anke van Bruggen
Patrick Coolen
Petra Pothuis-Adriolo

Hoofredacteur

Reddy Schreuder
r.schreuder@antoniusziekenhuis.nl

Webmasters www.vapweb.nl

Kevin van der Ven
k.vanderven@umcutrecht.nl

Standbeheer VAPcongressen

Sjef van Gaalen
s.vangaalen@reinier-mdc.nl

Aanleveren kopij

Tekst in Word zonder illustraties
Foto's en illustraties apart in JPG
(groot formaat)

Advertentie sturen naar

Ita Verweij
advertenties@vapweb.nl

Correspondentieadres en

Adreswijziging

Ita Verweij
Postbus 387, 3830 AK Leusden
06-30795900
secretariaat-vap@vapweb.nl

IBAN nummer VAP

NL83 INGB 0004335784

Oplage

4100 ex.

Vormgeving

Studio Transparant

Druk

Vellendrukkerij BDU Barneveld

Lidmaatschap 2020

Gewoon Lidmaatschap: 33 euro
Gezinslidmaatschap: 33 euro per gezin
Lidmaatschap in Europa: 44 euro
Lidmaatschap buiten Europa: 56 euro
Lidmaatschap Studenten: gratis na insturen van kopie studentenkaart
Lidmaatschap wordt betaald per kalenderjaar.
<http://www.vapweb.nl/vereniging/lidmaatschap>

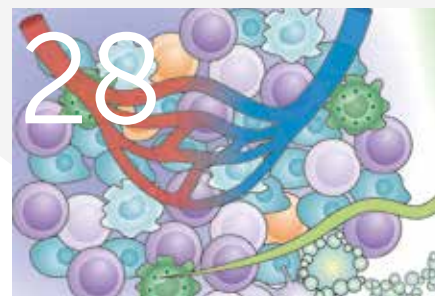
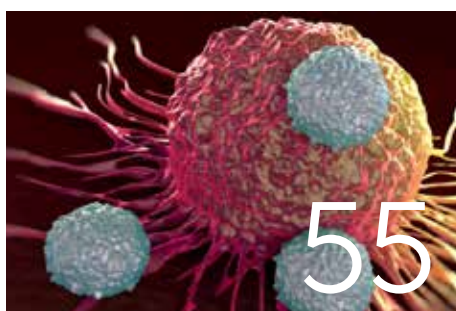
Geplande verschijningsdata 2020

Nr	Deadline artikelen	Deadline advertenties	Verschijningsdatum
03	07-08	21-08	18-09-2020
04	06-11	20-11	18-12-2020



Geschiedenis van de Immunochemie

Muismodellen voor anti-tumor immuuntherapie



Immunologie en de bloedbank

Van het bestuur	5
Redactioneel: Immunologie	7
Ons immuunsysteem een ingewikkeld, maar erg belangrijk beschermingsmechanisme	8
Wat de boer niet kent, vindt hij lekker	11
Symposium Fertiliteit	13
Geschiedenis van de Immunochemie	14
COVID-19: infectie, ontsteking en immuniteit	16
Commentaar	23
Hoe helpt de klinische chemie in de strijd tegen COVID-19 pandemie?	24
Muismodellen voor anti-tumor immuuntherapie	28
Wist je dat?	31
Allergische astma – Adembenemende immunologie	32
De diagnostiek van autoimmuun blaarziekten	36
Immunopathologie: een voorbeeld van auto-immuun diagnostiek	38
Flowcytometrische analyses bij acute leukemie patiënten behandeld met immuuntherapie	40
Het Nieuwe Labwerken na de Corona Crisis (WHAPA leidinggevendendag)	45
Een traag werkende schildklier – Hashimoto thyreoïditis	46
Genezing van hiv: is het mogelijk en waar staan we nu?	50
Immunologie en de bloedbank	55
Vaste prik	61
Commissie Internationale Contacten (CIC)	62
De immuno-logi-puzzel	63
Cursussen en opleidingen NVML	64
Agenda	66

Op de voorpagina: COVID 19, een illustratie hoe SARS-CoV-2 er uit ziet.
Het virus is deels opengewerkt. (Shutterstock)

2^e POCT-congres

POCT Nu en hoe verder?

- ♦ Toekomst van de POCT
‘zinnige en zuinige zorg’: twee visies
- ♦ Nuldezorg
- ♦ POCT in de Medische Microbiologie
- ♦ Validatie en labverificatie

PATHÉ UTRECHT LEIDSE RIJN
DINSDAG 06/10/2020



Beste leden,

Velen van ons behoren tot een bevoorrechte generatie die geen oorlog of andere grote en ernstige crisis hebben meegemaakt. Toch is er momenteel sprake van één van de ernstigste crisissen sinds de Tweede Wereldoorlog. Dat alles wordt veroorzaakt door een minuscule virus dat ons hele openbare leven op zijn kop zet.

Velen van ons worden persoonlijk geraakt door wat we in onze naaste omgeving meemaken aan verlies van naasten en bekenden, of de bizarre sociale isolatie van onze dierbaren. Voor de ouders van jonge kinderen onder ons verandert de rol van papa en mama in die van onderwijzer of docent. Een deel zit vaker thuis te werken en een ander deel wordt op andere werkzaamheden volgens andere roosters of zelfs op andere afdelingen ingezet. De wereld en het leven zijn veranderd en waarschijnlijk gaat een deel van die verandering ook blijven. Het nieuwe normaal.

Verandering heeft over het algemeen niet onze voorkeur, we zijn gewoontedieren. Toch zijn er ook veranderingen waar we bewust voor kiezen en waar we juist naar uitkijken. Het is vanwege de huidige beperkingen bijna te pijnlijk om te benoemen, maar velen van ons gaan graag op vakantie om dan te genieten van een andere omgeving met een ander cultuur en een ander ritme. Ook kennen we het gezegde: verandering van spijs doet eten. Blijkbaar is verandering minder erg als we zelf de regie hebben. Er zijn echter ook 'gedwongen' veranderingen die wel degelijk ons enthousiasme kunnen opwekken. De Coronacrisis laat

“ Het nieuwe normaal

dat mooi zien: Initiatieven van gordijn-, en beddenfabrikanten die hun productielijnen omzetten om mondkapjes te maken, restaurants die een afhaaloket of een bezorgservice starten. Voormalige verpleegkundigen die de zorg uit frustratie zijn ontvlucht en zich nu weer aanmelden om met passie mensen te helpen of, meer binnen ons werkveld, het testen van monsters op coronavirus met apparatuur die normaliter gebruikt wordt voor het testen op HPV voor het BVO baarmoederhalskanker. Allemaal mooie en goede initiatieven die niet van de grond zouden komen als het niet persé had gemoeten.

Wij als vereniging hebben natuurlijk ook last van de beperkingen die momenteel gelden. Congressen en themadagen worden gecancelled maar kosten zijn al gemaakt. De ALV's, welke plaats hadden moeten vinden op de pathologiedagen van begin april, en het congres Kwaliteit 2020 zijn uitgesteld. We laten jullie nog weten hoe we deze activiteiten alsnog gaan regelen. Congressen en themadagen kunnen over het algemeen wel worden uitgesteld



mits de onderwerpen niet te veel inboeten aan actualiteit. De ALV's worden waarschijnlijk een digitale variant, maar we doen dat in overleg met de beide besturen. Ondertussen gaan de voorbereidingen voor de integratie door en we houden jullie via de bladen, de websites en nieuwsbrieven op de hoogte.

In de loop van het jaar worden de VAP-leden als lid nog benaderd om het lidmaatschap van de VAP om te zetten naar een lidmaatschap van de NVML. Tegelijkertijd willen we de labhoofden en -managers benaderen om hen te wijzen op de mogelijkheid van een laboratorium lidmaatschap waarbij korting per lidmaatschap op de contributie mogelijk is evenals een staffelkorting op de e-learning. Kortom, er staan ons nog meer veranderingen te wachten. Neem daarin regie of word enthousiast van de positieve kanten van deze veranderingen. houd afstand met betrokkenheid en blijf gezond. ◀

*Namens de besturen,
Sjef van Gaalen
Els Wester*

Accuracy demands precision

When test results determine patient care, you need tools up to the task.

Laboratories who partner with EpreDia know that every diagnosis hinges on seeing the target and nothing else. Although often taken for granted, your laboratory's glass and blades can dramatically impact a pathologist's ability to see a clear target, affecting diagnosis and patient care.

The choice is clear. EpreDia slides, long powered by the Menzel-Gläser name, are made from extra-white glass, manufactured to high quality standards in our Swiss manufacturing site. The clarity achieved by our manufacturing process helps ensure high levels of transparency to help aid in accurate diagnosis. Likewise, we partner with world-renowned metalsmiths to produce blades of exceptional cutting performance and durability designed to meet the needs of the most demanding laboratories worldwide.

**Our formula for success is simple.
Don't change the formula.**

EpreDia is powered by our hard-earned expertise in bringing you precision solutions from glass and blades to instruments and consumables. And while the EpreDia name on your box of slides may be new, these slides are the same Menzel-Gläser product known and trusted in the industry.

Thank you for choosing us as your partner in the life-saving work you do each day. We can't wait to show you what we have in store for the future.

Get precise today. Contact your EpreDia representative or our Customer Care Team at 0800 018 9396.



Enhancing precision
cancer diagnostics

Immunologie

Hoe actueel is het onderwerp van ons gezamenlijk blad "Immunologie", nu de Corona crisis ons nog steeds in de houdgreep heeft. We horen en lezen regelmatig de woorden: immuunsysteem, groepsimmuniteit, afweer, antistoffen, vaccinatie, etc. Welke rol het immuunsysteem speelt bij COVID-19 is te lezen in het artikel van Huub Savelkoul.

Het heeft allemaal te maken met ons immuunsysteem, we zien maar weer hoe belangrijk dit is. Jacques Heeren, Anneke Berends-Kraak en Jos Wielders duiken nog even in de geschiedenis van de ontdekking van ons immuunsysteem. En dat door elektroforese de antilichamen die uit eiwitten bestaan in het serum kunnen worden aangetoond.

Lia Lauppe-Van Meurs beschrijft hoe het immuunsysteem ontstaat in ons lichaam. Te beginnen als baby. Hier speelt de thymus een belangrijke rol. Ita Verweij geeft in haar artikel aan dat deze thymus of zwezerik genaamd ook lekker is om op te eten. Als je het wil proberen staat er op pagina 10 en 11 een recept hiervoor.

Maar naast het elimineren van een bacterie of virus kan ons immuunsysteem ook tumorcellen opruimen. Helaas hebben tumorcellen de mogelijkheid om het immuunsysteem van de patiënt te onderdrukken. Inmiddels is bekend hoe dit komt en hierdoor is het mogelijk geworden om het immuunsysteem toch aan te zetten om en de tumor te herkennen en op te ruimen. Zoals we kunnen lezen in het artikel van Laura Kruijssen en Sjoerd Schetters over muismodellen voor anti-tumor immuuntherapie. Hiv kan het immuunsysteem onderdrukken,

maar immuuntherapie kan misschien ook wel de oplossing zijn voor het genezen van hiv.

Ook kan ons immuunsysteem onze eigen eiwitten aanvallen, zoals beschreven in het artikel over blaarziekten door dr. Diercks van laboratorium immunodermatologie in Groningen. Bij Hashimoto thyreoiditis zijn

“ Het heeft allemaal te maken met ons immuunsysteem

ophopingen van lymfoïde cellen in de schildklier zichtbaar. Maar ook de symptomen die bij astma voorkomen zijn het gevolg van een misplaatste immuunrepons in de longen. Uit onderzoek blijkt dat een groot deel van de patiënten een allergisch reactie ontwikkelen op ingeademde antigenen.

Toekomst van de redacties

Maar nog even iets anders. Achter de schermen wordt er druk gewerkt aan het samenvoegen van de beide analisten verenigingen, de NVML en de VAP. Ook de redacties gaan samen. Wij maken wel jaarlijks een gezamenlijk

themablad, maar dan zijn we een soort gelegenheidsredactie. Dat is niet wat we structureel op deze manier kunnen voortzetten.

Er is momenteel een werkgroep, die bestaat uit leden van de beide redacties, actief bezig om ervoor te zorgen dat we naar ieders tevredenheid worden samengevoegd om vanaf 1 januari 2021 als één redactie verder gaan. Een hele spannende tijd, waarin we de kans hebben om van beide redacties en bladen te leren en er het beste uit te halen! ◀

Simone Priester-Vink
Reddy Schreuder

Een nieuwe gezamenlijke redactie betekent een nieuwe naam voor ons blad.

Heeft u een idee voor een nieuwe naam? Stuur deze naam naar nvml.redactie@nvml.nl en/of redactie-VAP@VAPweb.nl. Misschien wint u wel een leuke prijs.

Inzenden kan tot uiterlijk 15 juli.

Ons immuunsysteem

een ingewikkeld, maar erg belangrijk beschermingsmechanisme

Lia Lauppe - van Meurs

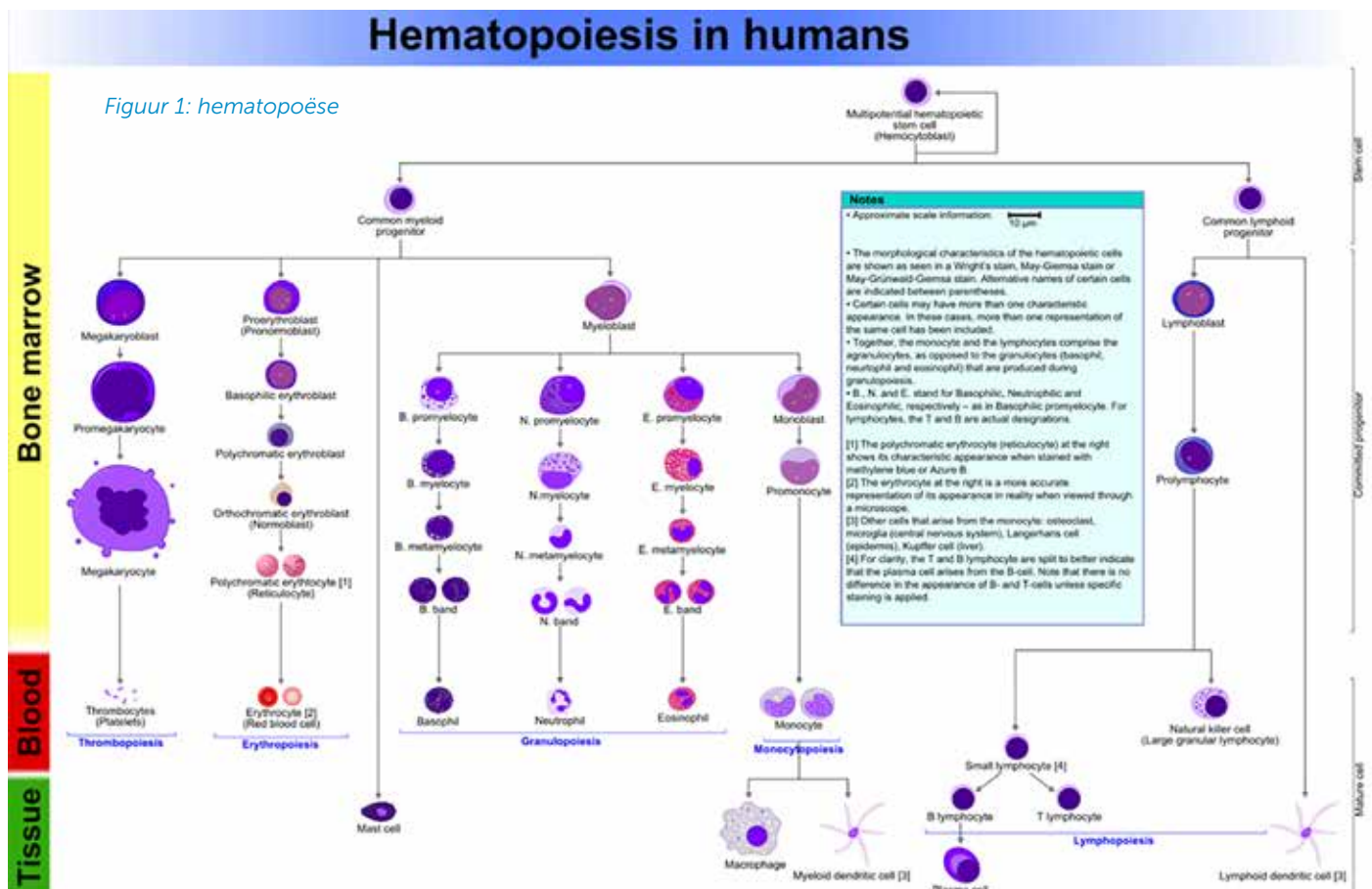
Toen rond 1900 de eerste ontdekkingen werden gedaan met betrekking tot vaccinatie en antistoffen stond de wetenschap aan het begin van een lange weg om de geheimen van ons immuunsysteem te ontrafelen. Het aantal controversiële meningen dat daarbij ontstond was talrijk. Denk daarbij aan de aanvankelijke strijd tussen aanhangers van de theorie van de humorale immuniteitsleer en die van de cellulaire afweer. We zijn nu op een punt gekomen waarop we al veel weten, maar ons immuunsysteem heeft nog lang niet al haar geheimen prijsgegeven. Wel is al veel bekend over de onderlinge verwevenheid tussen de humorale en cellulaire afweer.

Opbouw van het immuun-systeem

Bij onze geboorte zijn we voor wat de afweer tegen allerlei micro-organismen betreft sterk afhankelijk van de antistoffen die we via de placenta verkregen hebben van onze moeder. De

afweer middels antistoffen wordt ook wel de humorale immuniteit genoemd. Naast deze immuniteit bestaat ook de zogenaamde cellulaire immuniteit. Deze wordt gevormd door fagocyterende cellen zoals neutrofiële granulocyten, dendritische cellen en

macrofagen, maar ook door bepaalde T-lymfocyten (natural killer of NK cellen). Een baby zal in de eerste levens-jaren zijn eigen immuniteit moeten opbouwen. Daarbij speelt de thymus een essentiële rol. Dit orgaan, dat in onze jeugd aanwe-



zig is en achter het borstbeen ligt, is noodzakelijk voor de ontwikkeling van T-lymfocyten, herkenning van lichaamseigen structuren en het immunologisch geheugen.

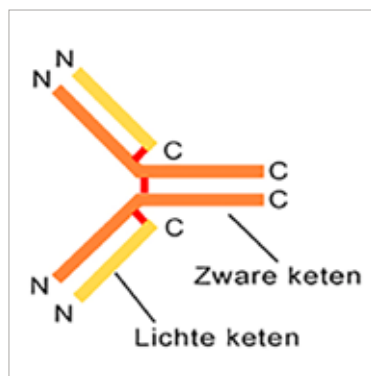
Het beenmerg en bloedvorming of hematopoëse

Het rode beenmerg, waar de bloedaanmaak plaatsvindt, bevindt zich in de botten. Vooral de platte beenderen van bekken, ribben en borstbeen bevatten veel rood beenmerg. Een volwassene heeft tussen 1,0 en 1,4 l rood beenmerg. Het beenmerg is hoofdzakelijk verantwoordelijk voor de aanmaak van erythrocyten, leukocyten en trombocyten. Daarnaast spelen ook de milt, lymfeklieren en lever een rol bij de hematopoëse. Alle bloedcellen hebben één gezamenlijke stamcel: de pluripotente hematopoëtische stamcel, zie figuur 1. Daaruit ontstaan twee hoofdlijnen van cellen via de pluripotente myeloïde stamcel en de pluripotente lymfatische stamcel. De eerstgenoemde kan zich onder invloed van cytokinen (celhormonen, bijvoorbeeld interleukinen of IL) ontwikkelen tot erythrocyten, granulocyten, dendritische cellen, monocyt en trombocyten. De pluripotente lymfatische stamcel kan zich differentiëren naar B-lymfocyten of T-lymfocyten.

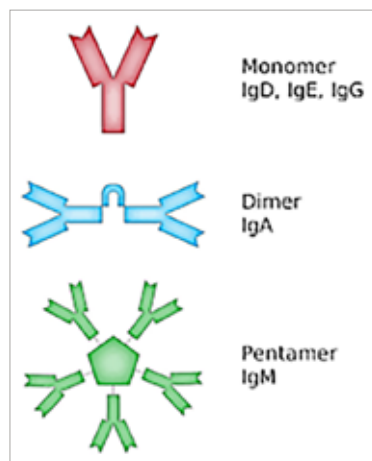
Antistoffen

De antistoffen vormen, zoals hiervoor gezegd, onze humorale immuniteit. De B-lymfocyten spelen een belangrijke rol in de antistofproductie, gestimuleerd door T-helper lymfocyten en cytokinen transformeren B-lymfocyten in plasmacellen. Deze plasmacellen kunnen één soort antistof produceren, gericht tegen één soort epitoom. Een epitoom is bijvoorbeeld een bepaald eiwit op een bacterie, een virus, schimmel of parasiet.

Antistoffen zijn er in vijf klassen: IgM, IgG, IgA, IgD en IgE. De basisstructuur is die van een monomeer zoals IgG, zie afbeelding 2 en 3. Deze bestaat uit vier eiwitketens die twee aan twee gelijk zijn. Twee zware of heavy chains en twee lichte of



Figuur 2



Figuur 3: vijf klassen Ig ingedeeld als monomeer, dimeer en pentameer.

light chains. Ieder monomeer heeft twee bindingsplaatsen voor antigene determinanten (epitopen). Deze bevinden zich aan het N-terminale uiteinde.

De immuniteit door middel van antistoffen hoort tot de specifieke immuniteit. Antistoffen kunnen alleen binden aan bijpassende antigenen. Zij kunnen binden aan bijvoorbeeld pathogene bacteriën en daardoor fagocytose bevorderen. Ook kunnen bacteriën onschadelijk gemaakt worden door binding aan a.s. in combinatie met complementfactoren, waardoor er lysis van de bacterie plaatsvindt en deze sterft.

Cellulaire immuniteit

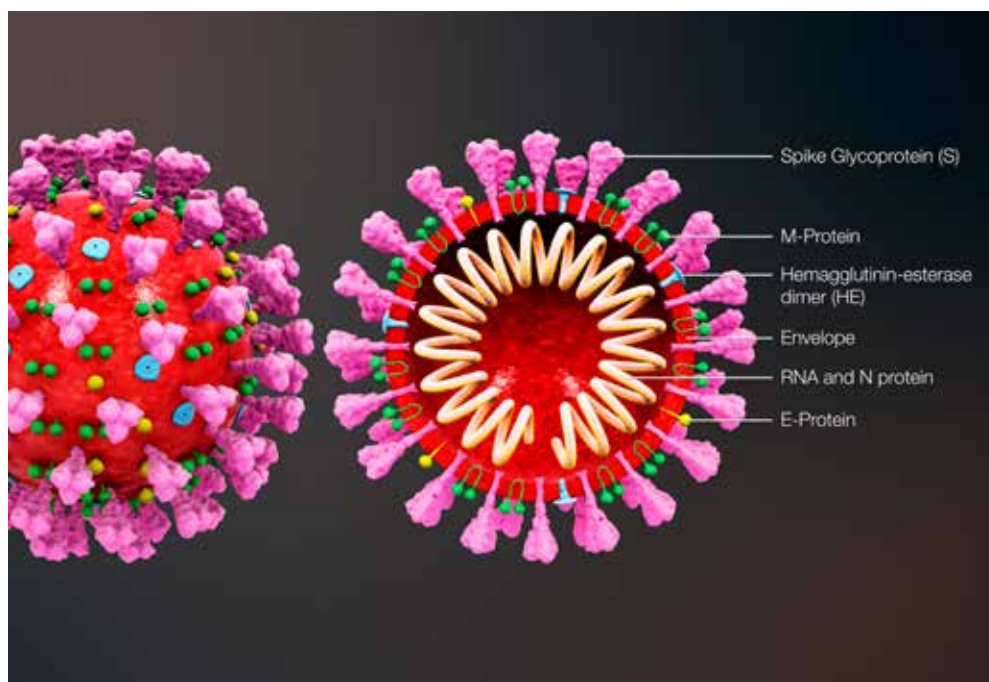
Een deel van de cellulaire immuniteit wordt aspecifiek genoemd. Granulocyten, monocyt en macrofagen kunnen grotere lichaamsvreemde deeltjes, zoals bacteriën, fagocyteren en afbreken. Daarnaast spelen de zogenaamde dendritische

cellen, aanwezig in de huid en slijmvliezen, een belangrijke rol als antigeen presenterende cellen samen met de macrofagen. Lichaamsvreemde stoffen, meestal eiwitachtige verbindingen, worden zodra ze het lichaam binnenkomen aangeboden aan de T-lymfocyten. Hierna volgt een controle op aanwezigheid van lichaamseigen HLA (humane leukocyten antigenen), omdat natuurlijk geen actie moet worden ondernomen als het een lichaamseigen cel betreft. Omdat virussen zich aan het zicht van het immuunsysteem kunnen onttrekken door in cellen van de gastheer te kruipen, leveren zij vaak problemen op. Door veranderingen in de gastheer cel en aan het celoppervlak, zijn ze vaak toch herkenbaar voor het cellulaire afweersysteem. Ze worden dan herkend als 'vreemd' door T-lymfocyten en vervolgens opgeruimd, met name door de T-killer lymfocyten.

Ook in de strijd tegen kankercellen speelt ons afweersysteem een grote rol. Een 'ontspoorde' lichaamseigen cel die is gaan woekeren zal op enig moment afwijkende eiwitstructuren op het celmembraan vertonen. De dendritische cellen zullen deze tumorcellen als het goed is herkennen en aanbieden aan de T-lymfocyten en de B-lymfocyten.

Het immunologisch geheugen

Er kan onderscheid gemaakt worden tussen actieve en passieve immuniteit. Passieve immuniteit is altijd tijdelijk en kan verkregen worden door het inspuiten van kant en klare antistoffen tegen een antigeen. Daarmee kan snel ingegrepen worden na onbeschermde blootstaan aan een infectiebron. Denk daarbij aan het actuele experiment van het toedienen van plasma van genezen, ex-Corona patiënten aan ernstig zieke Corona patiënten. De hoop bestaat dat de door de ex-patiënt gevormde a.s. het virus kunnen verzwakken. Deze a.s. zullen vrij snel na toediening verdwijnen en dan dus niet meer werkzaam zijn. Pas als iemand zelf de infectie succesvol bestreden heeft,



Figuur 4: het Coronavirus dat ons op dit moment in een houdgreep heeft.

spreekt men van actieve immuniteit. Het verwerven ervan kost meestal ruim een week. Het lichaam heeft zelf de binnengekomen antigenen bestreden en er zelf a.s. tegen gemaakt. Er is een pool van geheugen T-lymfocyten en B-lymfocyten gevormd, die bij een volgend contact met deze antigenen snel kunnen reageren en de a.g. onschadelijk kunnen maken. Vaak is de bescherming langdurig en zelfs levenslang. Sinds de uitvinding van het vaccineren hoeven we niet iedere ziekte door te maken om er een immunologisch geheugen voor te hebben. Verzwakte pathogenen of delen ervan kunnen worden ingespoten en er volgt meestal een prima bescherming tegen de bijbehorende ziekten.

Afwijkingen van het immuunsysteem

Er bestaan allerlei ernstige en minder ernstige afwijkingen van het immuunsysteem. Een zeer ernstig tekort doet zich voor bij kinderen die geboren worden met S.C.I.D (severe combined immunodeficiency). Hierbij schieten zowel de functie van de T-lymfocyten als die van de B-lymfocyten tekort. Dit geeft een zeldzaam, ernstig ziektebeeld met levensbedreigende infecties. Het eerste kind met dit ziektebeeld, dat wereld-

wijd bekend werd, heeft jarenlang in een soort maanmanneljespak geleefd ter bescherming tegen infecties. Hij werd dan ook bubble boy genoemd, zie figuur 5. Hij is slechts 12 jaar geworden.

Er bestaat ook een mildere vorm, CVID, common variabele immunodeficiëntie. Hierbij treden veelvuldig infecties op. Ook verworven immuundeficiënties kunnen een oorzaak zijn voor verhoogde kansen op infecties. Denk daarbij aan hiv-geïnfecteerden en kankerpatiënten die met

chemokuren worden behandeld. Het afweersysteem kan ook doorschieten, dit resulteert in auto-immuunziekten zoals diabetes mellitus type I, schildklierziekten zoals de ziekte van Graves en ziekte van Hashimoto, reumatische artritis etc. Ook allerlei allergieën zijn een uiting van een te actief immuunsysteem. Er wordt dan vooral IgE geproduceerd dat zich bindt aan zogenaamde mestcellen (lijken op basofiele granulocyten) die vervolgens histamine en cytokines uitstorten. Deze laatste stoffen veroorzaken de verschijnselen bij allergie.

Een ontstekingsreactie wordt in gang gezet door cytokines. Als hiervan er een overproductie plaatsvindt, een "cytokinstorm" genoemd, zal onnodig veel weefsel beschadigd raken.

Conclusie

In de afgelopen eeuw zijn we heel veel wijzer geworden over ons immuunsysteem. Toch stelt het ons nog steeds voor veel uitdagingen, denk daarbij in deze moeilijke Corona periode aan de ontwikkeling van een vaccin voor een tot nu toe volstrekt onbekend virus dat de hele wereld over gaat. Hopelijk wordt er wereldwijd volop samengewerkt om ook voor deze ziekte weer een oplossing te vinden. Een goed vaccin is daarbij onontbeerlijk! ◀

Figuur 5: Bubble boy David Vetter



Wat de boer niet kent, vindt hij lekker

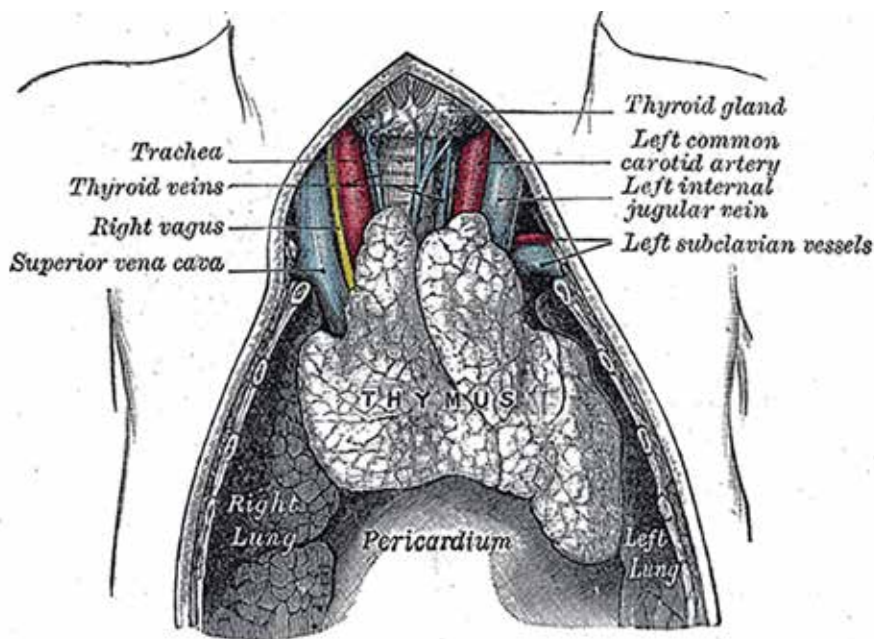
Ita Verweij, redactielid VAPvisie

Voor wie het nog niet weet; ik ben van de categorie 'wat de boer niet kent, eet hij niet'. Als ik uit eten ga bestel ik iets vertrouwds. Doe mij maar carpaccio vooraf, gevolgd door een steak met een Dame Blanche na. Een stampotje met een bal gehakt is ook goed. Voor mij geen sushi, rare fratsen of liflafjes. Vooral geen diners waarna je 's avonds nog trek krijgt in een boterham.

2008 – Het brainstormweekend van de VAP in de Ernst Sillem
Hoeve wordt afgesloten met een bezoek aan Beeld en Geluid in het Mediapark in Hilversum.
Gevolgd door een etentje bij een duur restaurant, dat kon toen nog. De VAP beleefde gouden tijden en het toenmalige bestuur was niet bang om geld uit te geven.
We zitten dus in een sjeke tent en ik kan op de menukaart niets vinden wat me bekend voorkomt. Veel vis, ook geen liefhebber van, en wat vegetarische en andere onbekende gerechten voor mij. Ik besluit de zwezerik te kiezen omdat daar de lekkerste bijgerechten bij geserveerd worden. En het klinkt als vlees.

Het is heerlijk. Het vlees smelt bijna in mijn mond en ik zou nog wel een bordje lusten.
Als we na het eten terugrijden naar huis vraagt mijn rijder wat ik gegeten heb. Na mijn antwoord reageert hij: "Weet je wel wat dat is?" Ik wist het niet en hij is niet te beroerd om het mij te vertellen. Het gekke is, ik had heerlijk gegeten, maar nu ik weet dat het om orgaanvlees gaat heb ik het nooit meer ergens anders besteld. (Dat kan natuurlijk ook zijn omdat ik niet zo vaak in dat soort sjeke zaken eet.)

Een zwezerik is dus een orgaan, dat ook wel de thymus genoemd wordt. Zwezerik wordt als een delicatessen beschouwd, het is dan ook een van de fijnste stukjes orgaanvlees.
De thymus of zwezerik is een



orgaan (een klier) en is bij kinderen en jonge zoogdieren te vinden tussen het borstbeen en de luchtpijp. Deze klier bestaat uit twee delen: de hartzwezerik die rond en compact is en de halszwezerik die langwerpig en los van structuur is. De zwezerik verschrompelt bij het volwassen worden. Wij, mensen, eten de zwezerik van kalf en lam.

Lange tijd heeft men gedacht dat de thymus een (vrijwel) nutteloos orgaan is. Pas sinds men is gaan experimenteren met het verwijderen van de thymus bij dieren (thymectomie) heeft men een idee van de functie van de thymus gekregen. De thymusklier is een van de belangrijkste organen in ons afweersysteem. Een belangrijk deel van de lymfocyten, de zogenaamde T-lymfocyten

worden er 'rijp'. Daarnaast speelt de thymus ook een essentiële rol bij de aanmaak van geheugencellen die het recept onthouden hoe de afweerstoffen tegen doorgeemaakte ziekten moeten worden aangemaakt.

Als de thymus bij jonge dieren verwijderd wordt, treden bij deze dieren daarna de volgende symptomen op:

- gewichtsverlies
- te langzame groei
- haaruitval
- algemene achteruitgang in de gezondheidstoestand
- veel infecties, met name ten gevolge van intracellulaire micro-organismen
- verminderde afstoting van - eventuele- transplantaten

Deze verschijnselen treden niet op als de thymectomie wordt

uitgevoerd bij oudere dieren. De verschijnselen kunnen worden voorkomen of teruggedraaid door na de thymectomie een stukje thymusweefsel terug in het lichaam te plaatsen.

Bij een (mensen)baby waarbij tijdens de embryonale ontwikkeling geen thymus was ontstaan, werden de volgende verschijnselen waargenomen:

- veel infecties
- geen vergroting van secundaire lymfoïde organen (onder andere milt en lever) tijdens infecties; de plaatsen waar zich normaal T-lymfocyten bevinden waren leeg
- iets verlaagde antilichamenconcentratie in de lichaamsvloeistoffen
- geen T-lymfocyten in het bloed

Deze en andere waarnemingen die men tijdens deze experimenten heeft verkregen, hebben geleid tot het formuleren van de volgende thymusfuncties:

- de thymus zorgt voor de ontwikkeling van lymfocyten tot T-lymfocyten, die gevoelig zijn voor een bepaald antigeen.
- de thymus zorgt voor de eliminatie van T-lymfocyten die op lichaamseigen epitopen passen (= autoreactieve klonen)
- de thymus produceert hormonen (onder andere thymosine) die de groei en het afweersysteem stimuleren.

De thymus en/of thymosine is nodig bij het eerste contact van het lichaam met een antigeen om de T-cel-respons op gang te brengen. In de eerste levensjaren ontmoet de mens bijna alle antigenen die een cellulaire immunerespons kunnen opwekken. Later wordt het aantal nieuwe ontmoetingen dus steeds kleiner, waardoor de thymus minder te doen heeft, en langzaam involueert.

De zwezerik is bleek, wat slap, knobbelig en vormloos en moet voor het bereiden eerst een uur goed gespoeld worden. Daarna wordt de zwezerik gepocheerd in bouillon. Vervolgens met koud water afgespoeld en na het uitlekken worden de vliezen

en knobbels verwijderd. Als de zwezerik koud is, wordt het vlees in plakken gesneden en gebakken of verwerkt in een terrine. Een zwezerik kan ook koud gegeten worden, meestal met mayonaise. De hartzwezerik is groter en malser dan de keelzwezerik, die eigenlijk alleen geschikt is voor terrines en mousses. Zwezerik bevat veel eiwitten, fosfor en zink. Het is een van de weinige dierlijke voedingsmiddelen die vitamine C bevat.

Dus mensen zet het op het menu.

KROKANTE KALFSZWEZERIK MET PUREE VAN KNOLSelderij EN MOSTERDVINAIGRETTE VOOR 4 PERSONEN

Krokante kalfszwezerik

1 l water
1 tl zout
400 g kalfszwezerik
1 l runderbouillon
2 teentjes knoflook
2 verse laurierblaadjes
2 takjes tijm
2 el bloem
olijfolie
2 el boter

Puree van knolselderij

0.5 knolselderij
1 kropsla
2 el boter
50 ml slagroom

Mosterdvinaigrette

2 el grove mosterd
1 el honing
1 el witte wijnazijn
250 ml Franse olijfolie
1 sinaasappel
Pastinaakbattonnets
2 pastinaken
3 el reuzel

Bereidingswijze Zwezerik

Schenk het water in een kom/pan en voeg het zout toe. Voeg de kalfszwezerik toe aan het water en laat circa 1 uur staan. Breng in een pan de bouillon, knoflook, blaadjes laurier en de tijm aan de kook. Pocheer de zwezerik tegen de kook aan in circa 20 minuten gaar. Zet het vuur uit en laat de zwezerik circa 1 uur in

zijn eigen kookvocht afkoelen. Pel de zwezerik, dep goed droog met keukenpapier en snijd in plakken van circa 2 centimeter dik. Bestrooi de zwezerik met een beetje zout en versgemalen peper en bloem licht. Verhit een scheutje olie en de boter in een pan en laat goed heet worden. Bak de zwezerik om en om in circa 4 minuten goudbruin. Laat het vlees uitlekken op een bord met keukenpapier.

Puree van knolselderij

Schil en snijd de knolselderij in stukken. Kook de knolselderij in een pan met water en een beetje zout in circa 15 minuten gaar. Giet de knolselderij af. Leg op een schone theedoek en knijp het overtollige vocht eruit. Pluk de sla grof en voeg samen met de knolselderij toe aan de keukenmachine. Pureer fijn en meng met boter en slagroom. Breng de puree op smaak met een beetje zout en versgemalen peper.

Mosterdvinaigrette

Meng de mosterd, honing en wijnazijn met elkaar. Voeg druppelsgewijs de olijfolie toe en breng het geheel op smaak met een beetje zout en versgemalen peper. Rasp de schil van de sinaasappel en roer door de vinaigrette.

Pastinaakbattonnets

Schil en snijd de pastinaken in de lengte in vieren. Blancheer in circa 2 minuten beetgaar. Verhit de reuzel in een koekenpan en bak de pastinaak in circa 3 minuten goudbruin.

Serveren

Serveer de puree in strepen over borden. Verdeel kalfszwezerik op het bord en druppel de vinaigrette eromheen. Garneer met de pastinaakbattonnets. ◀

Symposium Fertiliteit

donderdag 24 september 2020

Meander Medisch Centrum Amersfoort

Programma

Dagvoorzitter: Dr. A. Derijck, klinisch embryoloog, Amsterdam UMC, locatie AMC

12:30 – 13:10 Ontvangst met koffie, thee en broodje

13:10 – 13:25 Opening

13:25 – 13:45 De beste methode voor het invriezen van semen

13:45 – 14:15 Biopt prepuberale jongens voor chemotherapie

Drs. I. Masliukaite, klinisch embryoloog i.o., Amsterdam UMC, locatie AMC, Amsterdam

14:15 – 14:45 Intracervicale inseminatie vergeleken met intrauteriene inseminatie voor vrouwen die starten met een behandeling met donorsperma in de natuurlijke cyclus: een gerandomiseerde studie.

Dr. F. Kop, artsassistent, Amsterdam UMC, locatie AMC, Amsterdam

14:45 – 15:05 Thee pauze

15:05 – 15:35 Fertiliteit in het dierenrijk

Constanze Mager, biologe van koninklijke Burgers' Zoo

15:35 – 16:05 Donoren en het netwerken van de donorkinderen

Ing. A. Duursma, senior andrologie analist, Amsterdam UMC, locatie AMC, Amsterdam

16:05 - Afsluiting

In verband met COVID-19 worden alle NVML-nascholingsactiviteiten aangepast volgens de richtlijnen van de overheid/RIVM. De maatregelen hiervoor worden uitgewerkt. Zo nodig ontvangt u hierover na inschrijving nader bericht.



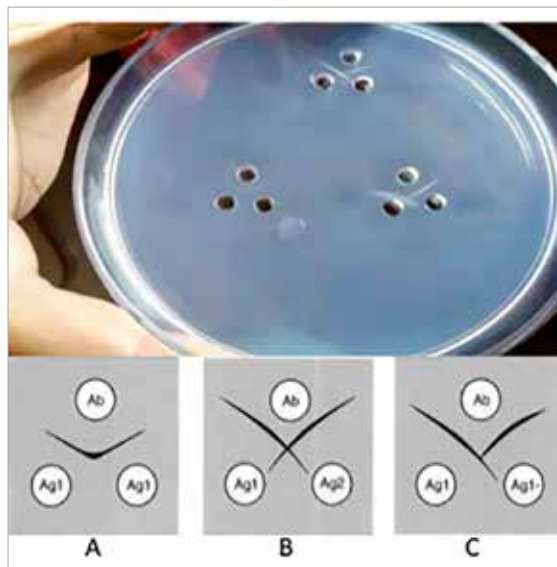
Geschiedenis van de Immunochemie

Jacques Heeren, voormalig leraar Brabantse Medisch Analistenschool te Breda,
Anneke Barends-Kraak, analist Afdeling Klinische Chemie, ErasmusMC te Rotterdam,
Jos Wielders, klinisch chemicus en voorzitter Historische Cie NVKC

Immunologie is de leer van biologische en biochemische afweer van ons lichaam tegen bacteriën, virussen en schimmels. Het lijkt nieuw maar de basis werd al in de 5e eeuw voor Christus beschreven door de Griek Thucydides, die tijdens de Plag van Athene (waarschijnlijk een Ebola verwant virus) ziek werd. Hij overleefde en merkte op dat mensen die de ziekte hadden doorgemaakt, andere zieken konden verplegen zonder opnieuw ziek te worden. Het woord immuun komt uit het Latijn en betekent vrijgesteld (van krijgsplicht en belastingen). In essentie ontwikkelt het lichaam antistoffen, ook antilichamen genoemd, tegen (een deel van) de vreemde stof of indringer, het antigeen. Immunochemie gebruikt de zeer gevoelige en specifieke binding van antistoffen aan antigenen om deze aan te tonen of te meten, zowel op cellen (eiwitten) als vrij in serum (onder andere hormonen).

Boerhave beschreef in 1728 dat mensen die met pokken in aanraking waren gekomen niet opnieuw ziek werden. Edward Jenner hoorde dat koeienmelksters, die in contact waren geweest met koepokken, geen pokken kregen. Dat bracht hem op het idee van vaccinatie

Edward Jenner met James Phipps



Observation & Result

A-Identity - fusion of lines at their junction to form an arc (presence of common epitopes).

B-Non-Identity - It demonstrate 2 separate reactions. (antigen shared no common epitopes).

C-Partial identity - Fusion of 2 lines partially (Pricipitin lines do not form a complete cross).

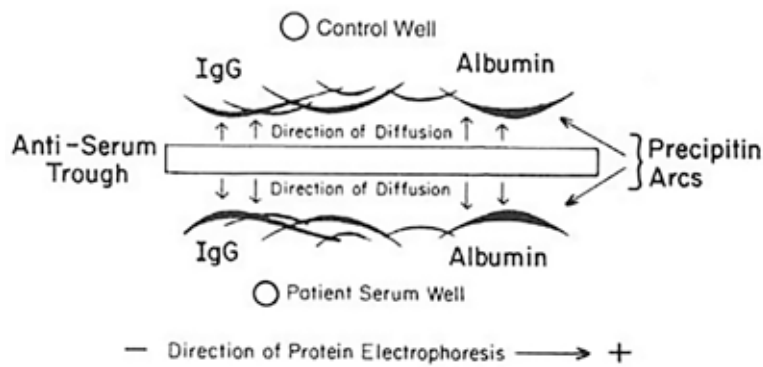
voor pokken en in 1796 bracht hij materiaal uit koepokken in bij een gezonde jongen die hierdoor immuun werd. De naam vaccinatie, bedacht door Pasteur, is afgeleid van het Latijnse woord voor koe, vacca.

Pas in de 19e eeuw werden grote ontdekkingen gedaan op het gebied van immunochemie. Robert Koch (ontdekker van de tuberculose bacterie) en zijn assistenten, Emil von Behring en Paul Ehrlich (die een 'chemotherapie' tegen

syphilis ontwikkelde en bewees dat kleurstoffen zure, basische en neutrale granulae konden kleuren in bloedcellen) hebben de immunologie en dus ook de immunochemie impulsen gegeven door de ontdekking en beschrijving van antistoffen onder andere tegen difterie (1890 Behring). Deze serum therapie hield niets minder in dan het injecteren met verzwakte bacteriën bij dieren waardoor zij antitoxines produceerden die na toediening leidde tot immuniteit (passieve immunisatie). Later werden direct verzwakte bacteriën ingespoten waardoor actieve immunisatie optrad.

De ontwikkeling van immunochemie kwam op gang nadat ontdekt werd dat antilichamen uit eiwitten bestonden. In 1926 bewees Tiselius door elektroforese dat deze eiwitten in de gamma fractie van serum voorkomen. Later werden onder meer IgA, IgG en IgM onderscheiden. De eerste immunochemische kwalitatieve methode die in laboratoria gebruikt werd was de dubbel immunodiffusie methode van Ouchterlony in 1948. In 1965 werd deze methode door Mancini tot een kwantitatieve methode ontwikkeld, de radiaal immunodiffusie methode (RID), waarmee tot in de jaren 80 speciale eiwitten gemeten werden.

Immunoэлектрофорез



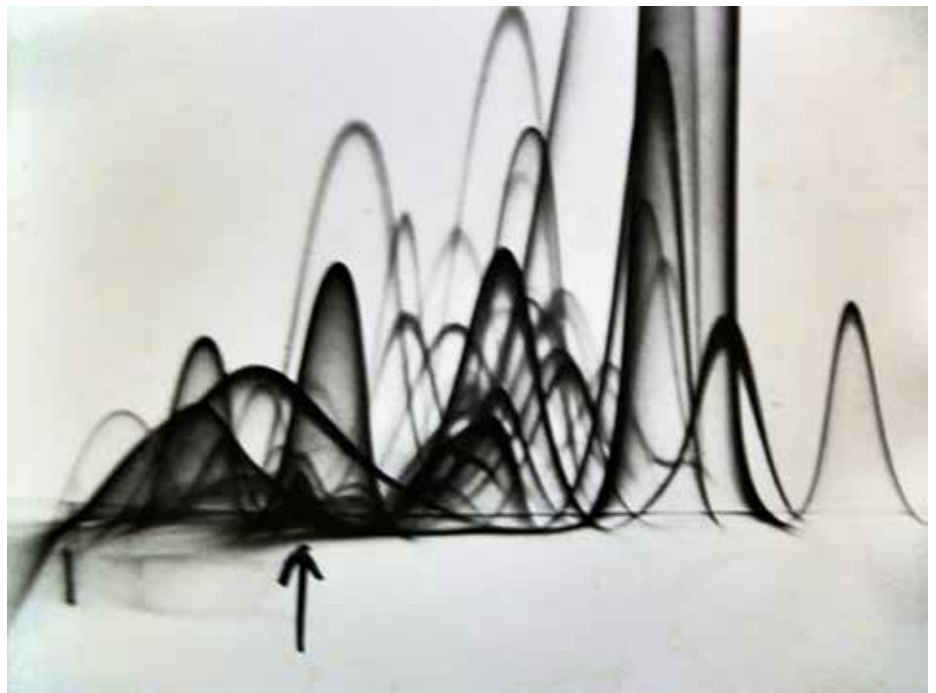
speciale nefelometers of op standaard klinische chemie analysers (turbidimetrie).

Om stoffen zoals hormonen gevoelig te kunnen meten, werd vanaf de jaren 70 een label gebonden aan de antistof, zodat na wassen van ongebonden antistof de gebonden gelabelde antistof gemeten kon worden: bindingsanalyse. In het begin werden alleen radioactieve isotopen met een korte halfwaarde gebonden, zoals I125 bij RIA's (Radio Immuno Assay), die ontwikkeld werd door Yalow en collega's. Hiervoor was

In 1953 ontwikkelde Grabar en Williams een methode waarbij de elektroforetische en immunochemische eigenschappen van verschillende antilichamen gecombineerd werden. Na elektroforese in een agar gel werd in een langwerpige trog een polyvalent antiserum gebracht. Door diffusie ontstonden dan de karakteristieke boog-precipitatie.

Als alternatief voor kwantitatieve metingen werd rond 1966 de rocket immuno elektroforese techniek ontwikkeld door Laurell. De hoogte van de piek (rocket) is een maat voor de antigeen concentratie in het monster.

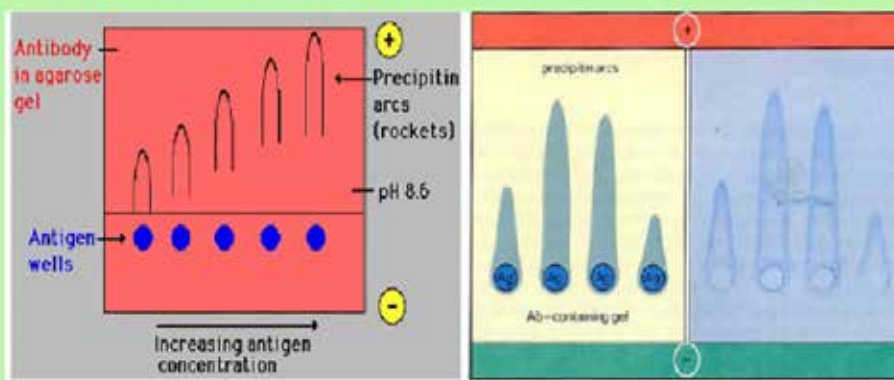
Later combineerde Laurell dit met de agar elektroforese tot de crossed-immuno elektroforese techniek. In de eerste dimensie werd een gewone eiwit elektroforese uitgevoerd en daarna in de tweede dimensie (dus crossed) de immuno elektroforese, zoals bij de rocket techniek. In deze Laurell plaatjes konden wel 50 serum proteïnen onderscheiden worden en semi-kwantitatief gemeten. De productie van polyclonale en



monoclonale antilichamen maakte de kwantitatieve bepaling van eiwitten met behulp van nefelometrie en turbidimetrie mogelijk en daarmee in de jaren 90 de automatisering en toepassing op

wel een apart isotopenlaboratorium nodig met speciaal opgeleid personeel. Door deze techniek werden vooral de endocrinologische bepalingen fors uitgebreid. Na de introductie van andere labels zoals enzymen en fluorescentie werden isotopen laboratoria binnen de klinische chemie langzamerhand opgedoekt. Immunochemie heden ten dage houdt zich onder meer bezig met dierbehandelingsmiddelen zoals chlooramfenicol, allergenen, biomarkers en hormonen, kortom alles wat door middel van antigeen-antistof verbinding aangetoond kan worden. Hormoon bepalingen worden in toenemende mate overgenomen door gevoelige massaspectrometrie methoden. ◀

Rocket Immunoэлектрофорез



COVID-19: infectie, ontsteking en immuniteit

Prof.dr.ir. Huub F.J. Savelkoul, Hoogleraar Celbiologie en Immunologie, Wageningen University & Research

De huidige pandemie met het SARS-CoV-2 virus heeft wereldwijd grote gevolgen voor de gezondheidsstatus van de bevolking, zet het zorgsysteem onder enorme druk en heeft een keur aan economische en psychosociale gevolgen. Naast de periode om het virus te leren kennen, de infectie in te dammen en de gevolgen voor het zorgsysteem te beteugelen is er nu een volgende fase aangebroken, waarin de opbouw van immuniteit voor het virus cruciaal is met daarbij vragen als de mate en langdurigheid van de immuniteit na infectie en basis van het ontwerpen van effectieve vaccins. Deze onderwerpen komen in dit overzicht aan de orde.

Coronavirus infectie

SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) is een Coronavirus (bèta-coronavirus) waarvan 7 soorten bekend zijn die in staat zijn om mensen te infecteren. Vier andere typen humane coronavirussen, HCoV-229E, NL63, OC43 en HKU1, leiden tot verkoudheden in 15-30% van de wereldwijde gevallen. Twee van deze virussen OC43 en HKU1 zijn bèta-coronavirussen, net als SARS en MERS en samen met SARS-CoV-2, zijn het zoönotische virussen die van dieren naar mensen zijn overgesprongen. Het reservoir lijken in alle gevallen vleermuizen te zijn, al of niet met een tussengastheer, zoals het schubdier in geval van SARS-CoV-2. De analyse van honderden stammen van het COVID-19 (corona virus induced disease 2019) veroorzakende virus liet zien dat er een 99% homologie tussen die stammen bestaat hetgeen betekent dat het virus niet of nauwelijks muteert en dat is goed nieuws om een vaccin te kunnen maken.

De aantallen van het SARS-CoV-2 virus (virale lading) is een merker om de ernst en de prognose van de ziekte vast te stellen. Bij ernstige ziekte is de virale lading een factor 60 keer hoger dan bij een milde ziekte, waarbij het virus ook nog versneld wordt geklaard.

De virale lading varieert van 641 kopieën per mL tot 1.34×10^{11} kopieën per mL bloed of weefselvocht, met gemiddeld 8×10^4 in keelmonsters en 7.5×10^5 in

speekselmonsters, waarbij de waarden in de eerste week van de infectie het hoogst waren.

De uitscheiding van het virus na infectie bedraagt gemiddeld ongeveer 20 dagen waarbij ouderen meer virus uitscheiden dan jongeren.

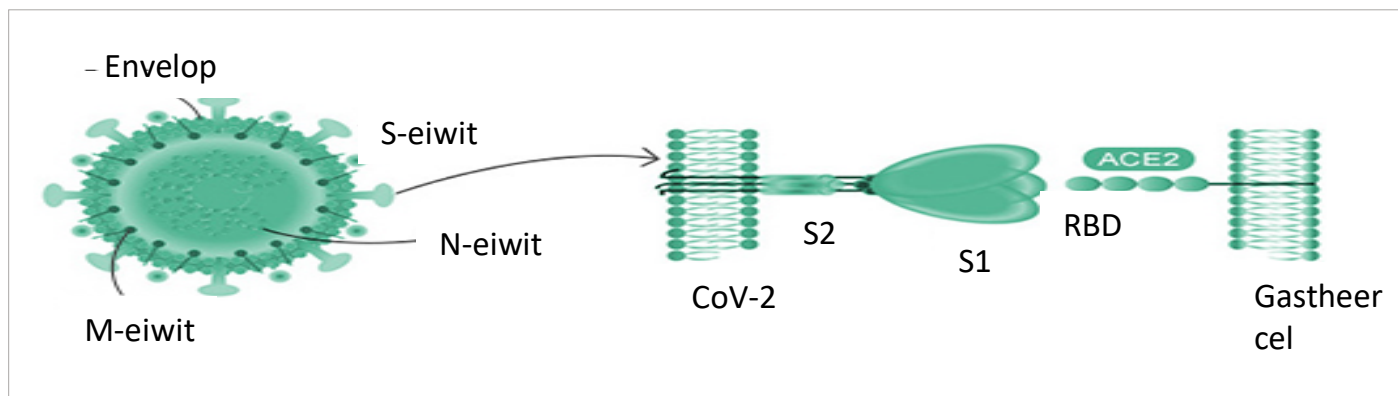
Coronavirus

Het huidige SARS Coronavirus-2 heeft een 80% gelijkheid van het RNA met het SARS-virus tijdens de uitbraak van 2002-2003. Het is een positief enkelstrengs RNA-virus met een uitzonderlijk groot genoom (29.8 kilo baseparen). De coronavirus virions zijn bolvormig met een diameter van ongeveer 125 nm. De virussen hebben 4 structurele eiwitten: het spike (S), membraan (M), envelop (E) en nucleocapside (N) eiwit die allemaal aan het 3' uiteinde van het genoom worden gecodeerd. Het kenmerkende S-eiwit (150 kDa) gebruikt zijn N-terminale signaalsequentie om toegang te krijgen tot het endoplasmatisch reticulum van de gastheercel, is sterk N-geglycosyleerd en homotrimeren van het S-eiwit geven onder de elektronenmicroscopie de kenmerkende kransstructuur ('corona'). Het virus wordt aangetoond met kwantitatieve reverse transcriptie PCR-reacties die zijn gericht op twee targets: het E-gen en het RdRP-gen. Hierbij moet men wel beseffen dat een positieve uitslag aangeeft dat RNA is gedetecteerd en niet of er nog actief virus aanwezig is.

Het trimere S glycoproteïne is een fusie-eiwit dat bindt aan de receptor op de gastheercel. Het S-eiwit wordt vervolgens door de gastheercel met een furine-achtige eiwitsplitsend enzym in twee polypeptiden geknipt, S1 en S2. S1 van SARS-CoV-2 heeft ten opzichte van SARS-CoV een uitgebreide en uitstekende lus-structuur bestaande uit basische aminozuren dat het receptor-bindend domein (RBD) van het molecuul vormt.

Gastheerreceptor

Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) is de cellulaire receptor voor het nieuwe coronavirus (SARS-CoV-2) dat de COVID-19 epidemie veroorzaakt. ACE2 is van belang in de rijping van angiotensine, een peptidehormoon dat bloedvatvernauwing en de bloeddruk regelt. ACE2 wordt gekidnapt door SARS-CoV-2 virus om lichaamscellen binnen te dringen en het virale genoom in het cytoplasma te brengen. ACE2 bevat tenminste vijf specifieke aminozuren die kritisch zijn voor de binding aan het S-eiwit van SARS-CoV-2. Het SARS-CoV-2 S-eiwit bindt ACE2 met een hogere affiniteit dan het SARS-eiwit. Daarnaast bleken monoklonale antistoffen gericht tegen het receptor bindend gedeelte van het S-eiwit van het SARS-virus niet kruis te reageren met het receptor bindend deel van het huidige SARS-CoV-2. Het gaat hier dus om twee structureel verschillende epitopen.



Schematische weergave van initiële fase van SARS-CoV-2 infectie

De receptor voor het virus is het angiotensin-converting enzym 2 (ACE2) en komt in de menselijke long voor op 83% van de type II alveolaire epitheliale cellen, waarbij er bij mannen een hogere expressie op die cellen is dan bij vrouwen. Omdat het SARS-CoV-2 heel goed in staat is het humane ACE2 eiwit efficiënt te binden, verklaart dit de overdraagbaarheid van het virus van mens naar mens.

Slechts een klein deel van de immuuncellen die in de long aanwezig zijn (residente monocyt en alveolaire macrofagen) dragen de ACE2 receptor en het is nog niet goed bekend of deze cellen rechtstreeks door het CoV-2 virus worden geïnfecteerd of dat er een andere receptor door het virus wordt gebruikt of dat er een ander mechanisme wordt gebruikt waarbij antistoffen zijn betrokken.

COVID-19 ziekte

De binding van SARS-CoV-2 aan ACE2 op gastheercellen leidt tot schade aan deze cellen waardoor systemische reacties kunnen ontstaan. Bij obesitas is er een chronische ontsteking in het vetweefsel met een continue geactiveerd immuunsysteem waardoor dat sterker op infectie met CoV-2 reageert. Daarnaast hebben deze mensen vaker hart- en vaatziekten en type 2 diabetes type 2 waardoor ze mede vatbaarder zijn voor deze infectie. Ook treden bij COVID-19 patiënten vaak het 'Acute Respiratory Disease Syndrome (ARDS)', 'dat samen met het optreden van septische shockverantwoordelijk is voor de vaak ernstige complicaties. Roken veroorzaakt beschadiging aan de longen en leidt tot een verminderde immuunstatus en daarmee tot een verhoogde gevoeligheid voor infectieziekten. Daarmee is roken gekoppeld aan een verhoogde gevoeligheid voor COVID-19.

ACE2 komt ook tot expressie op epitheelcellen in de tubuli in de nieren en Leydigcellen in de testis. Door het virus COVID-19 kunnen dus nieren en testikels worden beschadigd, met name in jonge patiënten die de infectie overleven. Ook zijn bij COVID-19 neurologische verschijnselen beschreven, waaronder verlies van reukzin (hyposmie/anosmie) en smaakzin (dysgeusie), hetgeen ook wordt gevonden na infectie met SARS en andere coronavirussen en zelfs influenza.

Verspreiding vindt in 41% van de gevallen plaats in een ziekenhuis, en is dus een nosocomiale verspreiding. Het virus verspreidt via grote druppels (5 micrometer met een verspreiding tot 1,5 meter) en aerosolen (0,2 micrometer doorsnede en een verspreiding tot wel meer dan 5 meter) die worden veroorzaakt door niezen, hoesten, braken maar ook door contact met gecontamineerde kleding, tissues, mondmaskers, etc. Deze indirecte overdracht is mogelijk wanneer een persoon met de handen besmette oppervlakten en voorwerpen heeft aangeraakt waarop voldoende infectieus virus aanwezig is en daarna de mond, ogen of neus aanraakt, dit gebeurt bij de meeste mensen gemiddeld 24 keer per uur. De aerosol transmissie mechanismen zijn nog steeds niet goed bekend en worden door diverse pathogene virussen gebruikt.

Epidemiologie van COVID-19

Wereldwijd waren er op 7 mei jl., 3.713.796 cases van COVID-19 (gebaseerd op positieve PCR testen) met inmiddels 263.288 overledenen. In Nederland zijn er dan 41.774 positief geteste personen, met 11.192 ziekenhuisopnames en 5.288 overleden personen en inmiddels zijn er minder dan 50 cases per 100 000 inwoners. De werkelijke aantallen Coronadoden zijn

hoger omdat lang niet alle overledenen waren getest. Het CBS komt tot een factor 1,5 keer hoger dan de RIVM-getallen op basis van de berekening van oversterfte die waarschijnlijk ten gevolge is van het coronavirus.

In Nederland worden jaarlijks circa 400.000 mensen ziek van de gewone griep. Die griep eist volgens het CBS bij ons jaarlijks gemiddeld zo'n 2.000 levens, met uitschieters naar 9.400 griepdoden in 2017/2018 en nul griepdoden in 2013/2014, toen we nauwelijks een griepseizoen hadden. Daarmee komt het gemiddelde sterftepercentage uit op rond de 0,5 procent. Veruit de meeste griepdoden zijn ouderen van boven de 60 jaar.

De gemiddelde incubatieperiode van het virus bedraagt 3 tot 7 dagen en ongeveer in 80% van de gevallen verloopt de infectie mild of asymptomatisch, bij 15% zijn de klachten ernstig en is zuurstoftoediening nodig, en in 5% van de geïnfecteerden wordt de situatie kritiek en is opname op de intensive care en continue beademing noodzakelijk. Bij de meeste mensen met deze infectie is de mediane incubatieperiode ongeveer 4-5 dagen voordat de eerste symptomen optreden en waarbij vrijwel iedereen binnen 11,5 dagen de eerste symptomen krijgt. Het overlijdensrisico (fatality rate) varieert tussen 2,8% (bij mannen) en 1,7% (bij vrouwen). Omdat het ACE2 gen een X-chromosoom gebonden gen is, kunnen er allelen zijn die een mate van bescherming tegen COVID-19 geven, waardoor het risico bij vrouwen dan kleiner is dan bij mannen.

COVID-19 symptomen

De meeste geïnfecteerde patiënten zijn mannen (73%), en bijna de helft van de patiënten heeft een onderliggende ziekte, zoals diabetes (20%), hypertensie

(15%), en hart- en vaatziekten (15%). De meest voorkomende symptomen zijn koorts (98%), hoesten (76%), en myalgie of ernstige vermoeidheid (44%); en weinig voorkomende symptomen zijn sputum productie (28%), hoofdpijn (8%), en diarree (3%). Dyspneu kwam voor in 55% van de patiënten binnen 8 dagen na infectie. Daarnaast ontwikkelde 63% van de patiënten een lymfopenie. Alle patiënten hadden longontsteking met afwijkingen op de long CT-scan. Bij een COVID-19 longontsteking was de gemiddelde incubatieperiode 5,2 dagen. Resultaten uit allerlei studies laten zien dat er 1-3 dagen voor start van symptomen transmissie kan plaatsvinden en dat asymptomatische overdracht een rol kan spelen.

Calamiteiten die bij COVID-19 worden gevonden zijn ARDS, acuut hartfalen en secundaire infecties. Van de patiënten met in 20% ernstige symptomen kwamen er 5% op de intensive care terecht waarbij er 1,5% overleden. Icpatiënten hadden hoge plasmaspiegels aan cytokines zoals IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1a en vooral TNF- α . De case-fatality ratio is wereldwijd zo'n 2,8%, met grote verschillen per regio en per leeftijd: in 90-plussers was de ratio 22,7%. Er werd een mediane tijd tussen ernstige symptomen van COVID-19 en overlijden gevonden van 13 dagen.

Sommige mensen die positief zijn getest voor het coronavirus, merken dat ze niets meer ruiken of proeven. Het lijkt erop dat dit reukverlies een symptoom van de besmetting is, en dat dit bij sommige mensen zelfs het enige symptoom is. Het verlies van het reukvermogen komt ook voor bij luchtweginfecties door andere virussen die griep en verkoudheid veroorzaken, zoals influenzavirussen en andere reeds bekende coronavirussen. Hoe virussen dit veroorzaken is niet goed bekend. Waarschijnlijk maken ze de cellen van het reukorgaan boven in de neus stuk.

Zwangerschap en Covid19

Er zijn geen aanwijzingen dat een SARS-CoV-2-infectie bij gezonde zwangere vrouwen anders verloopt dan bij niet-zwangeren. Maar net als bij sommige andere virale respiratoire infecties kunnen complicaties optreden zoals een pneumonie en koorts die bij zwangere vrouwen ernstiger verlopen, met name in het derde trimester (>28 weken) van de zwangerschap. Dit kan (mede) het

gevolg zijn van de immunosuppressieve staat om de zwangerschap succesvol te laten verlopen. Er zijn een paar recente studies die aanwijzingen geven dat verticale transmissie van COVID-19 van moeder naar foetus mogelijk is.

Kinderen en COVID-19

Een bijzondere patiëntenpopulatie vormen kinderen. Kinderen kunnen worden geïnfecteerd maar ontwikkelen in grote meerderheid geen of slechts milde symptomen (zonder longontsteking of koorts) en zonder onderliggend lijden zullen zij vrijwel niet aan de gevolgen van de Corona virusinfectie overlijden. Er is gesuggereerd dat kinderen geen cytokinenstorm maken en daardoor geen ernstige, ongecontroleerde en beschadigende ontstekingen oplopen. De bloedwaarden en CRP-spiegels bij pediatrische patiënten zijn vaak volledig normaal, en besmette kinderen herstellen volledig binnen 1-2 weken.

Besmettelijkheid SARS-CoV-2

Hoe besmettelijk het virus is en hoe snel het zich verspreidt, is nog niet goed bekend. Mazelen is besmettelijker dan enig ander virus: elk geval van mazelen veroorzaakt twaalf tot achttien nieuwe gevallen, vergeleken met ongeveer zes voor polio, pokken en rodehond. Elk geval van het nieuwe coronavirus veroorzaakt naar schatting twee tot drie andere. De reden dat de mazelen zo viraal is, komt doordat het virus zo klein is dat het in de lucht kan blijven hangen daar waar een geïnfecteerde persoon tot twee uur eerder hoestte of niesde. Het is daardoor een van de weinige virussen dat kan bestaan als een echte aerosol. Het vermeerderingsgetal waarmee wordt aangegeven hoe besmettelijk een virus is aan het begin van een uitbraak (R_0), wordt nu geschat op 2,2. Dat betekent dat elke besmette persoon gemiddeld 2,2 andere mensen besmet. De tijd tussen besmetting en het begin van de symptomen is gemiddeld 5 dagen, maar kan ook twee weken zijn. De waarde voor R is daarbij niet constant. De R_0 staat voor de besmettelijkheid van een ziekteverwekker aan het begin van een uitbraak. Er wordt dan vanuit gegaan dat iedereen even vatbaar is, en er nog geen maatregelen zijn genomen. Om een uitbraak in te dammen en uit te doven moet de R onder de 1 komen. Dat kan bereikt worden door maatregelen te nemen.

Ouderen en COVID-19

COVID-19 kan alle leeftijden treffen maar van de mensen die op de IC terechtkomen is 80% ouder dan 50 jaar. Ouderen en mensen met chronische ziekten lopen dus meer risico. Ze kunnen makkelijker ernstig ziek worden of overlijden bij besmetting met het nieuwe coronavirus. Mensen van 0 jaar tot 95-plus belanden in het ziekenhuis, maar kinderen en jonge mensen duidelijk minder vaak. De meest voorkomende onderliggende aandoeningen bij de opgenomen patiënten zijn hart- en vaatziekten, hoge bloeddruk, chronische longaandoeningen en diabetes. Ook mensen met chronische nierziekte en mensen met een verminderde afweer door een ziekte of door medicijnen zijn kwetsbaar. Met de leeftijd stijgt ook de kans op een ernstig beloop van COVID-19: van alle gemelde patiënten is de helft 60 jaar of ouder. De helft van de opgenomen patiënten was 69 jaar of ouder, bij de overleden patiënten was de helft 82 jaar of ouder. Dat verschil lijkt een genetische oorsprong te hebben. Een groot probleem bij COVID-19 is de zogeheten cytokinenstorm, die kan optreden als een virale longontsteking ernstig wordt. Het is een forse ongecontroleerde reactie van het afweersysteem tegen de grote hoeveelheid virus, die onbedoeld ook het lichaam zwaar beschadigt. Het antwoord van het afweersysteem op een infectie wordt gereguleerd door genen die op het X-chromosoom liggen. Vrouwen hebben twee X-chromosomen, in tegenstelling tot mannen. Het lijkt erop dat sommige regulerende genen op dat X-chromosoom actief zijn en bijdragen aan een beter gecontroleerde en actievere afweer bij vrouwen.

Corona-specifieke immuunrespons

Innate immuunrespons

De fysiologische respons na virusinfectie begint op cellulair niveau wanneer het virus zich begint te vermenigvuldigen. Het immuunsysteem van de gastheer reageert op deze vreemde RNA-moleculen. Deze RNA-virussen worden herkend door twee verschillende typen 'pattern recognition' receptoren (PRR): de membraangebonden Toll-like receptoren (TLR) en de RIG-I-receptoren in het cytoplasma van de cel. Deze receptoren horen bij het aangeboren (of innate) immuunsysteem, dat de eerste en snelle herkenning van binnendringers op zich neemt. Als gevolg van de herkenning

van het RNA treedt in de cel een activatie op die leidt tot de productie van type I interferonen (IFN- α en IFN- β) en andere antivirale eiwitten. Het vrijgekomen IFN- α/β bindt aan specifieke receptoren die altijd op alle naburige cellen zitten en die door deze binding worden geactiveerd en er worden dan vele verschillende antivirale eiwitten gemaakt (zoals type II interferon, IFN- γ), die de virus translatie, replicatie, het binnendringen en de virusuitscheiding remmen. Daarnaast zorgen deze eiwitten (waaronder chemokines) voor de aantrekking van diverse typen witte bloedcellen waaronder neutrofiele granulocyten, monocyt en macrofagen, dendritische cellen en T-cellen, waardoor er op de plek van de infectie een ontstekingsreactie op gang komt. Deze immuunreactie is kenmerkend voor infectie met virussen maar niet met corona-virussen. Ondanks de ophoping van veel coronavirus RNA in de gastheercellen vindt er geen productie van IFN- α/β plaats. Waarschijnlijk zit dit RNA in de cel ingepakt in een organel waarin de virus replicatie en synthese plaatsvindt. Daarnaast blijken veel coronavirussen resistent tegen de dodelijke activiteit van interferonen. Tevens zijn coronavirussen in staat de transcriptie-activiteit in gastheercellen te remmen waardoor deze cellen ook al minder antivirale eiwitten kunnen maken. Dit

geldt niet voor alle eiwitten: interleukine (IL)-6 wordt bijvoorbeeld in normale hoeveelheden gemaakt en dat cytokine zorgt ervoor dat de ontstekingsreactie toch op gang komt en zich zelfs kan uiten in een langdurige hyperontsteking. Acute ontsteking (gepaard gaand met koorts) is essentieel om de virus geïnfecteerde cellen op te ruimen, maar chronische ontsteking (langer dan 2 weken) resulteert vaak in remming van de beschermende immuunactivatie waardoor de symptomen van de infectie juist verergeren.

Bij COVID-19 is de immuunrespons dus niet goed gereguleerd waardoor er een ophoping van immuuncellen (waaronder ook T-cellen) in de longen plaatsvindt, gepaard gaande met een overproductie van ontstekingsbevorderende cytokines, die de long beschadigen. Deze cytokienestorm komt ook terecht in het bloed en kan andere organen beschadigen (multi-orgaanschade), zoals de nieren, het hart en uiteindelijk ook de hersenen. Daarnaast maken de B-cellen veel antistoffen aan die het virus wel kunnen binden maar niet de binding van het virus aan zijn ACE2 receptor blokkeren, het zijn dus geen neutraliserende antistoffen. Wanneer deze antistoffen het virus binden en vervolgens als een immuuncomplex op zijn beurt aan macrofagen binden kan er een verdere

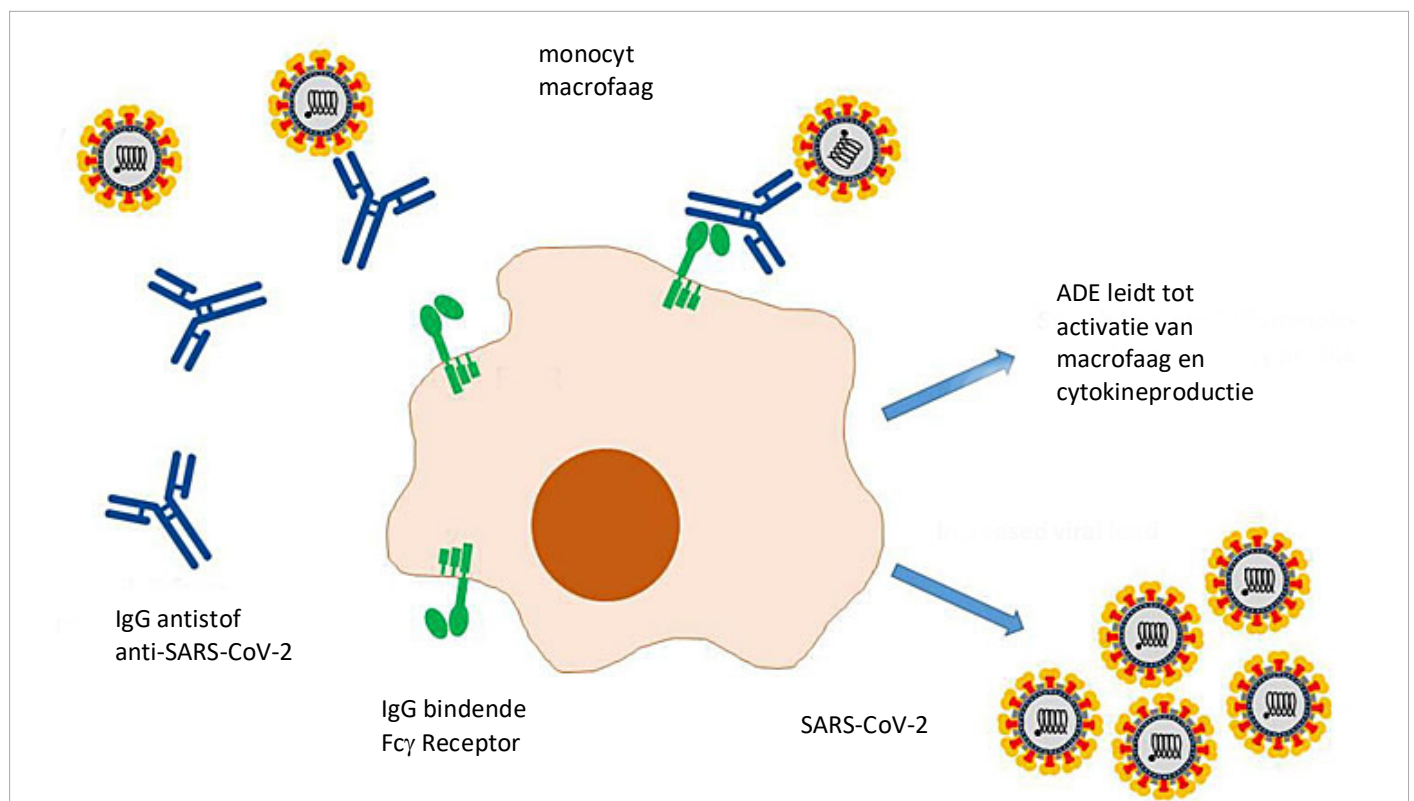
beschadiging van de organen volgen vanwege cytokines en andere stoffen die door de geactiveerde macrofagen worden uitgescheiden. Dit heet ADE of antibody-dependent enhancement.

Adaptieve immuunrespons

Bij SARS als MERS bleken zowel de innate als adaptieve immuunrespons betrokken te zijn. Met behulp van bio-informatica werden stukjes aminozuursequentie voorspeld in het S-eiwit van het SARS-CoV-2 virus die gebonden kunnen worden door T-cellen en B-cellen (epitopen). De CTL epitopen binden in de MHC klasse I peptide-bindingsgroeve, waarbij er maar één overlappend peptide werd gevonden tussen MERS-CoV en SARS-CoV-2. Diverse regio's in SARS-CoV-2 hebben een grote homologie met het SARS-virus, waaronder B-cel epitopen in het S-eiwit, het membraan en in het nucleocapside eiwit. Recente berekeningsmethoden uit de structuurbiologie hebben geleid tot de identificatie van SARS-CoV-2 epitopen gebaseerd op antigeenpresentatie van andere virale eiwitten en specifieke antilichaam bindingskarakteristieken. Vlak bij de receptor bindende plaats op het S-eiwit bevinden zich potentieel neutraliserende B-cel epitopen en potentiële MHC klasse I en klasse II epitopen.

De infectie met SARS-CoV-2 kan de

SARS-CoV-2 geheugenrespons



beschermende antivirale immuunrespons blokkeren, waarbij de aantallen innate NK-cellen en adaptieve CD8+ T-cellen sterk afnemen en ook functioneel minder actief zijn. Daardoor is het vermogen van deze cellen om virus-geïnfecteerde cellen te doden sterk afgenomen. Zelfs na herstel van de infectie blijken deze cellen nog steeds verminderd aanwezig en functioneel hetgeen wijst op een uitputting. Daarnaast blijkt dat ook CD4+ Th cellen beschadigd zijn waarschijnlijk door een langdurige en overmatige activatie en uitputting. Binnen de groep van CD4+ T-cellen horen ook de regulatorische T-cellen (Treg) die gekenmerkt worden door het intracellulaire Foxp3 eiwit, een meestal hoge expressie van CD25 activatiemerker op de celmembranen, en die na activatie grote hoeveelheden immunosuppressieve cytokines, zoals IL-10 en 'transforming growth factor' (TGF)- β kunnen uitscheiden. Bij chronische infecties zijn er vaak verminderde aantallen Treg en die ook functioneel minder actief zijn. Als gevolg hiervan is de immuunreactie ongecontroleerd, hetgeen leidt tot overmatige T-cel reactiviteit en cytokinenproductie en verstoorde B-cel antistofproductie. Recente gegevens wijzen op een verminderde functie van Treg ook bij infectie met

SARS-CoV-2, hetgeen het risico op een cytokinenstorm en de uitputting van CD4+ en CD8+ cellen zou kunnen verklaren.

Antistofrespons tegen SARS-CoV-2

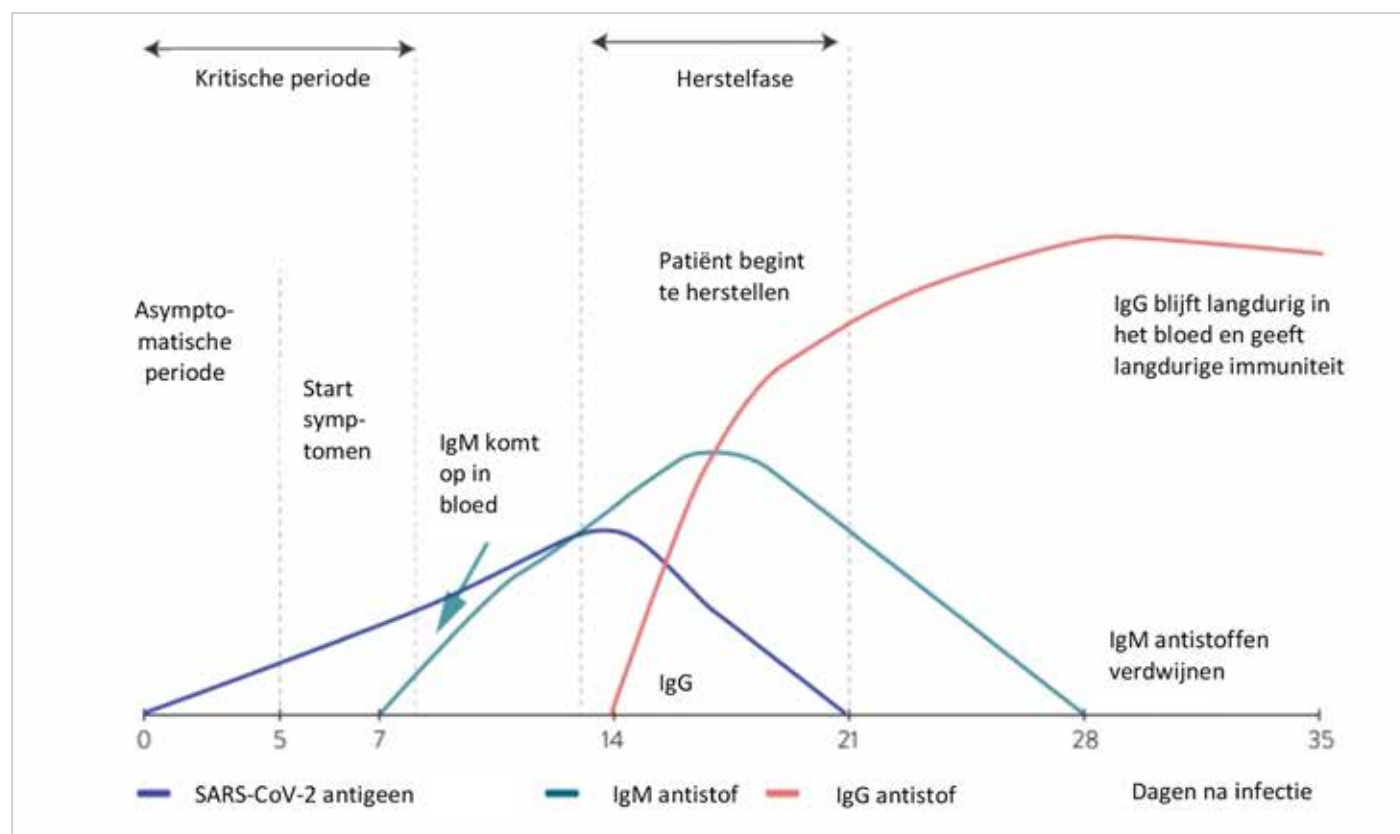
SARS-CoV-2 virus-specifieke antistoffen die langdurig in het bloed aantoonbaar zijn meestal IgG3 en IgG1 antistoffen. Dat is bijzonder omdat bij virusinfecties meestal IgG1 en IgG2 antistoffen worden gevormd. De mens heeft vier subklassen van IgG antistoffen waarbij IgG1, 2 en 4 een halfwaardetijd in het bloed hebben van ongeveer 24 dagen, terwijl de halfwaardetijd van IgG3 slechts 7 dagen bedraagt. Deze korte halfwaardetijd zou de slechts kortdurende bescherming tegen de virusinfectie door IgG antistoffen mede kunnen verklaren. Bovendien binden IgG3 en IgG1 antistoffen aan Fc γ receptoren op diverse typen immuuncellen (vooral monocyt en macrofagen) waardoor deze cellen sterk worden geactiveerd.

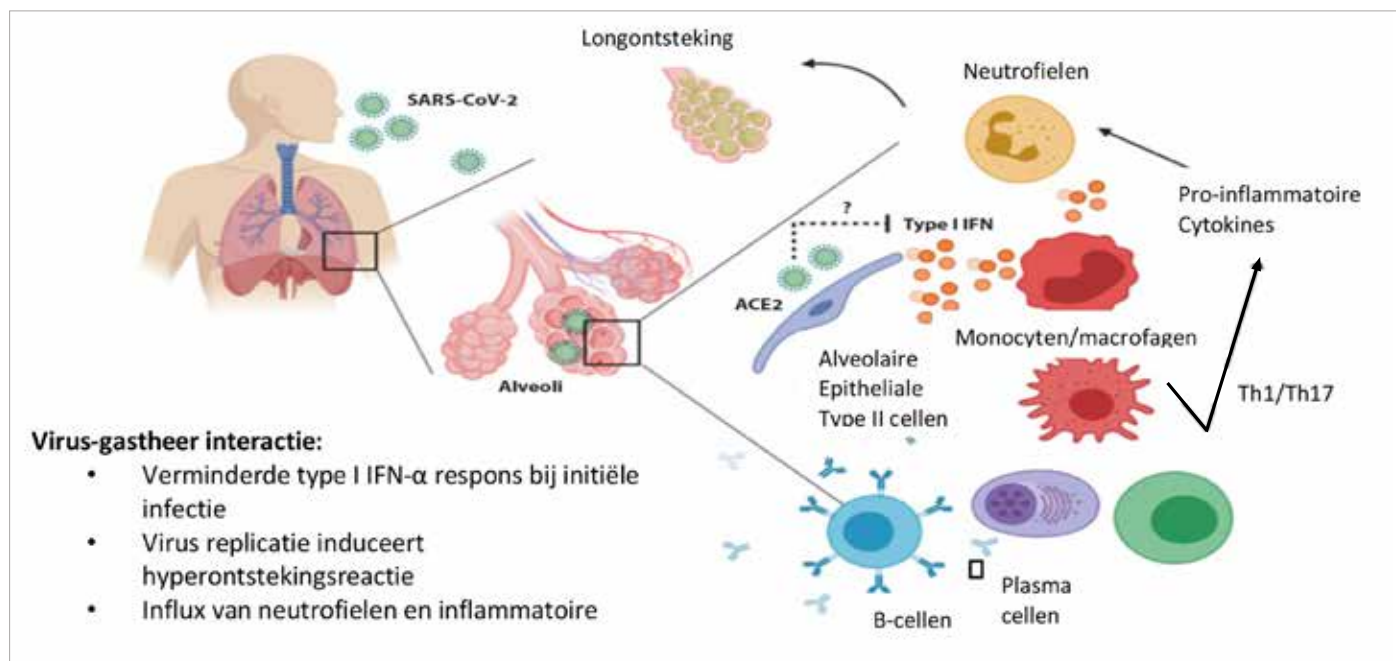
Dit ADE-mechanisme werd al geïntroduceerd en heeft als gevolg dat in individuen met bestaande antistoffen opgewekt tegen andere virussen (zoals de andere corona verkoudheidsvirussen HCoV-OC43 en HCoV-HKU1) of zelfs vaccins, er antistoffen kunnen voorkomen die binden aan het CoV-2

virus en zo immuuncellen kunnen binnendringen of een sterke activatie van immuuncellen kunnen veroorzaken. Dit is al aangetoond bij SARS en vooral bij infecties met denguevirus. Wanneer men dus overweegt om patiënten met beginnende symptomen van COVID-19, antistoffen te geven van individuen die de ziekte reeds hebben doorgemaakt kunnen er onverwacht negatieve effecten optreden, zoals een persistente virale replicatie en een chronische ontsteking.

De ontwikkeling van immuniteit tegen een pathogeen bij een natuurlijke infectie is een multi-stap proces dat meestal zo'n twee weken duurt. Na de eerste innate immuunactivatie in de eerste week na infectie, worden T-cellen en vervolgens B-cellen geactiveerd. Dit leidt tot geactiveerde T-cellen die veel cytokines maken (CD4+ helper T-cellen, Th) en geactiveerde CD8+ cytotoxische T-cellen, Tc) (*cellulaire immuunreactie*) en geactiveerde B-cellen die specifieke antistoffen in het bloed produceren (*humorale immuunreactie*). De CD4+ Th cellen zijn van groot belang om de activatie en uitrijping van CD8+ T-cellen en B-cellen te sturen. Bij een infectie met SARS waren de geheugen T-cellen gedurende zo'n twee jaar aantoonbaar,

Antistofvorming in het bloed na SARS-CoV-2 infectie





Schematische weergave van de immuunrespons bij COVID-19

maar het is vooralsnog onbekend hoe lang geheugen T-cellen voor SARS-CoV-2 aanwezig zullen blijven. SARS-specifieke CD4⁺ T-cellen waren van het Th1 type die de cytokines IFN- γ , TNF en IL-2 maken en deze cellen gebruiken om de infectie te controleren en op te ruimen. Door de gecombineerde activiteit van CD4⁺ T-cellen en B-cellen wordt in het algemeen de virusinfectie efficiënt opgeruimd en zijn er uiteindelijk virus-specifieke neutraliserende antistoffen in het bloed aantoonbaar. Cruciaal is echter dat er tijdens deze immuunreactie ook geheugen T- en B-cellen ontstaan die langdurige bescherming geven tegen een toekomstige besmetting met hetzelfde virus omdat de immuunreactie dan veel sneller op gang komt en veel krachtiger zal reageren. Dat is het principe van vaccinatie: de primaire immuunreactie tegen een verzwakte ziekteverwekker of onderdelen daarvan geeft een immunologisch geheugen dat beschermend werkt bij toekomstige blootstelling aan het levende virus. De infectie met SARS-CoV-2 resulteert al vanaf 4 dagen na infectie in de productie van antistoffen met name gericht tegen het N-eiwit en bij de meeste patiënten zijn deze antistoffen in het bloed aantoonbaar vanaf 14 dagen na infectie (serumconversie). In 89% van de van COVID-19 herstelde patiënten zijn neutraliserende IgG antistoffen aantoonbaar. Bij infectie met SARS bleven deze antistoffen tot twee jaar lang aanwezig

en bij overlevenden tot maximaal 6 jaar. De verwachting bij SARS-CoV-2 is dat de geheugen B-celrespons eveneens niet langdurig is.

Immuunstatus bij COVID-19

Bij een patiënt met milde tot gemiddelde klachten van COVID-19 die moest worden opgenomen in het ziekenhuis werd een immunologische analyse gemaakt. Tijdens de ziekte, maar voorafgaand aan verbetering, werd in het perifere bloed een toename van antilichaam-secreterende cellen, folliculaire T-cellen, geactiveerde CD4⁺ en CD8⁺ T-cellen en IgM en IgG SARS-CoV-2-bindende antilichamen gedetecteerd. Deze immunologische veranderingen bleven tot 7 dagen na klinisch herstel nog aantoonbaar. Daarnaast werden verlaagde aantallen CD16⁺ CD14⁺ monocyten in het bloed gevonden hetgeen een uiting kan zijn van het uitreden van deze cellen naar de plaats van infectie. Ook werden verlaagde aantallen HLA-DR⁺ CD3⁺ CD56⁺ NK-cellen in de COVID-19 patiënt gevonden. Bij COVID-19 patiënten met een ernstig beloop van de ziekte worden vaak verlaagde aantallen eosinofiele granulocyten in de circulatie gevonden met daarnaast lagere aantallen lymfocyten en hogere neutrofiel-lymfocyten ratio's.

In COVID-19 patiënten met ernstig beloop worden in het perifere bloed in het algemeen significante afnames gevonden van T-cellen, B-cellen en natural killer (NK)-cellen. De percentages

naïeve Th cellen (CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺) waren verhoogd terwijl de geheugen Th (CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺) verlaagd waren. De cytokinespiegels van IL-6 (innate immuunreactie), IL-10 (Treg), IL-2 en IFN- γ (Th1 activatie) waren verhoogd en bij patiënten die de COVID-19 ziekte overleefden, veranderden de serumspiegels langzamerhand weer naar die van patiënten met milde symptomen. Belangrijke acute fase eiwitten, zoals C-reactief eiwit (CRP), lactaat dehydrogenase (LDH), waren allemaal verhoogd aanwezig in het plasma en deze waarden zouden daarmee kunnen dienen als voorspellers van de ernst van de ziekte. Ook de spiegel van angiotensine II was verhoogd in het plasma en deze waarde was lineair gecorreleerd aan de virale lading en de mate van longbeschadiging bij COVID-19 patiënten.

In de longen van ernstige COVID-19 patiënten met acute respiratory distress syndroom (ARDS) komen macrofagen voor die sterk inflammatoir zijn, enorme hoeveelheden chemokines produceren en bijdragen aan de cytokinenstorm. Doordat er ook een enorme expansie van CD8⁺ T-cellen in de longen plaatsvindt wijst dit op een robuuste adaptieve immuunrespons tijdens COVID-19.

Therapie

Geneesmiddelen

Immunosuppressieve medicatie die ontwikkeld was voor andere aandoeningen wordt ingezet om de symptomen van de COVID-19 ziekte te bestrijden.

Middelen als chloroquine (tegen malaria en reuma), virus replicatiereppler remdesivir (dit nucleoside-analoog heeft activiteit tegen onder andere ebola en andere coronavirussen), virus proteaserepplers bij HIV (lopinavir/ritonavir) en corticosteroïden blijken in grootschalige studies weinig of niet effectief ofschoon zij in individuele gevallen wel degelijk effectief kunnen worden ingezet. IL-6 concentraties zijn bij COVID-19 patiënten verhoogd en de ontsteking is gerelateerd aan longschade. Monoclonale antilichamen (biologicals) tegen IL-6 (tocilizumab) worden bij COVID-19 toegepast, evenals Anakinra (een IL-1b receptor antagonist), maar er is nog geen data bekend van gerandomiseerde studies.

Vaccins

Er zijn momenteel zo'n 100 kandidaat vaccins voor COVID-19 in ontwikkeling met diverse al in fase I testen om de veiligheid en immunogeniciteit te onderzoeken. Er zijn diverse vaccinkandidaten zoals subunit vaccins, geïnactiveerde virussen, vectoren met daarin erfelijke informatie van het virus of levende verzwakte virussen, maar elk type vaccin heeft zijn voor- en nadelen. Nucleotide gebaseerde RNA vaccins zijn thans stabiel en efficiënter in de translatie naar eiwit en induceren daarmee sterkere immunoresponsen. De toediening via lipide nanopartikels is inmiddels geoptimaliseerd en daarmee vormen deze potentiële vaccins geschikte kandidaten. De ontwikkeling van een geschikt vaccin duurt in het algemeen anderhalf tot twee jaar. Deze vaccinkandidaten richten zich op het blokkeren van de virusinfectie, de remming van de overmatige ontstekingsreactie, de inductie van een beschermende immunorespons, en de inductie van immunologisch geheugen.

Discussie

Openstaande vragen

In tegenstelling tot de wijdverspreide mening, kunnen geïnfecteerde individuen besmettelijk zijn en virus verspreiden voordat zij symptomen van de ziekte vertonen. Zelfs kunnen mensen die eerst positief op het virus testen en de ziekte hebben doorlopen later toch weer positief testen op het virus. Dit is echter enkel gebaseerd op het aantonen van virus RNA met de PCR test. Het mechanisme hierachter is nog onbekend.

Een andere vraag is of mensen die de COVID-19 ziekte hebben doorgemaakt ook daadwerkelijk langdurig immuun zijn en blijven tegen deze infectie. Daarnaast kunnen mensen met een coronavirusinfectie in hetzelfde jaar meerdere keren worden geïnfecteerd, met soms slechts een paar weken tussentijd, ondanks het feit dat ze specifieke antistoffen in hun bloed hebben. Dit is een groot verschil met mazelen of waterpokken waarbij men na de infectie voor de rest van het leven beschermd is. Er zijn ook andere infecties (influenza en tetanus) waarbij eveneens geen langdurige immuniteit wordt opgebouwd. Dit fenomeen, waarvan de oorzaak onbekend is, zou eveneens kunnen optreden bij infectie met SARS-CoV-2.

Bij overlevenden van SARS bleek dat 90% virus neutraliserende antistoffen hadden opgebouwd en bij 50% kwamen sterke specifieke T-cel responsen voor. Coronavirus-specifieke T-cellen zijn belangrijk in het verwijderen van het virus en de controle van de ziekteontwikkeling en zouden daarom van groot belang moeten zijn in vaccin-ontwikkeling. Het is echter nog onbekend of bij SARS-CoV-2 infectie de T-cellen alleen voldoende zijn om de infectie te voorkomen.

Patiënten die de COVID-19 ziekte hebben doorstaan hebben in principe dus SARS-CoV-2 neutraliserende antistoffen in hun bloed. Soms zijn deze antistofspiegels echter erg laag (bij 30% van de mensen jonger dan 40 jaar), hetgeen erop wijst dat de cellulaire immunoreactie betrokken is geweest bij het overwinnen van de infectie. Bij de meeste virale infecties berust de bescherming tegen de infectie en de genezing van die infectie immers op de cellulaire immunoreactie. Deze is echter moeilijker en tijdrovender om te meten en vereist tevens speciale laboratoriumomstandigheden met celkweekfaciliteiten. Daarom berust, ondanks deze beperking, de meting van een doorgemaakte infectie op het aantonen van neutraliserende antistoffen in het bloed.

Groeps-immuniteit

Wanneer de meeste personen in een groep immuun zijn tegen een infectie, geeft dit een indirecte bescherming bij diegenen die de ziekte (nog) niet hebben doorgemaakt, ofwel dit geeft groepsimmuniteit. Afhankelijk van de besmettelijkheid van het virus is er een groepsimmuniteit van 70-90% nodig

om de infectieziekte onder controle te krijgen. De besmettelijkheid bij SARS-CoV-2 ligt waarschijnlijk tussen de 1,4 en 2,5 hetgeen betekent dat elke besmette persoon gemiddeld 1,4 tot 2,5 andere mensen besmet. Afgaand op die aanname moet ongeveer 60% van de bevolking immuun zijn alvorens er sprake kan zijn van groepsimmuniteit. Deze groepsimmuniteit kan idealiter worden verkregen via vaccinatie met een beschermend vaccin en heet dan de vaccinatiegraad R. De mate van bescherming na het doormaken van de ziekte of na vaccinatie wordt bij dit virus algemeen geacht niet erg langdurig te zijn. In de literatuur komen tijdsintervallen voor van 6 maanden tot twee jaar.

Conclusies

De huidige SARS-CoV-2 pandemie heeft een snelle en brede kennis opgeleverd over infectie karakteristieken van coronavirussen, hun vermogen lichaamscellen te infecteren, de connectie met klinische verschijnselen veroorzaakt door het virus, de ontstekingsreactie en de resulterende immunoreactie. Vooral de immunorespons, zowel de innate als de adaptieve arm, is cruciaal bij het verwijderen van het virus en het herstellen van de gezondheid als ook de opbouw van langdurige bescherming tegen herinfectie, en daarmee de basis voor het ontwikkelen van een effectief vaccin. De enorme schade die de huidige virusinfectie wereldwijd veroorzaakt voor de gezondheid van zoveel mensen toont de noodzaak tot het beter begrijpen van de complexiteit van de infectie en resulterende immunorespons. Veel essentiële vragen staan nog open en tonen aan dat de rol van de immunologie in deze fase van de pandemie in het centrum van de belangstelling hoort te staan. ◀

Contact

Mail: huub.savelkoul@wur.nl

Website: www.cbi.wur.nl

Een uitgebreide literatuur lijst is op aanvraag beschikbaar.

W A A R O M

A

A

R

O

M

Zoals het er nu voorstaat zal de VAP worden opgenomen in de NVML. Uit kostenoverweging is dit de goedkoopste optie, denk ik. Uit geluiden die ik zo af en toe hoor, is dat we als grote vereniging veel meer mogelijkheden hebben op vele vlakken, de reden voor het samengaan.

Ik vraag mij af waarom is de VAP ooit opgericht? Nog een stap eerder, waarom is er ooit een cytologie vereniging en een histologie vereniging opgezet? Waarom zijn die twee verenigingen samengevoegd tot de VAP? En waarom is er toen niet besloten om al een onderdeel te worden van de NVML? Ja, de VAP wordt een onderdeel van de NVML, en als VAPleden moeten we zorgen dat we ook een onderdeel blijven en niet langzaam volledig oplossen in een grote vereniging.

Dat er destijds voor is gekozen om niet samen te gaan zal zijn redenen wel hebben gehad, maar tijden veranderen en ook de besturen van beide verenigingen zijn niet dezelfde als toen. Als ik in de VAPvisie van de afgelopen paar jaar kijk en allerlei gegronde redenen lees waarom het verstandig is om nu samen te gaan om zo één grote vereniging vormen, heb ik zo mijn eigen gedachten; Ik denk dat de belangrijkste reden om samen te gaan is; simpelweg het GROTE gebrek aan mensen (vakbroeders) die nog tijd willen steken in een vereniging. De opkomst van de computer en de smartphone heeft grote veranderingen te weeg gebracht. Haalde je vroeger informatie over nieuwe technieken uit het vakblad en werd je geïnformeerd over de nieuwste technische ontwikkelingen tijdens congressen, kun je nu met een paar toetsaanslagen en muisklikken alle informatie op je beeldscherm krijgen. En een nog veel belangrijker punt, waarom zou je nog moeite doen om allerlei nieuwe technieken proberen te volgen? (Bijna) Alle

handelingen worden automatisch uitgevoerd op machines die een doorsnee analist aan de buitenkant nog wel begrijpt, maar achter het plaatwerk zit zoveel high tech en elektronica dat zelfs de technische dienst van het ziekenhuis er niet meer naar mag kijken.

En dat leidt weer tot het volgende punt. Ik heb in mijn commentaar wel eens gesproken over de opleiding, waar leid je de mensen nog voor op? Welke kennis moet een nieuwe medewerker nog hebben? Volstaat de melding op een display niet? Je moet weten dat als het groene lampje (sorry ledje) brandt dan doet de machine het en brandt het rode lampje (ledje) dan moet je de firma bellen. Waar staat het telefoonnummer? Waarschijnlijk hoef je geen nummer meer op te zoeken en heeft de machine zelf al contact gelegd met de firma. Door deze ontwikkelingen staan mensen steeds verder van het vak af en raken minder betrokken bij de ontwikkelingen in het vakgebied. En als je niet echt betrokken bent zal je ook in je sparsame vrije uurtjes je niet gaan inzetten voor een vakvereniging. Het is al heel wat dat je lid bent, of moest je lid worden van de baas die ook het lidmaatschap betaald?

Toch is het zinvol om analisten in dienst te hebben die goed onderwijs hebben genoten en betrokken zijn bij de werkzaamheden die zij verrichten. Het zijn wel de betrokken analisten die verbeteringen bedenken, die meehelpen het vak dat ze uitoefenen te verbeteren. Meestal met kleine dingen maar soms met



grote gevolgen. Ideeën ontstaan vaak op de werkvloer en worden gecommuniceerd met collega's in het land. Het kan via een telefoontje, mailtje of whatsapp. Een grote groep enthousiaste collega's bereiken doe je via congressen. Maar dan moet je wel een vereniging en mensen hebben die een congres willen en kunnen organiseren. Wie organiseert nu die congressen? Wel dat zijn de vrijwilligers van de vereniging(en). En die zijn dus steeds minder mensen.

Dit geldt voor de VAP, maar ook voor de NVML. Door samen te gaan kun je een aantal zaken samenvoegen waardoor de druk op de vrijwilligers iets afneemt. Gaan we er wel vanuit dat iedere vrijwilliger zich zal blijven inzetten. Een congres organiseren voor klinisch chemisch analisten is toch iets anders dan een congres organiseren voor cytologisch analisten. Er zijn vele vrijwilligers nodig om een vereniging te kunnen laten functioneren. De voorzitter, penningmeester, leden van het algemeen en het dagelijks bestuur, redactie, congresorganisatie voorzitters en leden van de werkgroepen en dan nog degene die ik ben vergeten. Niet de leden zorgen dat een vereniging bestaat, maar de vrijwilligers. Laten we er een mooie vereniging van maken met een al decennia oude doelstelling het uitwisselen van ideeën, kennis en ervaring, met andere woorden: leden te informeren over allerlei zaken over ons vakgebied. Daarom zit ik (nog) in de redactie! ◀

Erik Bleuel redactielid VAPvisie

Hoe helpt de klinische chemie in de strijd tegen COVID-19 pandemie?

Patrick Kromhout, analist-specialist hematologie en hemostase in het St. Antonius Ziekenhuis, locatie Utrecht

Samenvatting

Een half jaar geleden wist nog niemand iets over COVID-19, in de volksmond het corona virus genoemd. Nu trekt dit virus als een pandemie over de hele wereld en proberen virologen, microbiologen en immunologen een middel te vinden om de wereldbevolking afdoende te beschermen hiertegen. Wat kan de klinische chemie voor hulp bieden om het ziekteproces beter te begrijpen? En belangrijker nog, is de klinische chemie in staat om te gaan voorspellen komende tijd, hoe het ziekteverloop bij een patiënt zal verlopen? Zal iemand op de IC gaan komen, zal er beademd moeten worden, of kan met bepaalde medicatie of behandeling dit worden beperkt of voorkomen? Momenteel wordt er heel veel data verzameld van allerlei klinisch chemische testen en deze worden gecombineerd met andere controles en bevindingen op de verpleegafdelingen, die mogelijk een prognostische waarde kan geven. Men hoopt hierdoor op kort termijn meer levens te redden en de beddendruk in ziekenhuizen en met name de IC bedden te drukken. In dit artikel een klein inkijkje wat er momenteel wordt onderzocht.

Inleiding

De corona crisis, wat een invloed heeft dit virus COVID-19 (Figuur 1) op de hele wereld gehad (figuur 2)! Het rode kruis noemt deze crisis de grootste ramp in de wereld, sinds de tweede wereldoorlog: "Deze ramp is anders, een 'normale' ramp is afgebakend, denk aan een aardbeving in een specifiek gebied. Dan sturen wij bijvoorbeeld mobiele ziekenhuizen en hulp naar één plek. Maar op dit moment staat de hele wereld voor dezelfde crisis en is het maar de vraag of anderen hulp kunnen sturen", aldus het rode kruis. Deze pandemie raakt iedereen persoonlijk, op economisch gebied, of op professionele wijze. Dan hebben we het nog niet eens over de snelheid waarmee dit virus dood en

verderf brengt. Vier maanden voordat dit virus in Nederland begon, had men in de wereld er nog niet over gehoord. Toen de corona crisis in China uitbrak, deden we er nog luchtig over. Iets dat ver weg aan de gang is. Daarna brak het virus in Italië door en ging van daaruit heel Europa door. Italië en Spanje werden harder getroffen dan China en ook Nederland ontkomt niet aan dit virus. Nu trekt het verder naar de Verenigde Staten en daar neemt de ramp nog grotere vormen aan.

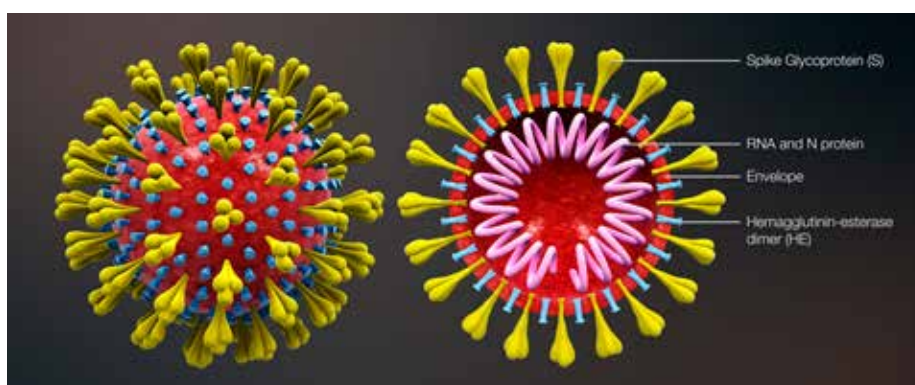
De wetenschap en gezondheidszorg staan voor een grote uitdaging om de gevolgen van dit virus tot een minimum te beperken en ondertussen naar een vaccin of geneesmiddel te zoeken dat

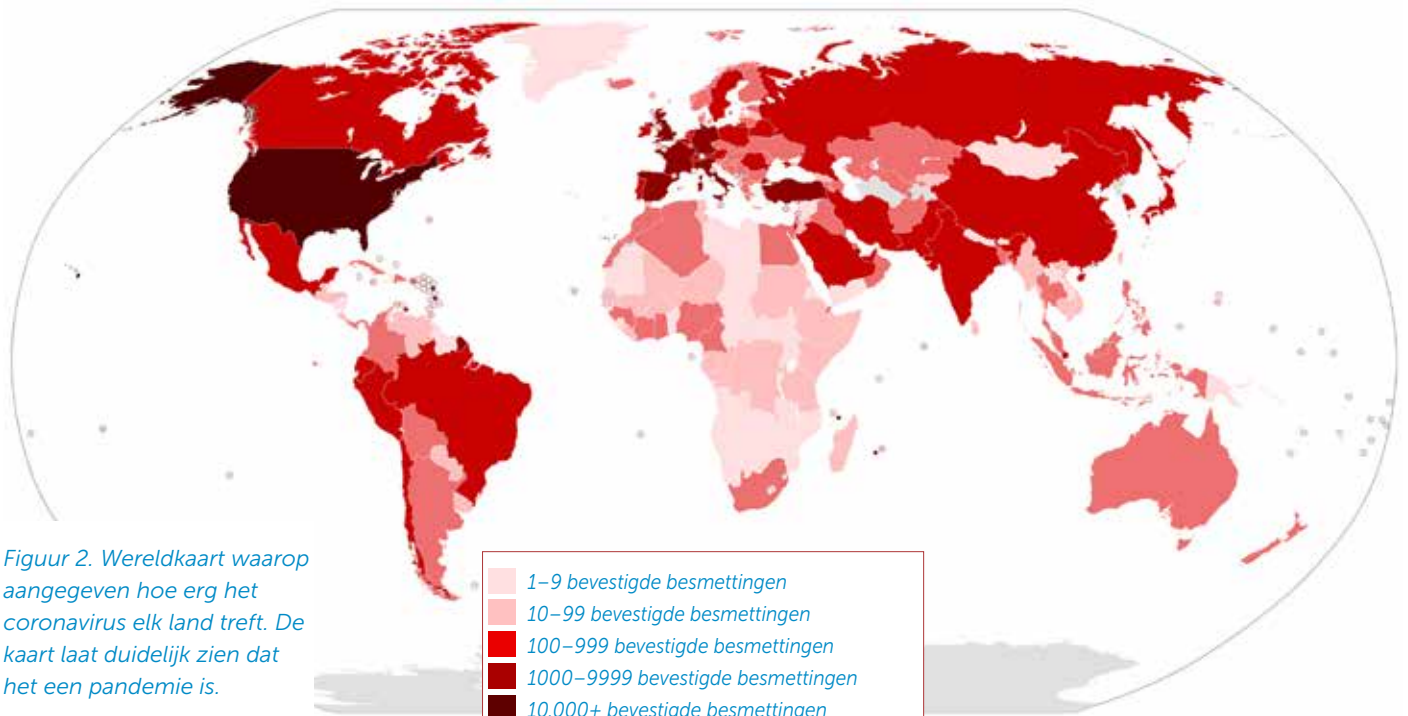
definitief een einde kan maken aan deze pandemie. Hoe helpt de klinische chemie in dit vraagstuk? Dit lijkt een gekke vraag, want we denken natuurlijk in eerste instantie aan de virologen, microbiologen en immunologen die hiermee aan de gang moeten. De klinische chemie kan in deze corona crisis op een andere manier helpen. We hebben in China, Italië, Spanje maar ook hier in Nederland gezien dat men noodhospitaal moest gaan bouwen, IC bedden in zeer grote mate moest opschalen en dat allemaal in een hele korte tijd. Als we hier in Nederland kijken, zien we dat we met meer dan een verdubbeling van het aantal IC bedden naar 2400, ternauwernood aan de zorgvraag kunnen voldoen. Waarschijnlijk zijn we net op tijd aan de voorzorg maatregelen begonnen en zijn we door het oog van de naald gegaan. Toch is het zwarte scenario niet geweken en kan er een tijd komen dat we moeten gaan kiezen wie we wel en wie we geen IC bed gaan geven. Of wie wel in een ziekenhuis behandeld gaat worden en wie niet. Ethici zijn al bezig met dit vraagstuk en artsen hebben dringend behoefte aan handvatten en richtlijnen om dit zo goed mogelijk te gaan doen.

Mechanisme van het ziekteproces

Op dit moment wordt er veel onderzoek gedaan naar het mechanisme waarom

Figuur 1. Schematische weergave van het corona virus.





Figuur 2. Wereldkaart waarop aangegeven hoe erg het coronavirus elk land treft. De kaart laat duidelijk zien dat het een pandemie is.

het COVID-19 virus zo dodelijk is voor mensen. Als men dit mechanisme weet, kan men ook een manier bedenken om de mortaliteit van dit virus te beperken of zelfs op te heffen. Onderzoekers hebben gekeken naar het verloop van dit ziekteproces vanaf het moment dat patiënten in het ziekenhuis kwamen, totdat het steeds erger werd en men uiteindelijk voor weken op de IC moest worden beademd. Men vond 3 kenmerken bij al deze patiënten. Ten eerste was men kortademig, dit werd naarmate de tijd vorderde steeds erger, waardoor beademing op de IC noodzakelijk werd. Ten tweede ontstaat er een ontstekingsreactie in de longen

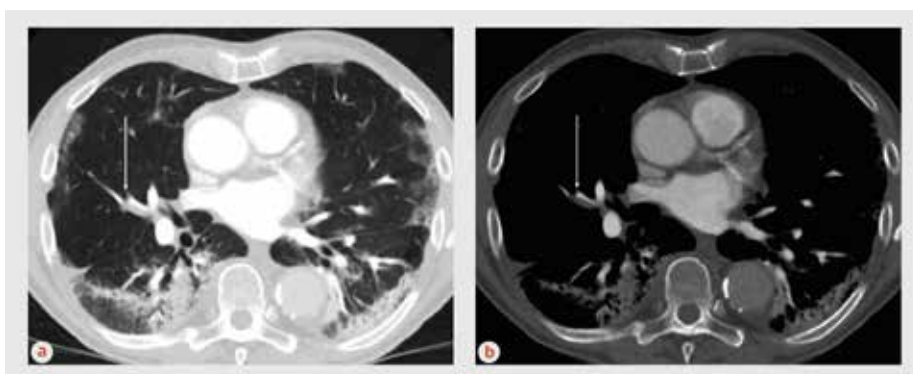
Ziekte	COVID-19
Virusstam	SARS-CoV-2
Locatie	Wereldwijd
Eerste besmetting	Wuhan, Hubei, China
Datum eerste besmetting	12-12-2019
Oorsprong	zoönose
Bevestigde besmettingen	3.043.122 (28 april)
Hersteld	894.997 (28 april)
Overleden	211.221 (28 april)

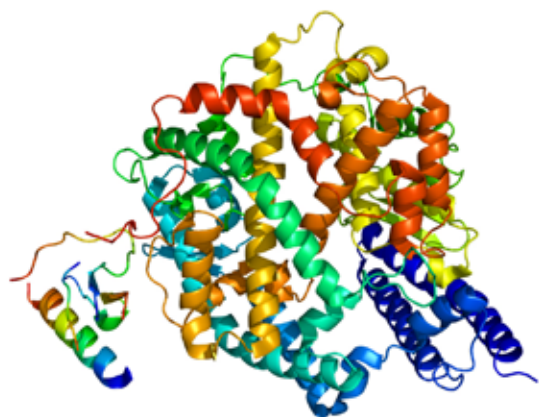
en als derde kenmerk zien we lekkage van de bloedvaten in de longen. Deze drie kenmerken hebben met elkaar te maken. De kortademigheid ontstaat door het vocht die in de longblaasjes zit. Dit is op een CT scan goed te zien als zogenaamde matglas kleurige plekken in de longen (figuur 3). Door dit vocht

ontstaat er een ontstekingsreactie die het hele proces verergert. Hoe komt dit vocht in de longen? Op het moment van schrijven denkt men de reden te moeten zoeken door de lekkende haarvaatjes in de longen die vocht lekken, waardoor dit hele proces op gang komt, met de dood als gevolg. Als we de reden van het vocht lekken uit de haarvaten weten en dit zouden kunnen voorkomen, kunnen we wellicht voorkomen dat patiënten zo vollopen in de longen en op die manier voorkomen dat ze langdurig op de IC opgenomen moeten worden.

De reden denkt men nu gevonden te hebben. Het COVID-19 virus heeft het angiotensine convertering enzyme 2 receptor (ACE2) (figuur 4) nodig om de longen binnen te komen. ACE2 is een enzym dat op de celwand zit van organen, dus ook op de longen. We kennen 2 functies van het ACE2 enzym. De meest bekende functie is het op peil houden van de bloeddruk. Een andere functie is het onder controle houden van het peptide bradykinine (figuur 5). Bradykinine zorgt voor verhoogde vasculaire permeabiliteit en dilatatie van bloedvaten. Wat gebeurt er dus wanneer iemand besmet raakt met het COVID-19 virus? Het virus bindt aan het ACE2 enzym op een long cel en kan daardoor de long cel worden ingetrokken, waardoor het virus zich kan vermenigvuldigen. Het ACE2 enzym verliest hierdoor zijn functie en verdwijnt van de celwand van de long cel. Bij een massale infectie verdwijnen de ACE2

FIGUUR 3. Longembolie op CT-scan. CT-pulmonaire angiografie (CTPA) van een 76-jarige patiënt met COVID-19, (a) longsetting en (b) CTPA-setting. Bij deze patiënt nam de hypoxemie plotseling toe. De D-dimeerwaarde was > 5000 ng/ml. Er werd een CTPA verricht, waarop een onderbreking van een longslagader werd gezien (witte pijl), bewijzend voor acute longembolie. Ook was een karakteristiek beeld van COVID-19 zichtbaar: multifocale, deels confluerende, relatief scherp begrensde matglasafwijkingen met superponerende gebieden van consolidatie, en fibrotische veranderingen met tractie aan fissuren in de ondervelden.





Schematische weergave van het ACE2 eiwit.

receptoren op de long cellen en kunnen daardoor het peptide bradykinine niet meer onderdrukken, waardoor bradykinine vrij spel heeft. Hierdoor ontstaat er lekkage van de kleine bloedvaten op de plek van infectie. Hierdoor neemt het ontstekingsproces toe. Tot nu toe waren behandelingen voornamelijk gericht tegen het beperken van deze ontstekingsreacties. Nu denkt men dat het handiger is om de fase ervoor aan te pakken, het terugdringen van deze lekkages. Er zijn een paar zeldzame ziekten bekend die mogelijk zo'n zelfde proces hebben en daar zijn 2 soorten medicijnen effectief bij gebleken. Nu gaat men kijken of deze medicatie ook helpt bij het beperken van de verschijnselen van corona, zodat mensen niet meer op de IC gaan belanden. Dit zou een doorbraak betekenen in de strijd tegen de corona crisis.

Helpende hand door de klinische chemie

Binnen de klinische chemie zijn een aantal (nieuwe) testen die mogelijk een voorspellende waarde kunnen hebben om het verloop van deze zieke mensen te kunnen voorspellen. Men heeft bij de eerste groep patiënten een variatie in concentraties gezien van een aantal parameters en men hoopt een correlatie te ontdekken die een prognose kan geven op mortaliteit, IC duur, soort behandeling, etc. Hier is data voor nodig om een goede kansberekening te kunnen maken. Op dit moment vindt deze dataverzameling plaats. Twee keer in de week worden alle bewezen en verdachte corona patiënten op de verpleegafdeling geprikt voor een zogenaamd corona pakket, waarbij al deze mogelijk voorspellende testen worden bepaald. Men gaat vooralsnog

een maand lang deze testen bijhouden, samen met het verloop van de patiënt. De hoop is dat men met het bepalen van bepaalde testen bij de poort, kan voorspellen of deze patiënten op de IC terecht zullen gaan komen, of niet. Ook zou het mooi zijn om te voorspellen bij wie bepaalde aanvullende behandelingen noodzakelijk zijn, of niet. Met deze gegevens kan men beter bepalen in welk ziekenhuis de patiënt het beste verpleegd kan worden. Het St. Antonius ziekenhuis is een gespecialiseerd ziekenhuis in longziekten en kenniscentrum van interstitiële longziekten. Hierdoor heeft dit ziekenhuis als 1 van de weinige ziekenhuizen, als klinisch chemisch lab het volledige pakket aan mogelijk voorspellende testen in huis om deze data te verzamelen. Dit heeft een grote impact op de medewerkers van het KCL. Allereerst moeten alle corona patiënten meerdere keren per week worden geprikt in beschermende kleding (figuur 6). Daarnaast moeten al deze niet routinematige testen worden afgewerkt. Vervolgens moeten deze uitslagen worden geïnterpreteerd en geanalyseerd op werkbare prognostische testen. De longartsen, intensivisten en internisten zijn echter heel enthousiast dat dit werk wordt verricht en zij hopen op werkbare testen die hen in hun werk gaan helpen. Dit is echt pionierswerk in de wereld. Aan wat voor testen moeten we denken? Laten we een aantal van deze testen beschouwen:

ACE, ACE2, ACE I/D polymorfisme en IL-6 (1)

Zoals al eerder besproken in dit artikel, speelt het ACE2 een belangrijke rol als bindingsplaats voor het corona virus om de cel binnen te gaan. Er wordt daarom onderzoek gedaan tussen de interactie van het ACE en ACE2. Daarnaast komen er verschillende vormen van ACE voor (polymorfisme). Door veranderingen in ACE activiteit door ACE I/D polymorfisme, leidt dit tot een toename van

expressieniveaus van cytokines, zoals het interleukine 6 (IL-6) en KLK1. Door de cytokines ontstaat een pro inflammatoir proces dat op gang komt. Dit is al in eerdere studies naar voren gekomen. IL-6 is een bepaling die al wordt bepaald en is daarom interessant om te zien of dit in dit proces ook voorspellende waarden kan geven in het ziekteproces bij het corona virus.

Vitamine D (2)

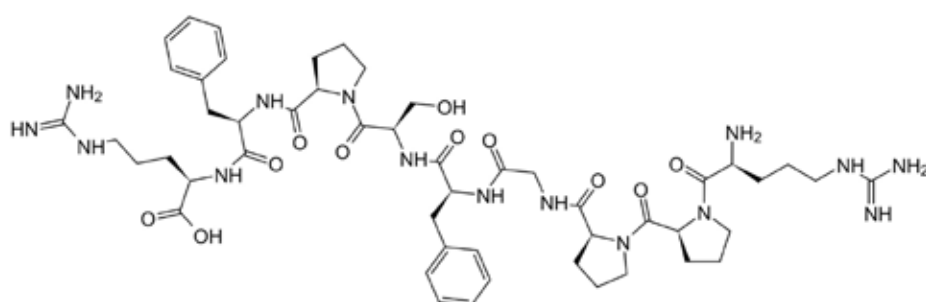
Vitamine D is een vitamine met sterke antivirale effecten. Een laag vitamine D zal daarom de besmettingskansen met het corona virus te verhogen. Het vitamine D voorkomt replicatie van virussen en zorgt voor een verbeterde functie van bijvoorbeeld de slijmvliezen. Het stimuleert de aanmaak van het antiviraal werkende interferon. Ondanks het feit dat er nog geen onderzoek gedaan is naar de effecten van vitamine D bij mensen die besmet zijn met het corona virus, zijn er wel indirecte aanwijzingen dat voldoende vitamine D het verloop van een besmetting van corona kan verbeteren.

In opgroeiende biggetjes bleek gesuppleerde 25-hydroxyvitamine D3 een door een ander type coronavirus veroorzaakte diarree te verlichten. Vitamine D verbeterde de darmstructuur en de immuunrespons bij deze varkentjes. Bij kinderen leidt een lage vitamine D-spiegel tot een sterk verhoogd risico om het rotavirus op te lopen. En vitamine D-suppletie beschermt hen tegen door het rotavirus veroorzaakte luchtweginfecties.

Neutrofiel Gelatinase Associated Lipocaline (NGAL) (3)

Men heeft ondervonden dat veel coronapatiënten op de intensive care, acuut nierfalen gaan ontwikkelen en nierdialyse nodig hebben. Deze groep patiënten ligt ook langer op de intensive care. In tijden van een tekort aan IC bed-

Figuur 5. De structuurformule van het peptide Bradykinine.



den, is het handig als men kan voorspellen hoe de beddendruk gaat worden de komende dagen en in geval men patiënten onder de ziekenhuizen moet gaan verdelen, kan het een grote hulp zijn als men een voorspellende prognose kan geven per patiënt hoe het verloop gaat zijn. Gangbaar op dit moment is de eGFR op basis van het kreatinine, die laat zien wanneer een patiënt acuut nierfalen heeft en of het verloop beter of slechter wordt. Als voorspellende parameter ben je dan te laat. Het NGAL is een bepaling die dit wel beter kan doen. Daarnaast geeft het ook een veel betere inschatting naar de overlevingskansen van de patiënt. Kortom, een waardevolle test in deze crisis.

Een groep internationale onderzoekers heeft in een studie naar 2322 IC patiënten gekeken die voornamelijk last hadden van het cardio renaal syndroom type 1. Dit is een aandoening waarbij je nierschade krijgt door een slecht functionerend hart. Een deel van de patiënten voldeed aan de klassieke definitie van acuut nierfalen: een duidelijke stijging van het kreatinine gehalte of volledige uitval van de nieren. Zij overleden vaker dan patiënten zonder acuut nierfalen, en als ze bleven leven moesten ze langer in het ziekenhuis blijven. Maar de onderzoekers vonden ook een groep patiënten bij wie er geen stijging in het kreatinine gehalte optrad, maar wel in NGAL. Ook zij bleken vaker dialyse nodig te hebben, en bijna net zo veel langer in het ziekenhuis te moeten blijven als patiënten bij wie het kreatinine wel steeg. Voor de uitkomsten maakte het niet uit of NGAL in het bloed, of in de urine gemeten werd.

De conclusie was dat je subklinisch acuut nierfalen kan opsporen met behulp van NGAL. Daarnaast is NGAL een betere indicator voor patiënten met een verhoogd overlijdensrisico. Door het meten van (verhoogd) NGAL zijn artsen eerder in staat om acuut nierfalen te behandelen, dan dat men dit op basis van kreatinine zou kunnen doen. Wellicht dat door deze corona crisis de bepaling NGAL in de spotlights gaat komen, zodat deze bepaling routinematig meer op laboratoria gebruikt gaat worden.

Procalcitonine (4)

Procalcitonine is een bepaling die nu al routinematig wordt aangevraagd en



Figuur 6. Zorgpersoneel in beschermende kleding om patiënten te kunnen verplegen en om niet zelf slachtoffer te worden van het coronavirus.

vooral snel en in een vroeg stadium verhoogd is bij ernstige bacteriële infecties. Aangezien we hier te maken hebben met een virus, lijkt deze bepaling niet zinvol. Toch blijkt uit de conclusie van onderstaand onderzoek dat er nog veel uit te zoeken is:

"Hoewel het totale aantal COVID-19-patiënten met verhoogde procalcitonine-waarden beperkt lijkt, zoals benadrukt in een recent artikel, zouden de resultaten van deze beknopte meta-analyse van de literatuur suggereren dat seriële procalcitonine meting een rol kan spelen bij het voorspellen van evolutie naar een meer ernstige vorm van ziekte. De meta analyse van deze onderzoeken toont aan dat verhoogde procalcitonine-waarden geassocieerd zijn met een bijna vijfvoudig hoger risico op ernstige SARS-CoV-2-infectie (OR, 4,76; 95% BI, 2,74-8,29). Aanvullende studies zijn dringend nodig om de vermoedelijke bacteriële oorsprong van de toename van procalcitonine bij patiënten met ernstige COVID-19 te verifiëren." Vandaar dat deze bepaling meegenomen wordt in het COVID-19 pakket, zodat meer data kan worden verzameld.

Hemostase (5)

Een aantal corona patiënten krijgen te maken met ziekteklachten die lijken op Diffuse Intravasale Stolling (DIS). Dit is een secundaire aandoening die altijd door iets wordt uitgelokt, hetzij een trauma, een maligniteit, of zoals in dit geval (een COVID-19) infectie. DIS is een systemische activatie van de stolling, met uitgebreide fibrine deposities in de kleine bloedvaten. Hierdoor ontstaat trombose, maar door het verbruik van allerlei stollingsfactoren en trombocyten, kan er ook juist een bloedingsneiging ontstaan. Bij corona infecties lijken er

vaak stollingsactivaties op te treden en dit geeft een ongunstig voorspellend verloop aan. Waardevolle testen zijn daarom de screenende testen: APTT, PT-screen, fibrinogeen, D-dimeer en trombocyten. In het teken van nieuwe testen zoeken die zinvol kunnen zijn, wordt er ook data verkregen met behulp van tromboelastografie (TEG).

Andere testen

Er zijn nog veel andere testen denkbaar die het onderzoeken waard zijn. Het is niet mogelijk om hier een volledig beeld weer te geven. Wat wel een interessante gedachte is, is het feit dat de uitwerking die corona op de longen heeft, veel gelijkenissen lijkt te vertonen met interstitiële longziekten. Daarom worden testen, zoals CC16 en SPD ook meegenomen in de hoop om meer te leren over het ziekteproces dat corona patiënten doormaken.

Literatuur

1. Dai, S., Ding, M., Liang, N. et al. Associations of ACE I/D polymorphism with the levels of ACE, kallikrein, angiotensin II and interleukin-6 in STEMI patients. *Sci Rep* 9, 19719 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56263-8>
2. Yang, J., Tian, G., Chen, D. W., Zheng, P., Yu, J., Mao, X., Yu, B. (2019). Dietary 25-Hydroxyvitamin D3 Supplementation Alleviates Porcine Epidemic Diarrhea Virus Infection by Improving Intestinal Structure and Immune Response in Weaned Pigs. *Animals*, 9, 627.
3. Journal of the American College of Cardiology, Volume 57, Issue 17, April 2011, DOI: 10.1016/j.jacc.2010.11.051, CARDIAC BIOMARKERS, The Outcome of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin-Positive Subclinical Acute Kidney Injury A Multicenter Pooled Analysis of Prospective Studies, Michael Haase, Prasad Devarajan, Anja Haase-Fielitz
4. Procalcitonine bij patiënten met ernstige coronavirusziekte 2019 (COVID-19): een meta-analyse, Artikel in *Clinica Chimica Acta* 505 · maart 2020 met 3.462 lezingen, DOI: 10.1016 / j.cca.2020.03.004 Giuseppe Lippi, Mario Plebani
5. Do's-and-don'ts bij COVID-19-coagulopathie, Frederikus A. Klok, Paul L. den Exter, Menno V. Huisman en Jeroen Eikenboom, NED TIJDSCHR GENEESKD. 020;164:D5031 ◀

Muismodellen voor anti-tumor immuuntherapie

Laura J.W. Kruijssen en Sjoerd T.T. Schetters

Department of Molecular Cell Biology & Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute and Cancer Center Amsterdam, Amsterdam UMC, Vrije Universiteit Amsterdam, Nederland

Introductie in muistumoren als model

Onderzoek naar nieuwe therapieën tegen kanker worden vrijwel altijd in muismodellen getest. Gedurende de 19de eeuw werd duidelijk dat tumorcellen lichaamseigen cellen waren die ongecontroleerd deelden. Bovendien bleek uit het ontstaan van grote solide tumoren zoals melanoom (huidkanker) dat het immuunsysteem niet in staat was om tumorcellen op te ruimen. De standaard therapie in de tweede helft van de 20ste eeuw voor solide tumoren is chirurgie, radiotherapie en chemotherapie. Omdat humane tumorcellen getransplanteerd in een muis direct door het immuunsysteem van de muis opgeruimd worden, werden muizen zonder immuunsysteem gebruikt om humane tumorcellen te transplanteren. Op deze manier kon het effect van bestraling en chemotherapie in een diermodel getest worden. Inmiddels is duidelijk geworden dat het immuunsysteem van zowel de mens als de muis solide tumoren kan opruimen, waardoor muismodellen met een intact immuunsysteem nodig zijn.

Subcutaan of orthotopisch

Om immuuntherapie in immuun-competente (intact immuunsysteem) muizen te kunnen testen, is de ontwikkeling van muistumoren essentieel. Er zijn verschillende manieren in het lab om muistumoren te ontwikkelen en gebruiken, waarbij genetische modificatie en chemische inductie de meest gebruikte tools zijn (Figuur 1). Onderzoek naar tumoren in patiënten heeft aangetoond dat tumorcellen gekarakteriseerd worden door specifieke genetische mutaties. Gecombineerd met de cel van origine, bijvoorbeeld een ductale cel in het geval van pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) tumoren, kunnen muismodellen ontwikkeld worden waarbij alleen ductale cellen specifieke mutaties hebben. In deze transgene dieren ontstaan spontaan pancreas tumoren, die gelijkenis vertonen met

mensen, maar nog steeds muiscellen zijn. Dit is het geval in KPC transgene dieren, waarbij mutaties in het KRAS en TP53 gen specifiek in cellen geïnduceerd worden die PDX1 (pancreatic and duodenal homeobox 1) tot expressie brengen (Hingorani 2005, Figuur 1A). Een alternatief is het induceren van tumoren door muizen bloot te stellen aan geconcentreerde carcinogene stoffen. De muistumor Panc02 is in muizen opgewekt door katoendraad gedrenkt in 3-Methylcholanthrene chirurgisch te implanteren in de pancreas van de muis (Corbett 1984). Omdat deze tumorcellen onafhankelijk van de omgeving in het orgaan uitstekend prolifereren, kunnen ze *in vitro* gekweekt en bestudeerd worden (Figuur 1C). Dit heeft ook een voordeel *in vivo*, omdat gekweekte tumorcellen nu terug in de muis geïnjecteerd kunnen worden, waarbij dosis, locatie en timing zelf gekozen kan worden. Muis tumorcellen kunnen dan subcutaan in de flank geïnjecteerd worden (Figuur 1E) of in het orgaan waar het oorspronkelijk vandaan kwam (orthotopisch; Figuur 1D). Uiteindelijk vormt zich uit deze geïnjecteerde cellen een tumor in een immuun-competente muis waarop therapieën getest kunnen worden.

Voordelen en nadelen

Transgene oncogene muizen zijn fysiologisch vergelijkbaar met de menselijke situatie; tumoren ontstaan spontaan, de genetische mutaties zijn vergelijkbaar, tumoren ontstaan vanuit de juiste voorlopercel en de locatie is correct. Echter zijn er ook nadelen, zoals ingewikkelde fokprogramma's, variatie in tumorgroei, meten van de tumorgroei moeilijk, *in vitro* genetische modificatie niet mogelijk en experimenten zijn niet eenvoudig in groepen te timen. Het gebruik van injecteerbare tumorcellen uit kweek zijn hierbij een uitstekende oplossing. Zie Zitvogel 2016 voor een uitgebreide review.

Tumorcellen uit kweek

Om cellen te laten groeien *in vitro*, dus in een kweekfles, zullen ze genoeg voedingsstoffen nodig hebben. Elke cellijn heeft zo zijn eigen dieet waarin het liefste gekweekt wordt in medium met de juiste voedingsstoffen. Daarnaast heeft een cel de ruimte nodig om zich te delen en te hechten. Wanneer het hele oppervlakte van de kweekfles vol zit en de cellen te dicht op elkaar groeien, kan dit tot celdood leiden. Om te zorgen dat de cellen genoeg ruimte hebben en dat de voedingsstoffen in het kweekmedium niet op raken, worden de cellen meerdere malen per week gedeeltelijk over gezet naar een nieuwe fles met nieuwe voedingsstoffen. Dit heet het passeren van een cellijn.

Voor het orthotopisch tumormodel kan dezelfde cellijn gebruikt worden als voor het subcutane tumor model. Een uitdaging bij orthotopische tumoren zoals in de pancreas, is dat de tumor grootte niet gemakkelijk met een schuifmaat gemeten kan worden. In plaat daarvan kunnen cellen getransduceerd worden met een surrogaat marker voor tumorgroei. Dit wil zeggen dat er DNA aan een cel wordt toegevoegd door middel van een virale vector. In dit geval bevat het virale DNA het enzym luciferase, oorspronkelijk verkregen van de vuurvlug (firefly luciferase; zie Brennan 2018). Hiermee kunnen we de tumorcellen zichtbaar maken in een levende muis door middel van bioluminescentie nadat het substraat luciferine is geïnjecteerd. De te injecteren cellen zijn in de beste conditie wanneer het oppervlakte van de kweekfles ongeveer 70% vol zit (70% confluentie), omdat de cellen dan in de exponentiele groeifase zitten en blijven delen nadat ze in de muis ingespoten zijn. De cellen worden losgemaakt van de bodem, geteld en op ijs gezet. Het is belangrijk dat alle muizen evenveel tumorcellen ingespoten krijgen, zodat de tumoren ongeveer gelijk groeien.

Tussen het moment van het verzamelen van de cellen en het inspuiten van de cellen hebben de cellen niet de optimale condities om te groeien. Een koude temperatuur zorgt ervoor dat de cellen in goede conditie blijven, voordat ze op kamertemperatuur in de muis geïnjecteerd kunnen worden.

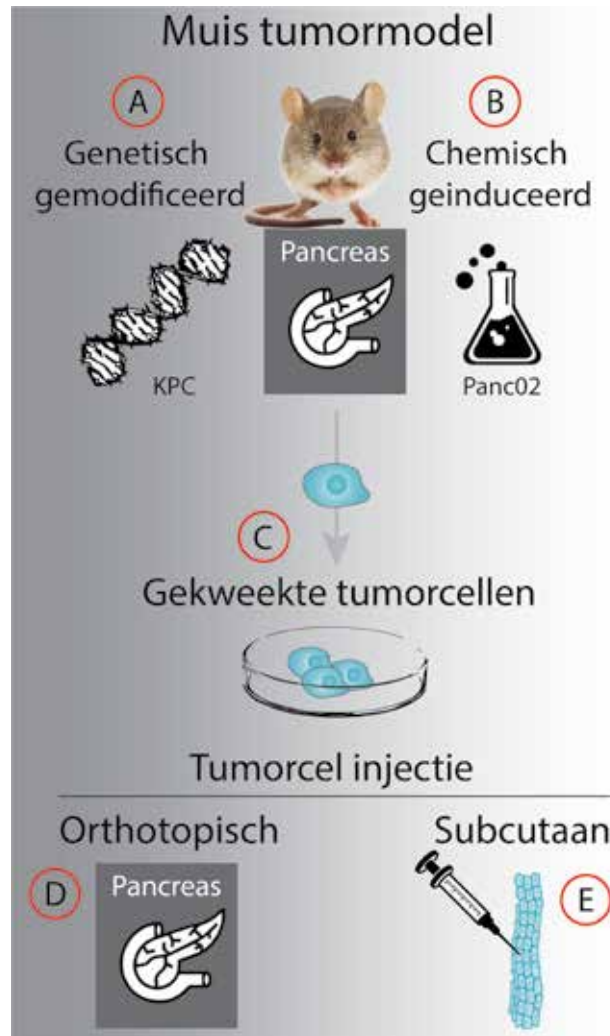
Subcutane tumor model

Als de muizen geïnjecteerd worden, worden ze eerst onder narcose gebracht met isofluraan, zodat ze volledig stil liggen en de tumorcellen met precisie kunnen worden ingespoten. Als de muizen onder narcose zijn, worden ze op hun zij gelegd met de neus in een snuitje waar gedurende de behandeling anesthesie uit komt. De flank wordt geschoren, en door het omhoog tillen van de huid met duim en wijsvinger kan met een kleine naald de cellen subcutaan in de muis gespoten worden. Dat wil zeggen onder de huid, niet tussen de huidlagen. Dit alles duurt nog geen twee minuten. Daarna gaan de muizen terug in hun kooi om te ontwaken, wat meestal binnen enkele minuten gebeurt. Onder anesthesie koelen de dieren af, de kooi wordt daarom op een warmtemat gezet, zodat de muizen niet onderkoeld raken.

Nu de cellen geïnjecteerd zijn, zullen er tumoren gaan groeien onder de huid in de flank van de muis. Deze worden tot drie keer per week gemeten met een digitale schuifmaat, om te voorkomen dat ze niet te groot worden. In de wet staan richtlijnen over hoe groot een tumor mag worden bij een muis, als de tumor hierboven komt is het ongerief voor de muis te groot, en wordt het dier opgeofferd. Elk dierexperiment wordt enkel na goedkeuring door een ethische commissie uitgevoerd volgens nationale richtlijnen met inachtneming van de 3 V's (Vermindering, Verfijning en Vervanging), waarbij minimaal lijden een speerpunt blijft.

Orthotopisch tumor model

In het geval van het orthotopisch tumor model worden de tumor cellen niet onder de huid geïnjecteerd, maar in de plaats van origine, bijvoorbeeld de alvleesklier van de muis (Figuur 1D). Hiervoor moet een operatie op de muis worden uitgevoerd. Twee dagen voordat de operatie wordt uitgevoerd krijgen de muizen paracetamol in het drinkwater, wat pijnstillend werkt. Een leuk feitje is dat muizen vooral houden van de



Figuur 1 | Muismodel-
len voor het testen van
immunotherapie tegen
kanker, alvleesklierkanker
als voorbeeld.

Zoals bij mensen het geval is, kunnen in muizen ook tumoren ontstaan uit gezond weefsel door chemische carcinogene stoffen of door specifieke genetische modificatie.

A. Een voorbeeld van tumorcellen ontstaan uit een specifieke genetische modificatie is de KPC, waarbij mutaties in het KRAS en TP53 gen specifiek in cellen geïnduceerd worden die PDX1 (pancreatic and duodenal homeobox 1) tot expressie brengen. Deze transgene dieren ontwikkelen tussen 10-20 weken spontane tumoren in de pancreas. B. Panc02 tumoren zijn ontstaan door het implanteren van katoendraad gedrenkt in 3-Methylcholanthrene, een carcinogene stof. C. Tumorcellen kunnen vervolgens uit deze tumoren geïsoleerd worden en in vitro gekweekt worden. D. Gekweekte cellen kunnen orthotopisch (op de plek van oorsprong) terug geïnjecteerd worden in de pancreas, waar we een nieuwe tumor vormen. E. Of cellen kunnen subcutaan geïnjecteerd worden, bijvoorbeeld in de flank van het dier.

kinderparacetamol met bananen smaak, waarbij mogelijk uitdroging voorkomen kan worden. Voordat de operatie kan beginnen, moet er een aantal dingen voorbereid worden. Zo moet alles steriel zijn; de instrumenten die gebruikt worden zoals scharen, pincetten en naaldvoerders, maar ook de wattenstaafjes en gaasjes. Verder moet de hele operatie ruimte klaar zijn; de anesthesie staat klaar voor gebruik, instrumenten liggen binnen handbereik, evenals het hechtmateriaal. Op de tafel ligt een warmtemat met daaroverheen een steriele doek, zodat de muis niet afkoelt tijdens de operatie. En alle onderzoekers

in de ruimte dragen mondkmaskers en steriele handschoenen.

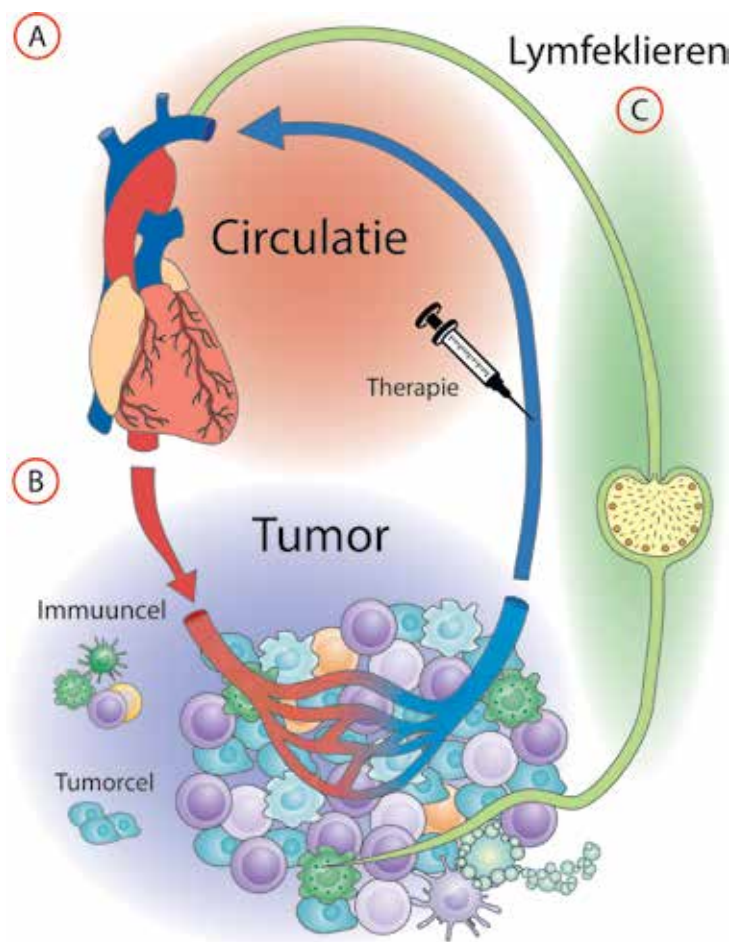
Dertig minuten voor de operatie krijgen de muizen temgesic in de buikholte geïnjecteerd, dit is een pijnstillert dat werkt op het centrale zenuwstelsel. Zodra de muis onder anesthesie is, begint de operatie (zie Moreno 2016 voor een gedetailleerd protocol). De rechterflank van de muis wordt in de voorbereidingsruimte geschoren en gedesinfecteerd. Ook wordt oog crème op de ogen aangebracht om te voorkomen dat deze uitdrogen en oogschade veroorzaken. Daarna wordt de muis

naar de operatiekamer gebracht. Met een schaar wordt er een kleine inkeping gemaakt in de rechterflank net onder de ribben, deze inkeping is niet groter dan één centimeter en gaat eerst door de huid en daarna door de buikwand heen. Met een stompe pincet kan nu de alvleesklier voorzichtig uit de buikholte gehaald worden en op een steriel gaasje net buiten de opening neergelegd worden. Met een naald worden de tumorcellen in de pancreas geïnjecteerd. Door de buikwand een beetje op te tillen met een pincet glijdt de pancreas terug op zijn plek in de buikholte. De buikwand en de huid worden (los van elkaar) gehecht. De muis gaat terug in zijn eigen kooi om daar te ontwaken. De operatie duurt ongeveer vijftien tot twintig minuten per muis in handen van een ervaren laborant.

De tumor cellen in de pancreas gaan zich nu vermenigvuldigen tot een solide pancreas tumor. Het enzym firefly luciferase wat in de tumorcellen is getransduceerd, produceert een geelgroen licht als het in aanraking komt met het geïnjecteerde substraat luciferine. Dit licht kan gemeten worden met een bioluminescentie beeldgenerator (imager). Om de groei van de tumoren in de pancreas te kunnen volgen krijgen de muizen luciferine in de intraperitoneale holte geïnjecteerd. Daarna worden de muizen onder narcose gebracht en in de bioluminescentie machine gelegd, dit kan met vier muizen tegelijkertijd. Hoe meer de cellen zich gedeeld hebben hoe groter de tumor is en hoe meer firefly luciferase er in de tumor aanwezig is om luciferine om te zetten in licht. Aan de hand van de hoeveelheid licht dat geproduceerd en gemeten wordt kan er bepaald worden hoe groot de tumor is. Bij een te grote tumor of een duidelijke afname in welzijn, zal de muis opgeofferd worden.

Analyse

Een volgroeide tumor is verbonden aan het lymfatische systeem en de bloedcirculatie (Figuur 2). Als de muis is opgeofferd worden de lymfoïde organen zoals de milt en lymfeklieren en de tumor uit de muis gehaald. Hieruit worden cellen geïsoleerd, totdat er een mix van cellen in suspensie over blijven. Deze mix van tumor- en immuuncellen worden gelabeld met fluorescentie, voor elke immuuncel is er een antistof met een andere kleur fluorescentie, zodat ze op



Figuur 2 | Tumors zijn aangesloten op het immuunsysteem via de circulatie en lymfe systeem.

A. Wanneer tumorcellen zich delen ontstaat een noodzaak tot extra zuurstof en voedingsstoffen om de groeiende tumor te ondersteunen. **B.** Deze extra groei en uitbreiding van het bloedvaten systeem zorgt ook voor een toename in infiltratie van immuuncellen. In een groeiende solide tumoren zijn verschillende immuuncellen in direct contact met tumoren, maar zijn vaak onderdrukt in hun functie. **C.** Vrijwel alle weefsels in het lichaam zijn aangesloten op het lymfesysteem van lymfevaten en lymfeklieren. Dit heeft als gevolg dat cellen en moleculen in de lymfeklier terecht kunnen komen en een effect hebben op het immuun systeem.

een flow cytometer te onderscheiden zijn (zie Gouttefangeas 2020). Simpel gezegd zorgt een flow cytometer dat alle cellen een voor een langs een reeks lasers passeren. Als een cel met zijn gekoppelde antistof met fluorescentie langs de juiste laser komt, wordt de kleur gemeten en kan later teruggehaald worden welke cel, welk antistof op het oppervlakte had. Zo kunnen alle cellen onderscheiden worden. Als alle cellen van alle muizen gemeten zijn kan dit geanalyseerd en met elkaar vergeleken worden. Het is dan interessant om te zien welke immuun cel meer of minder aanwezig is in een behandelde muis of in een onbehandelde muis.

Kanker immuuntherapie

Het is bekend dat het immuunsysteem in kankerpatiënten onderdrukt is en

tumorgroei toestaat. Gelukkig is het afgelopen decennium duidelijk geworden dat het immuunsysteem toch aangezet kan worden om de tumor te herkennen en op te ruimen. Het immuunsysteem activeren kan enerzijds door de onderdrukking op te heffen en/of door het immuunsysteem te activeren en onderwijzen. De meeste tumoren onderdrukken het immuunsysteem via zogenaamde "immune checkpoints", immunologische controle mechanismen die in gezonde mensen overactiviteit en auto-immuniteit voorkomen. Een voorbeeld van een dergelijk immuun checkpoint is de PD1-PDL1 interactie, waarbij tumorcellen en immuuncellen PDL1 tot expressie brengen om tumor-specifieke PD1+ cytotoxische T cellen te onderdrukken. Antistoffen die deze interactie blokkeren worden inmiddels succesvol

in de kliniek gebruikt bij bijvoorbeeld metastatische melanoom. De ontdekking van deze immuun checkpoints en de blokkade door antistoffen leidde tot een Nobelprijs voor Fysiologie of Geneeskunde voor de wetenschappers James Allison en Tasuku Honjo. Beide wetenschappers onderzochten de mechanismen van immuun suppressie met gebruik van muismodellen zoals we hier beschrijven (Leach 1996 & Iwai 2002). Hoewel de immuun checkpoint blokkade een revolutie is in de therapie van solide tumoren, blijft het werkingsmechanisme nog niet volledig verklaard. Met behulp van muismodelleer gekoppeld aan data uit humane klinische studies, kunnen de volgende generatie (combinatie-) therapieën ontdekt worden.

Literatuur

Moreno, J.A., Sanchez, A., Hoffman, R.M., Nur, S., Lambros, M.P. 2016, Fluorescent Orthotopic Mouse Model of Pancreatic Cancer. *Journal of Visualized Experiments*; DOI: 10.3791/54337

Leach, D.R., Krummel, M.F., Allison, J.P. 1996, Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* 271(5256): 1734-1736

Iwai, Y., Ishida, M., Tanaka, Y., Okazaki, T., Honjo, T., Minato, N. 2002 Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; 99: 12293-12297

Corbett, T.H., Roberts, B.J., Leopold, W.R., Peckham, J.C., Wilkoff, L.J., Griswold, D.P., Schabel, F.M. 1984 Induction and chemotherapeutic response of two transplantable ductal adenocarcinomas of the pancreas in C57BL/6 mice. *Cancer Research*; 44(2):717-26.

Zitvogel L., Pitt, J.M., Dailliere, R., Smyth, M.J., Kroemer, G. 2016 Mouse models in oncoimmunology *Nature Reviews Cancer* 16:759-773

Brennan, T.V., Lin, L., Huang, X., Yang, Y. 2018 Generation of Luciferase-expressing Tumor Cell Lines. *Bio-protocol*; 8(8): e2817.

Gouttefangeas, C., Walter, S., Welters, M.J.P., Ottensmeier, C., van der Burg, S.H., Chan, C. Flow Cytometry in Cancer Immunotherapy: Applications, Quality Assurance, and Future. *Cancer Immunology*; 761-783 ◀

... een schots eiland ons eeuwen geleden heeft geleerd hoe wij virussen kunnen laten uitsterven?

Een virale schoonmaak

Quarantaine, isolatie, een pandemie en duizenden slachtoffers. Iets dat we kennen uit de geschiedenisboeken. Iets waarvan we hadden verwacht dat niet snel mee te maken in deze moderne tijd. Maar niets is minder waar, we zitten midden in een pandemie die de wereld in zijn greep houdt. Vroeger waren het theoretische vraagstukken of de verhaallijnen uit spannende boeken waar gesproken werd over een wijdverspreide quarantaine of een grote uitbraak van een dodelijk virus. Nu is het realiteit.

Velen van ons hebben het zich wel eens afgevraagd; wat als we allemaal een paar weken bij elkaar uit de buurt blijven, zijn we dan van alle virussen af? Ja natuurlijk, theoretisch gezien wel. Een virus springt van gastheer op gastheer over om in leven te blijven. Als hij geen nieuwe gastheer meer kan vinden en het immuunsysteem van zijn huidige gastheer begint vervelend te worden dan sterft het virus uit.

Dat virussen uitsterven zodra er geen gastheer meer beschikbaar is, hebben we in het verleden daadwerkelijk zien gebeuren bij geïsoleerde gemeenschappen. Het bekendste voorbeeld zijn de eilanden van St. Kilda in Schotland. Op deze eilanden woonde een kleine bevolking die compleet afgezonderd leefde. Slechts enkele keren per jaar, als het weer optimaal was, konden er boten aanmeren bij het hoofdeiland Hirta. Van de 17e tot de 19e eeuw leed de bevolking onder een bijzondere ziekte die zij 'cnatan-nagal' noemden. Ook wel de 'boat-cough' of vreemdelingenhoest genoemd.

Telkens wanneer er net een boot was geweest golfde de ziekte weer over het eiland. De bewoners begonnen een hoest te ontwikkelen zodra zij in contact kwamen met de bezoekers. Dit hield voor zo'n acht tot tien dagen aan waarbij iedereen, zelfs baby's getroffen werden. Vaak met een hoest of ontsteking van de bovenste luchtwegen maar regelmatig uitte het zich in een zware longontsteking met de dood als gevolg. Elke boot nam nieuwe virusstammen met zich mee die vervolgens huis hielden op het eiland. Na enkele weken hadden de bewoners immuniteit opgebouwd en stierven de virussen compleet uit doordat ze nergens heen konden.

Deze virale schoonmaak zal zich hoogstwaarschijnlijk voordoen bij alle geïsoleerde groepen. Al zouden we de hele wereld in isolatie gooien dan krijgen we hetzelfde resultaat. Na een paar weken zijn alle virussen uitgestorven en hebben de immuunsystemen de tijd gehad om alles op te ruimen.

Klinkt als een goed plan, maar het is vrijwel onmogelijk om dat voor elkaar te krijgen. Dit is dan ook waar veel landen nu mee worstelen, hoe balanceer je de quarantaine regels op zo'n manier dat het virus uitsterft maar ook zodat er geen voedseltekort of complete instorting van essentiële middelen en hulp ontstaat? Om nog maar niet te spreken van de mensen die geen goed werkend immuunsysteem hebben om te helpen de virussen uit te roeien. Een lastige puzzel, een lastige situatie.

Wij wensen iedereen heel veel sterkte en gezondheid toe in deze moeilijke tijd, met zijn allen komen we hier uit. Mede dankzij jullie, onze analisten, die in heel Nederland fantastisch werk leveren!

Bedankt!

Barbara Nikolov en de redacties van *Analyse* en *VAPvisie*

Allergische astma – Adembenemende immunologie

Justine A.G. van Moorleghem en Sjoerd T.T. Schetters

Lambrecht & Hammad onderzoeksgroep, VIB-UGent Centrum voor Inflammatieonderzoek, Gent, België

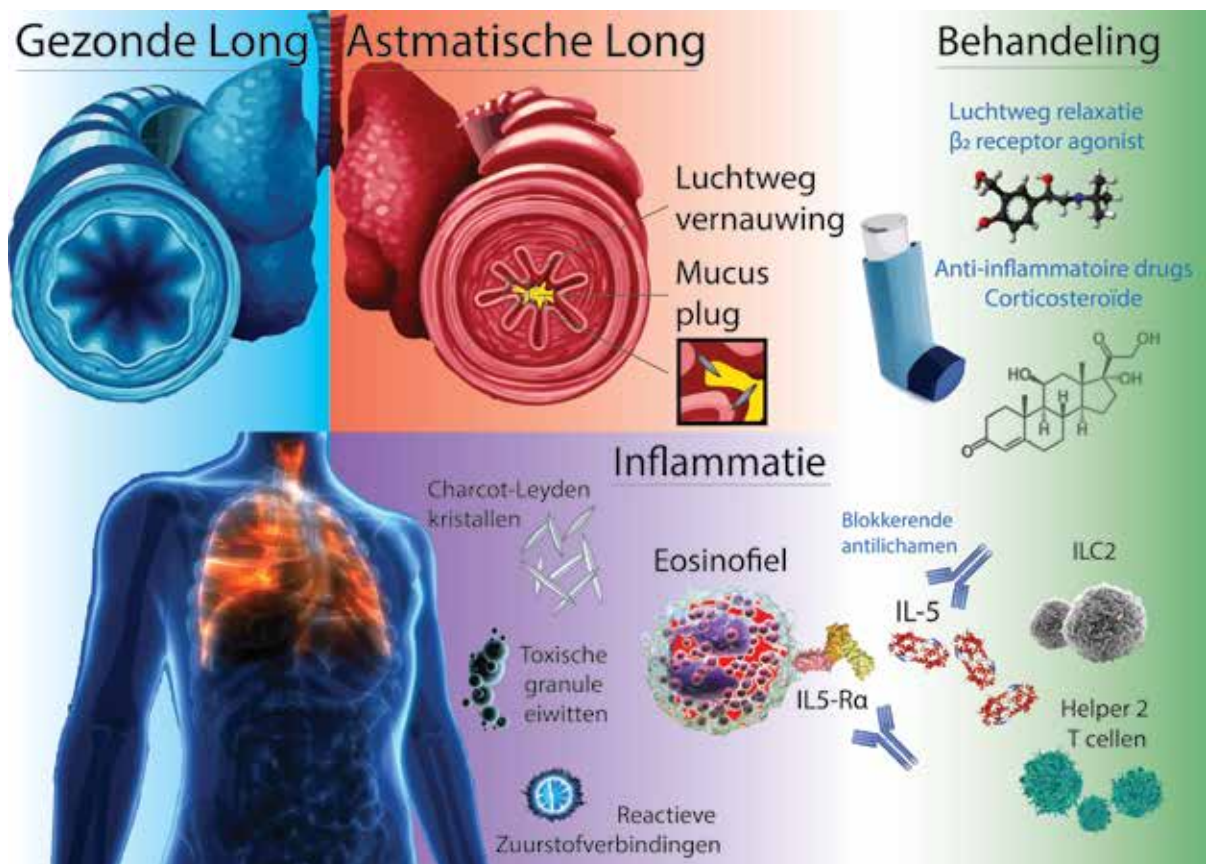
Introductie in astma

Astma is een chronische luchtwegaandoening die inmiddels tussen de 300 en 400 miljoen mensen wereldwijd treft (To, 2012). De ziekte wordt gekenmerkt door hoesten, kortademigheid, beklemmend gevoel op de borst en een piepende ademhaling. De diagnose wordt omschreven als de aanwezigheid van omkeerbare obstructie van de luchtstroom. Dit wordt getest door een luchtstroombeperking aan te tonen, die verbetert na

toediening van een bronchusverwijder. Ook een verslechtering van de symptomen na een geïnduceerde provocatie van de luchtwegen kan bijdrage aan de diagnose. Deze symptomen zijn het gevolg van een misplaatste immuunrespons in de longen met als gevolg overproductie van slijm, bronchiale hyperreactiviteit en activatie van granulocyten. Deze immuunrespons wordt in de longen gekarakteriseerd door verhoogde cytokines (zoals IL-4, IL-5 en IL-13) die voornamelijk

door type 2 immuun cellen gemaakt worden, zoals CD4-positieve T helper 2 cellen en type 2 innate (aangeboren) lymfoïde cellen (ILCs). De classificatie van astma is daarom een symptoomgedreven diagnose, waarvan de oorzaak tussen patiënten verschillend is. Onderzoek wijst uit dat een groot deel van de patiënten met astma allergisch reageren op ingeademde antigenen, die normaal gesproken onschadelijk zijn (Lambrecht 2015). Allergische reacties zijn dan ook vaak geasso-

Figuur 1 | De astmatische long wordt gekenmerkt door luchtwegvernauwing, mucuspluggen met Charcot-Leyden kristallen en chronische type 2 inflammatie. Eosinofielen maken schadelijke stoffen en worden in de longen in stand gehouden door het cytokine IL-5, wat door type 2 T cellen en ILCs gemaakt worden. Patiënten met verhoogde hoeveelheid eosinofielen kunnen succesvol behandeld worden met IL-5- of IL-5R-bindende antilichamen, die alle eosinofielen uit het lichaam wegvangen. Daarnaast worden astmatische aanvallen tegengegaan door toediening van anti-inflammatoire middelen zoals corticosteroïden en/of β_2 -receptor agonisten (bijv. albuterol, die het samentrekken van de bronchi vermindert) door middel van een inhalator.



cieerd met een overactieve type 2 immuunrespons. Onderzoek naar allergenen heeft geleid tot de identificatie van veel voorkomende allergenen die tegenwoordig de basis vormen van muismodellen voor astma (wordt hieronder vervolgd). Patiënten met allergische astma hebben een chronische verhoging van de populatie eosinofielen, een granulair immuun cel (Humbles 2004). De eosinofiel maakt veel toxische stoffen zoals granule eiwitten, reactieve zuurstofverbindingen en inflammatoire cytokines (Figuur 1). Daarnaast maken eosinofielen grote hoeveelheden van het eiwit galectin 10, wat zich in de longen vormt tot spitse kristallen (Charcot-Leyden kristallen). Deze kristallen komen veelvuldig voor in hardnekkige mucuspluggen die zorgen voor luchtwegobstructie. De hypothese gevormd door Prof. Bart Lambrecht en collega's is dat deze kristallen, als het ware prikkeldraad, de mucuspluggen vastzetten in de longwand.

Er zijn verschillende vormen van lange termijn therapie die de symptomen van astma onderdrukken, zonder de ziekte te genezen (zie Peters, 2020). De meest voorkomende behandeling van chronische astma is het gebruik van een inhalator, die gebruikt kan worden bij een allergische aanval waarbij de bronchi samentrekken en ademen bemoeilijkt. De korte termijn inhalator bevat een β_2 receptor agonist die het samentrekken van de bronchus tegen gaat tijdens een allergische aanval. Voor chronische patiënten met levensbedreigende aanvallen worden daarbij nog inhalatoren met anti-inflammatoire corticosteroïden voorgeschreven, die het immuunsysteem onderdrukken en overactiviteit van het immuunsysteem in de long preventief tegengaat. Echter, de β_2 receptor agonist is een korte termijn oplossing en de corticosteroïden hebben op lange termijn bijwerkingen. Om specifiek de immuunrespons in de longen te verminderen, worden tegenwoordig geneesmiddelen toegevend die eosinofielen uit

het lichaam verwijdert (anti-IL-5/IL-5R antilichamen, subcutaan toegediend). Omdat IL-5 cruciaal is voor het activeren en overleven van eosinofielen, kunnen antilichamen gericht tegen de cytokine of diens receptor eosinofielen uit het lichaam verwijderen. Voornamelijk bij de patiënten die verhoogde eosinofilie in het bloed laten zien, heeft het gebruik van deze antilichamen een positief effect op de astma pathologie. Wat de lange termijn consequenties van een eosinofiel-arm leven voor astmapatiënten zijn, wordt momenteel onderzocht.

Oorzaak en muismodellen

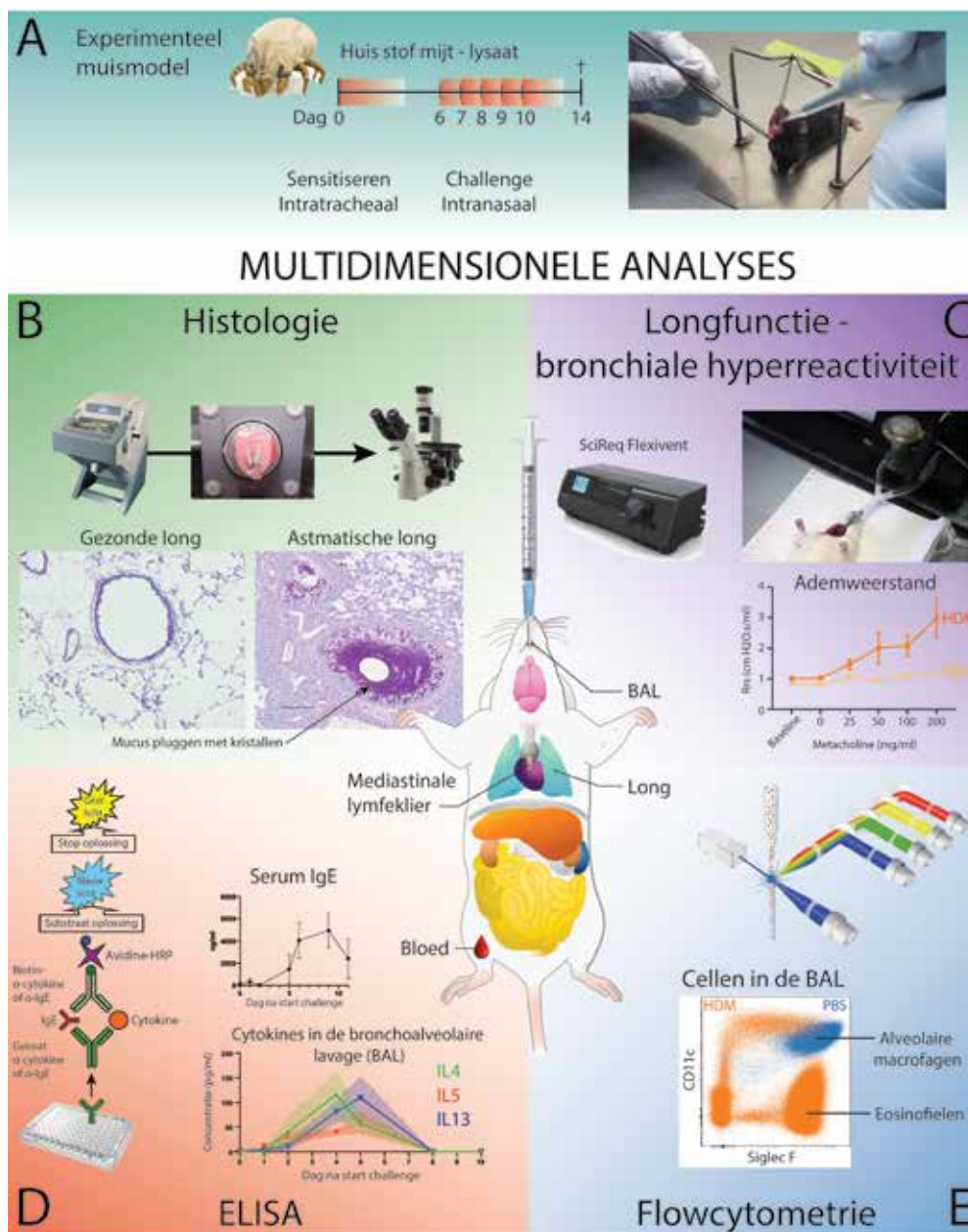
Van de allergenen die geassocieerd zijn met astma is de huisstofmijt de meest voorkomende. De huisstofmijt *Dermatophagoide pteronyssinus* is een complexe arthropod (geleedpotige) die het beste gedijt in donkere vochtige plaatsen, bij kamertemperaturen. Omdat de mijt zich voedt met huidschilfers, komen ze veel voor in onze huizen op veelgebruikte voorwerpen zoals bedden, tapijten en kussens. De uitwerpselen van de huisstofmijt zijn een grote veroorzaker van allergische astma. Om de huidschilfers te kunnen verteren, maakt de huisstofmijt gebruik van krachtige proteasen, die vervolgens in de uitwerpselen worden uitgescheiden en die op zijn beurt in de luchtwegen van de mens terecht komen. Deze proteasen veroorzaken schade aan de longwand en bevat vele allergenen die de longwand passeren en een immuun respons in de long opwekken.

Ons lab heeft het afgelopen decennium intensief onderzoek gedaan naar de oorzaken van astma door het ontwikkelen van nieuwe en klinisch-relevante muismodellen (Hammad, 2009). Door middel van intratracheale administratie van huisstofmijt lysaat wordt een muis gesensitiseerd voor de allergenen. In deze fase worden epitheliale cellen geactiveerd door de endotoxines in het lysaat en immuuncellen gerekruteerd die nodig zijn om het adaptieve (verworven)

immuunsysteem te activeren. Gespecialiseerde dendritische cellen nemen deze allergenen op en migreren naar de long-drainierende (mediastinale) lymfeklier waar allergeen-specifieke T helper 2 cellen gegenereerd worden die op de lange duur schadelijk zijn voor de long. Wanneer de muizen vervolgens een week na de sensitisatie intranasale opeenvolgende toedieningen (challenge) met huisstofmijt lysaat krijgen, vindt er een allergische reactie plaats in de longen en ontstaan verschillende pathologische verschijnselen zoals te zien is in astmapatiënten (Debeuf 2016; Figuur 2).

Histologie | Om de verandering in de mucusproductie in de longen te kunnen observeren, kiezen we voor een Periodic Acid Schiff kleuring of kortweg PAS-kleuring. Op de PAS-kleuring van cryocoups van de longen wordt een verschil waargenomen in aanwezigheid van mucus tussen HDM- en PBS-gesensitiseerde muizen. De HDM behandelde muizen hebben een uitgesproken aantal slijmbekercellen en mucus in de luchtwegen. De slijmbekercellen en de mucus kleuren bij de PAS-kleuring roze aan door het Schiff's fuchsin-sulfite reagens, terwijl de paarse kleuring afkomstig is van de haematoxylineoplossing, welke de celkernen van vooral de vele witte bloedcellen aankleurt. De PBS-gesensitiseerde muizen hebben duidelijk minder mucus-aankleuring in de bronchi en minder paarse aankleuring door de veel minder aanwezige witte bloedcellen.

ELISA HDM-specifieke antistoffen | Enzyme linked immunosorbent assay, of korter gezegd ELISA, is een laboratoriumtest voor het kwantitatief meten van macromoleculaire stoffen zoals cytokines (Hornbeck, 2015). We gebruiken deze techniek om ook de maat van inflammatie te meten. Enerzijds wordt via ELISA de concentratie van immunoglobulinen IgE en IgG1 in het bloed, meebepaald het serum, gemeten, zowel de aspecifieke als HDM-specifieke immunoglobulinen.



Figuur 2 | Huisstofmijt muismodel voor astmaonderzoek.

A. Huisstofmijt in de muislong door middel van een intratracheale injectie simuleert een allergisch astmatisch ziektebeeld in twee stappen, sensitisatie en challenge. De challenge fase induceert astma-specifieke pathologie, wat met verschillende methoden gemeten kan worden **B.** Histologie van de longen 4 dagen na de laatste challenge, geeft de structurele luchtweg verdikking en immuun cel infiltratie weer **C.** De reactiviteit van de longen is verhoogd in astma en kan in muizen geprovoceerd worden door toediening van methacholine, waarna de weerstand van de beademing gemeten kan worden. **D.** Macromoleculen zoals cytokinen of antilichamen in weefsel of vloeistoffen kunnen gemeten worden door een ELISA. **E.** De immuun activatie en celfiltratie (zoals eosinofilie) kan gemeten worden door middel van flow cytometrie. Organen kunnen enzymatisch en mechanisch gedigesteerd worden tot enkele cellen in suspensie, die door middel van fluorescente antistoffen gevisualiseerd kunnen worden.

Aspecifieke immunoglobulinen (Ig) zijn gericht tegen een grote waaier aan lichaamsvreemde antigenen, waarbij HDM-specifieke Ig enkel gericht zijn tegen het antigeen HDM. De HDM-geïmmuniseerde muizen hebben beduidend hogere immunoglobuline titers in hun serum dan de PBS-geïmmuniseerde muizen.

Er bestaan verschillende subklassen antilichamen: IgM, IgG, IgA, IgE, en IgD. Ze worden allemaal gemaakt door B-cellen, maar onder verschillende omstandigheden. Een jonge B-cel produceert in principe IgM en IgD. Na activatie door een T-helpercel ondergaat de B-cel

een proces dat class switching wordt genoemd waardoor nadien IgA, IgG of IgE wordt geproduceerd. IgE antilichamen zitten vooral op slijmvliezen, ze zijn de belangrijkste antilichamen bij de sensitisatie van mestcellen en dus belangrijk bij allergische astma (Froidure, 2016). IgE antilichamen binden op de mestcellen en door kruisreactiviteit met hun antigeen-specifieke gedeelte worden de mestcellen geactiveerd. Hierdoor wordt hoofdzakelijk histamine vrijgegeven waardoor een allergische reactie optreedt. Vervolgens zijn de IgG1 antilichamen essentieel bij de opsonisatie. Door het omringen van een antigeen met antistoffen wordt fagocytose vergemakkelijkt. Dit komt doordat fagocyten receptoren bezitten voor het constante gedeelte van een antilichaam (Fc-receptoren).

ELISA type 2 cytokines | Anderzijds kunnen cytokines worden gemeten uit het supernatant van de BAL, maar we kunnen ook T cellen van de long drainerende mediastinale lymfeklier (mLN) *in vitro* restimuleren met HDM en dat laat ons toe het geproduceerde cytokine profiel van de allergeen geactiveerde T cellen te meten. Uit het supernatant kan men via een ELISA informatie halen over de aanwezigheid van bepaald cytokines, zoals IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 en IFN- γ . HDM-geïmmuniseerde muizen hebben een significant verhoogde cytokine-productie, van zowel de Th1- als de Th2-geassocieerde cytokines, vergeleken met de PBS-geïmmuniseerde muizen. Onder de Th2-geassocieerde cytokines wordt nog een onderscheid gemaakt tussen sterk geproduceerde interleukines, zoals IL-10 en IL-13, intermediair geproduceerde IL-5 cytokine en een zwakke cytokine-productie van IL-4 in dit geval. De productie van IL-4 hangt namelijk af van de muizenstam. C57BL/6-muizen zijn Th1 gericht waardoor de productie van IL4 beduidend lager ligt dan bij BALB/c-muizen die Th2 gericht zijn. IL-4 is een B-cel class switchfactor zodat B-cellen de productie van IgE starten. IL-5 is een chemokine dat

belangrijk is voor de migratie van eosinofielen van het bloed naar de longen. Daarnaast worden de slijmbekercellen geactiveerd door het cytokine IL-13 waardoor ze in overmaat mucus gaan produceren. Wanneer er wordt gekeken naar de aanwezigheid van de IL-4, IL-5 en IL-13 cytokines in het supernatant van de BAL, ziet men een verhoogde trend van cytokineproductie van deze Th2-geassocieerde interleukines bij HDM-ge sensitiseerde muizen in vergelijking met de PBS-ge sensitiseerde muizen. Daarbij is IL-13 dus belangrijk voor het induceren van mucus, dat men ook visueel kan waarnemen door een PAS-kleuring uit te voeren op de longen. IL-5 is dan weer belangrijk omdat deze zorgt voor de migratie van eosinofielen naar de longen. Deze migratie kan met behulp van flowcytometrie aangetoond worden.

Flowcytometrie van bronchoalveolaire lavage | Wanneer de astmatische of HDM-ge sensitiseerde muizen vergeleken worden met de gezonde of PBS-ge sensitiseerde muizen wordt een toename gezien in het aantal inflammatoire cellen in de bronchoalveolaire lavage (BAL). We analyseren die inflammatoire celfiltratie door middel van flowcytometrie, waarbij gebruik wordt gemaakt van fluorescent gelabelde antilichamen om moleculen op cellen te meten en celtypes te detecteren. Om eosinofielen te onderscheiden gebruikt men de markers CD11c en SiglecF. De grootte van de populatie eosinofielen is een maat voor de type 2 inflammatie. Er gebeurt een verschuiving van de alveolaire macrofagen in PBS-ge sensitiseerde muizen naar een grote populatie eosinofielen in HDM-ge sensitiseerde muizen die duidt op een allergische reactie.

Longfunctie | Als we spreken over bronchiale hyperreactiviteit (BHR) dan hebben we het over verhoogde reactiviteit van de bronchiale (grote lagere) luchtwegen op prikkels door samentrekking. Als chemische prikkel wordt de niet-selectieve

muscarine-receptoragonist methacholine toegediend, een geheel onschadelijke stof, waarop de longen gaan reageren. De luchtweg wordt nauwer doordat het gladde spierweefsel samentrekt of door extra slijmproductie. Door een nauwe opening kan de lucht moeilijker stromen, omdat de weerstand groter is. Er is meer kracht nodig om voldoende lucht naar binnen te krijgen en het kost meer tijd en inspanning om lucht naar buiten te persen. Het is dan die weerstand die gemeten wordt met behulp van een gesofisticeerd beademingstoestel (zie McGovern, 2013). Op die manier kan de gevoeligheid van de luchtwegen in de longen worden aangegeven. De weerstand ligt dus bij HDM-ge sensitiseerde muizen hoger dan als we die vergelijken met de PBS-ge sensitiseerde muizen. Bij ons op het lab gebruiken we de flexiVent en hebben wel 3 instrumenten ter onze beschikking zodat de capaciteit van metingen sterk kan worden opgedreven.

Charcot-Leyden kristallen en recente ontwikkelingen

Geassocieerd met eosinofilie in astmapatiënten is er de aanwezigheid van zogenaamde Charcot-Leyden (CL) kristallen in de luchtwegen. Te zien in de PAS-kleuring in figuur 2B. Deze kristallen werden voor het eerst beschreven in de 19de eeuw door Jean-Martin Charcot en Charles-Philippe Robin, en later Ernst von Leyden. CL kristallen bestaan volledig uit het eiwit Galectin 10, een van de meest voorkomende eiwitten in humane eosinofielen. Pas recentelijk is de inflammatoire werking van CL kristallen beschreven in de context van astma, waarbij de behandeling van CL kristallen met kristal-oplossende antistoffen in muizen een genezende werking heeft (Persson, 2019). Omdat de standaardtherapieën zoals corticosteroïden vaak geen effect hebben op mucus pluggen of de aanwezigheid van CL kristallen, kunnen anti-CL een nieuwe dimensie geven aan astmatherapie in de richting van genezing.

Literatuur

To T., Stanojevic S., Moores G., et al. 2012, Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey. *BMC Public Health*; 12: 204
 Lambrecht, B.N. and Hammad, H. 2015. The immunology of asthma. *Nature Immunology*; 16: 45-56.
 Hammad, H., Chieppa, M., Perros, F., Willart, M.A., Germain, R.N., and Lambrecht, B.N. 2009. House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nature Medicine*; 15: 410-416.
 Peters, M.C. and Wenzel, S.E. 2020, Intersection of biology and therapeutics: type 2 targeted therapeutics for adult asthma. *Lancet*; 395: 371-83
 Debeuf, N., Haspeslagh, E., van Helden, M., Hammad, H., Lambrecht, B.N. 2016 Mouse models of asthma. *Current Protocols in Mouse Biology*; 6(2):169-184
 Hornbeck, P. 2015. Enzyme-linked immunosorbent assays. *Current Protocols in Immunology*. 110:2.1.1-2.1.23.
 Humbles, A.A., Lloyd, C.M., McMillan, S.J., Friend, D.S., Xanthou, G., McKenna, E.E., Ghiran, S., Gerard, N.P., Yu, C., Orkin, S.H., and Gerard, C. 2004. A critical role for eosinophils in allergic airways remodeling. *Science* 305: 1776-1779.
 Froidure, A., Mouthuy, J., Durham, S.R., Chanez, P., Sibille, Y., Pilette, C. 2016 Asthma phenotypes and IgE responses. *European Respiratory Journal*; 47: 304-319
 McGovern, T.K., Robichaud, A., Fereydoonzad, L., Schuessler, T.F., Martin, J.G. 2013, Evaluation of Respiratory System Mechanics in Mice using the Forced Oscillation Technique. *Journal of Visualized Experiments*; 75: 50172
 Persson E.K., Verstraete K., Heyndrickx I., Gevaert E., Aegerter H., Percier J.M., Deswarte K., Verschuere K.H.G., Dansercoer A., Gras D., Chanez P., Bachert C., Gonçalves A., Van Gorp H., De Haard H., Blanchetot C., Saunders M., Hammad H., Savvides S.N., Lambrecht B.N. Protein crystallization promotes type 2 immunity and is reversible by antibody treatment. *Science*; 364(6442) ◀

De diagnostiek van autoimmuun blaarziekten

Dr. G.F.H. Diercks Patholoog, Universitair Medisch Centrum Groningen

Laboratorium immuno-dermatologie

Het Laboratorium voor Immuno-dermatologie is onderdeel van het Centrum voor Blaarziekten van het Universitair Medisch Centrum Groningen. Het Centrum voor Blaarziekten is een landelijk erkend expertise centrum waarin onder anderen dermatologen, pathologen, immunologen en klinisch genetici samenwerken. Het laboratorium is gespecialiseerd in immunofluorescentie van huid en slijmvliesbipten en heeft daarnaast de beschikking over meerdere, deels unieke, serologische testen, waardoor we in staat zijn auto-immuun blaarziekten op een snelle, betrouwbare en sensitieve manier te detecteren en te classificeren. Daarnaast is het laboratorium betrokken bij de diagnostiek van erfelijke blaarziekten (epidermolysis bullosa). Behalve als diagnostisch labo-

ratorium heeft het laboratorium ook een belangrijke rol in het wetenschappelijk onderzoek van blaarziekten, waarbij er meerdere nationale en internationale samenwerkingsverbanden zijn.

Het biopt

Het biopt van de huid of slijmvlies van de patiënt is een belangrijk onderdeel van de diagnostiek naar auto-immuun blaarziekten. Het beste is om het biopt perilesionaal, dat wil zeggen uit de roodheid naast de blaar, af te nemen. Aangezien immuunfluorescentie niet werkt op formaline gefixeerd materiaal is het noodzakelijk een biopt vers, het liefst op fysiologisch zout, in te sturen. Fysiologisch zout zorgt er namelijk voor dat ongewenste achtergrond aankleuring wordt verminderd. Indien verwacht wordt dat een biopt langer dan 24 uur onderweg zal zijn is het beter

dit diepgevroren of op Michel's fixatief in te sturen.

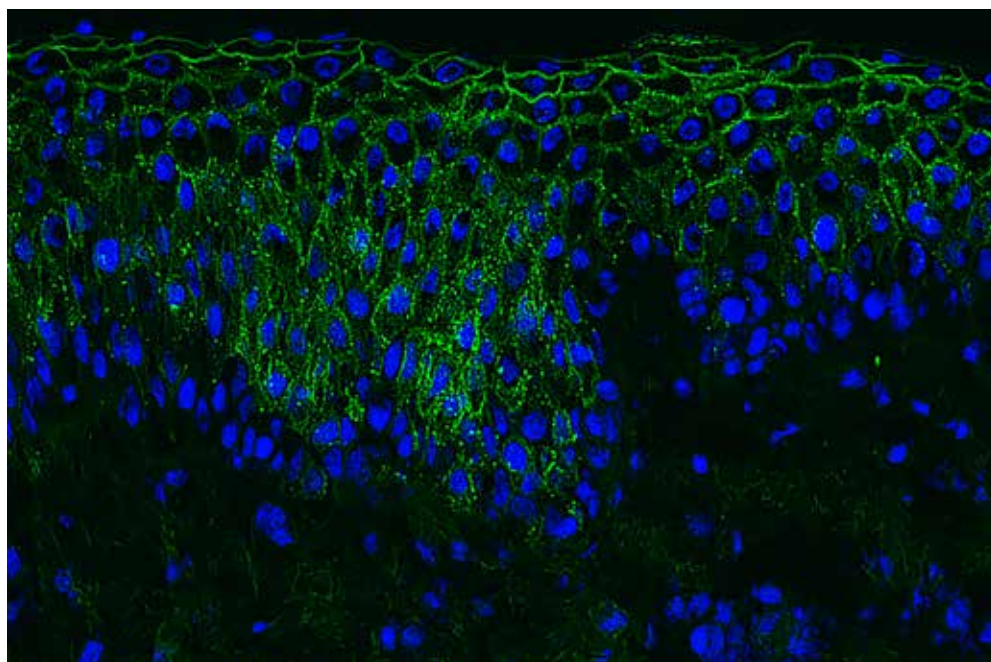
Het biopt wordt gekleurd op aanwezigheid van immuunglobulines en complement, waarbij wordt gekeken naar het patroon van aankleuring. Bij pemfigus wordt een aankleuring tussen de keratinocyten verwacht; een zogenaamd honingraatpatroon. Pemfigoid toont een lineaire aankleuring langs de basaalmembraan. Hierbij kan een onderscheid gemaakt worden tussen een lineair n-serratie patroon, passend bij bulleus pemfigoid en de meeste andere vormen van pemfigoid, of een u-serratie patroon, passend bij epidermolysis bullosa acquisita. Tenslotte kan ook een granulaire patroon van IgA langs de basaalmembraan worden gevonden, hetgeen gezien wordt bij dermatitis herpetiformis.

Samen met de bevindingen van het serologisch onderzoek (zie verder) kunnen we auto-immuun blaarziekten verder sub classificeren. Dit is belangrijk omdat elke vorm van een blaarziekte een andere prognose heeft en een andere behandeling behoeft.

Het serologisch onderzoek

Het serologisch onderzoek is nodig om te bepalen of er circulerende antistoffen tegen eiwitten (antigenen) betrokken bij auto-immuun blaarziekten in het bloed van de patiënt aanwezig zijn. Hiervoor is een buisje stolsbloed van de patiënt nodig. De combinatie van serologie en biopt verhoogt de sensitiviteit en specificiteit van het onderzoek naar auto-immuun blaarziekten. Er worden 2 substraten gebruikt. In de eerste plaats apenoesofa-

Huidbiopt met afzetting van IgG tussen de keratinocyten passend bij pemfigus.



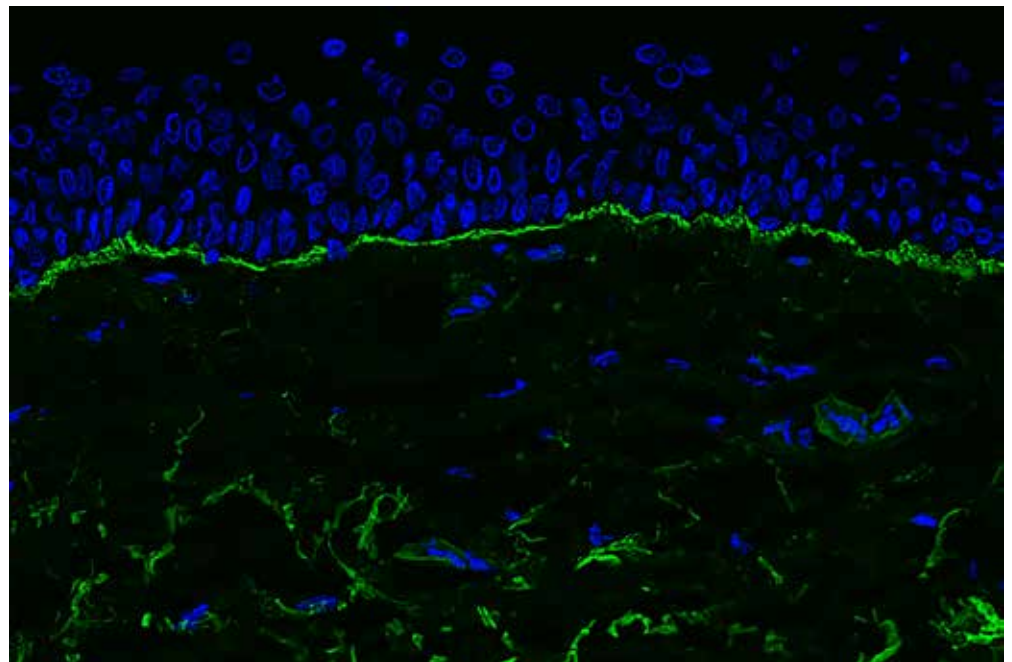
gus, waarbij 2 patronen kunnen worden onderscheiden. De antistoffen in pemfigus serum zullen binden aan de epitheelcellen, hetgeen resulteert in een kippengaaspatroon. In het geval van pemfigoid zullen de antistoffen binden ter plekke van de basaalmembraan, een lineair patroon gevend.

Het andere substraat is humane zoutgespleten huid. Door huid van gezonde personen gedurende 48 uur met hoog molair natriumchloride te incuberen ontstaat een splijting ter plekke van de basaalmembraan zone. Bepaalde eiwitten betrokken bij auto-immuun blaarziekten zullen zich in het dak van de splijting bevinden, onder ander BP180 en BP230, terwijl andere eiwitten in de bodem zitten, zoals collageen 7 en laminine 332. Incubatie met serum van pemfigoid patiënten kan dan een dak of bodem aankleuring geven, afhankelijk van het antigeen waartegen de antistoffen gericht zijn.

Bij zowel pemfigus als pemfigoid is het noodzakelijk om aanvullende testen, zoals ELISA en immunoblot, uit te voeren om het betrokken antigeen in meer detail te kunnen determineren.

Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) is een laboratoriumtest waarmee de hoeveelheid antilichamen in het bloed tegen een bepaald auto-antigeen kan worden gemeten. Het voordeel hiervan is dat de ziekteactiviteit gemonitord kan worden om te zien of de ingestelde medicatie werkzaam is, of dat er een risico op een relapse is. Het laboratorium beschikt over anti-desmogleïne 1 en anti-desmogleïne 3 ELISA's (pemfigus) en anti-NC16A en anti-BP230 ELISA's (pemfigoid).

Alle sera met een differentiaal-diagnose van pemfigus of pemfigoid worden routinematig met ELISA gescreend of er inderdaad antilichamen tegen een auto-antigeen aanwezig zijn. Van patiënten die onder behandeling



Huidbiopt met lineaire afzetting van IgG langs de basaalmembraan passend bij pemfigoid.

staan van het UMCG wordt bij elk bezoek de antilichaamtiter gecontroleerd.

Immunoblot is een test waarbij serum op een nitrocellulosemembraan wordt gebracht waarop zich op grootte gesorteerde huideiwitten bevinden. Indien het serum van de patiënt antilichamen bevat, welke gericht zijn tegen een van deze eiwitten, dan zullen deze er aan binden. Dit kan met een kleurmethode zichtbaar worden gemaakt en op basis van de positie waar het IgG is gebonden kan een diagnose worden gesteld. De techniek is bij pemfigoid vooral geschikt om antilichamen tegen BP180 (het antigeen waar de meeste pemfigoid patiënten antilichamen tegen maken) aan te tonen. Daarnaast is het een zeer adequate test om paraneoplastische pemfigus aan te tonen omdat het antilichamen tegen periplakine en envoplakine zichtbaar kan maken. De initiële diagnostiek bij verdenking op paraneoplastische pemfigus is immunoblot en indirecte immunofluorescentie op rattenblaas. Indien de uitkomst hiervan niet eenduidig is wordt het serum met immunoprecipitatie getest. Immunoprecipitatie is een uiterst gevoelige, maar ook bewerkelijke test die zeer lage

concentraties antilichamen in het bloed kan aantonen. Drie auto-antigenen die specifiek zijn voor paraneoplastische pemfigus zijn de combinatie envoplakine en periplakine en/of het eiwit A2ML1. Per patiënt kan de antilichaamrespons verschillen. Het laboratorium Immunodermatologie beschikt als enige in Nederland over deze twee testen.

Meer weten?

Volg deze link: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23796242>

Conclusie

Voor een goede diagnostiek naar autoimmuun blaarziekten is het noodzakelijk de resultaten van het biopt en serologisch onderzoek te combineren. Het Laboratorium voor Immunodermatologie van het Centrum voor Blaarziekten van het Universitair Medisch Centrum Groningen biedt deze mogelijkheid. Het laboratorium voor Immunodermatologie beschikt daarbij over testen die uniek zijn in Nederland (en in de wereld). Op de website www.immunoderma.org kunt u meer informatie vinden, waaronder de aanvraagformulieren en de manier van inzenden.. ◀

Immunopathologie: een voorbeeld van auto-immuun diagnostiek

Prof. dr. Paul van der Valk, Pathologie, AmsterdamUMC, locatie VUmc

Inleiding

Zoals iedereen weet, ligt het accent bij de immunohistochemie sterk op tumordiagnostiek en celkarakterisatie en dat is dan ook de bulk van het werk. Er zijn echter nog een aantal andere, niet-neoplastische toepassingen van de immunohistochemie, die niet zo frequent aan de orde komen, maar wel klinisch belangrijke informatie kunnen leveren. Je kunt daarbij denken aan de diagnostiek van de nierziekten, karakterisering van blaarziekten van de huid en slijmvliesen en van (hulp bij) karakterisering van auto-immuunziekten en immuundeficiënties. Een aardig voorbeeld van zo een toepassing is de rol die de immunohistologie speelt bij de diagnostiek van de ziekte van Sjögren, een gegeneraliseerde auto-immuunziekte, met als kardinaal symptoom de destructie van speeksel- en traanklieren en de daarbij horende klinische manifestatie van droge mond en ogen. Daarnaast kunnen er

een reeks andere symptomen optreden, als gewrichtsklachten, vermoeidheid, nierproblemen en het verschijnen van antinucleaire antilichamen (waarvan m.n. de SS-A en SS-B, kleine cytoplasmatische ribonucleoproteïnen, enige specificiteit hebben voor de diagnose M. Sjögren).

De destructie van het speekselklierparenchym is het gevolg van een lymfoplasmacytaire ontsteking van het weefsel. Hoewel de droge slijmvliesen zeer onaangenaam zijn (en voor het oog potentieel visusbedreigend kunnen zijn), is de ontsteking zelf niet ernstig, maar de ervaring heeft geleerd dat een M. Sjögren predisponeert voor het optreden van een maligne lymfoom en dat betekent dat een patiënt in langdurige follow-up gehouden moet worden. Derhalve is een betrouwbare diagnose belangrijk. Dat geldt niet of in veel mindere mate voor de chronische ontstekingen van de speekselklieren die

geen auto-immuun grondslag hebben, zoals de frequent voorkomende ontsteking die secundair is aan excretie problemen van de speekselklieren op basis van steenvorming in de speekselkierafvoergangen.

Om nu juist die patiënten te vinden die een echte M. Sjögren hebben is een diagnostisch algoritme ontwikkeld waarbij de immunohistochemie een belangrijke rol speelt. Ervaring met deze vorm van diagnostiek heeft bewezen dat de kliniek grote waarde hecht aan deze bepaling en ze ook een rol speelt in de evaluatie van voor Sjögren verdachte patiënten.

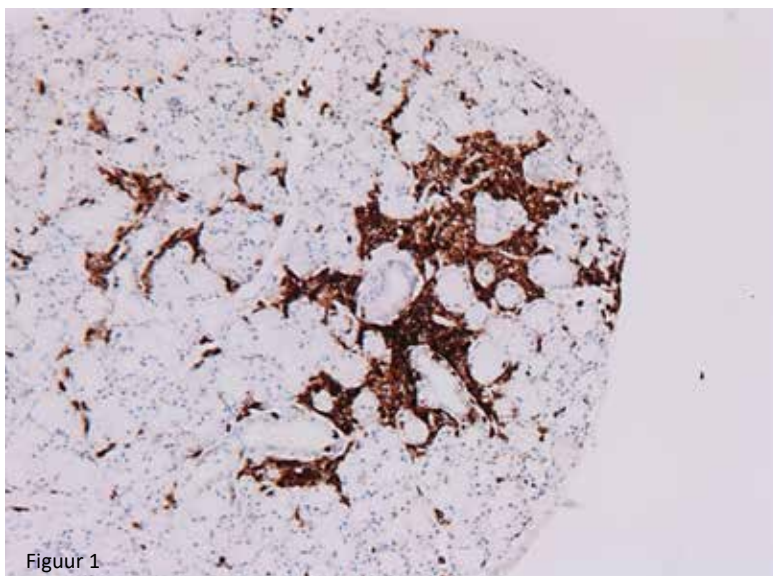
De Sjögren-diagnostiek: het weefsel

Vanzelfsprekend zal voor deze vorm van diagnostiek speekselklierweefsel moeten worden onderzocht. Nu heeft de mens 6 grote speekselklieren (2 glandula parotis, 2 glandula submandibularis en 2 glandula sublingualis) en een heleboel kleine speekselklierjes verspreid in het hele mondslijmvlies gelegen. Omdat bipten van de grote speekselklieren vanwege potentiële complicaties onaantrekkelijk zijn wordt voor de Sjögrendiagnostiek gebruik gemaakt van een complete excisie van een klein speekselklierje uit de onderlip. Dat is een kleine en niet-belastende ingreep. Het biopt wordt gefixeerd in formaline en routinematig doorgevoerd en ingeblokt in paraffine.

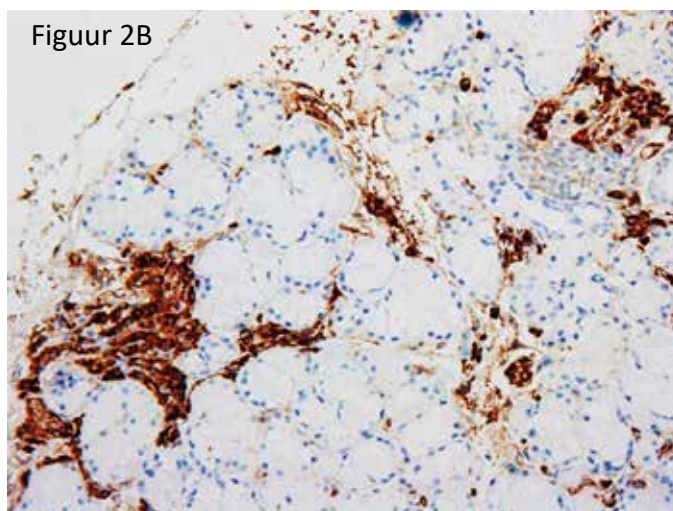
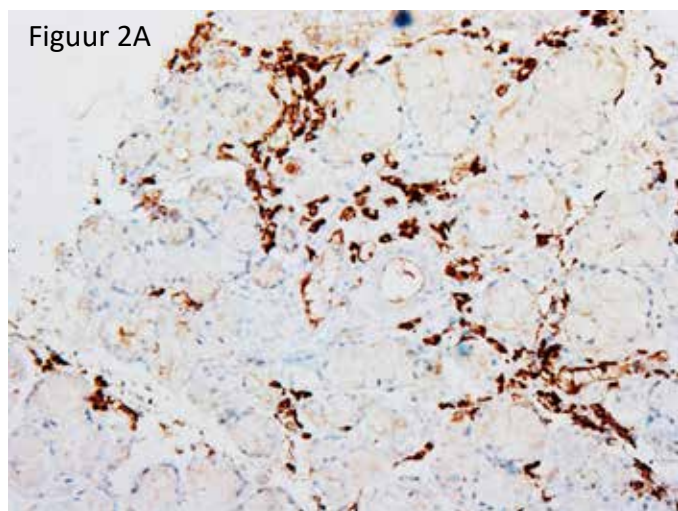
De Sjögrendiagnostiek: antilichamen/kleuringen

De diagnostiek kent 2 hoofdonderdelen: 1) vaststellen of er (voldoende) lymfo(plasma)cytaire ontsteking in het weefsel is en 2)

Figuur 1: CD45 kleuring kleine speekselklier. Meerder grote groepen (> 50 lymfocyten), op het oppervlak van 4 mm² is de Focus score 3,01 (positief bij > 1,0). Objectief 5x



Figuur 1



Figuur 2: immunopathologie kleine speekselklier. Objectiefgrootte 10x

A) IgA: sterk verlaagd aantal positieve plasmacellen (bij telling 40%)

B) IgG: sterk verhoogd aantal positieve plasmacellen (bij telling 55%) (Normaal IgA >70%, en IgG ong. 20%)

vaststellen hoe de verhouding van de klassen van plasmacellen (IgG-, of IgA-, of IgM-producerende) is.

Ad 1) Hierbij wordt gekeken naar de aanwezigheid van lymfocyttaire foci in het parenchym. Een focus is gedefinieerd als een samengelegde groep van meer dan 50 lymfocyten. Dit wordt gedaan in de CD45-kleuring, die de detectie en kwantificatie zeer vergemakkelijkt. Natuurlijk kleurt de CD45 nog allerlei andere celtypen aan, maar deze zijn of gemakkelijk te onderscheiden o.b.v. kleurintensiteit en grootte (macrofagen bijvoorbeeld) of spelen in de chronische speekselklieraandoeningen een geringe rol (granulocyten). De telling van het aantal foci wordt berekend door het aantal foci x 4 te delen door het oppervlakte van het klierweefsel in mm² en heet de focus score. Deze is een indicatie, maar ontbeert specificiteit en is bij allerhande aandoeningen verhoogd. Vandaar dat er gezocht is naar een factor die de specificiteit kan doen toenemen.

Ad 2) De speekselklieren behoren bij het mucosa-geassocieerde lymfatische weefsel, waarin de

predominante plasmacel de IgA-producerende cel (ong. 70% van alle plasmacellen). Is er sprake van een auto-immuunziekte dan zal er een verschuiving optreden in de lokaal geproduceerde antilichamen ten gunste van de IgG, zodat het aantal IgG-positieve plasmacellen sterk stijgt, ten koste van de IgA positieve cellen. Zoals iedereen weet, zijn de Immunoglobuline kleuringen niet zelden problematisch, maar met hun sterke aankleuring zijn de Ig-producerende plasmacellen goed herkenbaar en kwantificeerbaar. Er zijn verschillende manieren waarop dit verdisconteerd kan worden in de diagnostiek: het simpelste is uit te gaan van de IgA-positieve plasmacellen, waarbij een percentage van lager dan 70% voor de IgA indicatief is voor Sjögren; de manier die op het VUMC wordt gevolgd is een nogal mathematische, die de bedoeling heeft de impact van de verschuiving in de verhouding van de immunoglobulineklassen te maximaliseren: de DF-score die resulteert uit: $0.062(\% \text{IgA} + \text{plasmacellen}) - 0.088 (\% \text{IgG} + \text{plasmacellen}) - 4,387$. Daarbij is een score van minder dan -2 wijzend op Sjögren.

Deze immunohistochemisch bepaling (gevolgd door iets kwantitatiefs) correleert heel goed met de aan- dan wel afwezigheid van het syndroom van Sjögren zelfs bij toepassing op klinisch lastige patiënten. Wel moet gezegd worden dat de methode als hierboven beschreven gevalideerd is voor de kleine intraorale speekselkliertjes. Of het ook opgaat voor de parotis, submandibularis of sublingualis speekselklieren is niet vastgesteld.

Het is een mooi voorbeeld van een immunologische bepaling middels simpele immunohistochemie die klinisch toegepast en door de klinici vertrouwd wordt.

Literatuur:

- Bodeutsch C. Immunohistopathology of labial salivary glands in Sjögren's syndrome. Proefschrift Radboud Universiteit Nijmegen, 1993
- Kater L, de Wilde PCM, Hené RJ, Kallenberg CGM. Immunopathologie van het syndroom van Sjögren. Ned Tijdschr Geneesk 1995, 139: 1166-1169
- Standardisation of labial salivary gland histopathology in clinical trials in primary Sjögren's syndrome. ◀

Flowcytometrische analyses bij acute leukemie patiënten behandeld met immuuntherapie

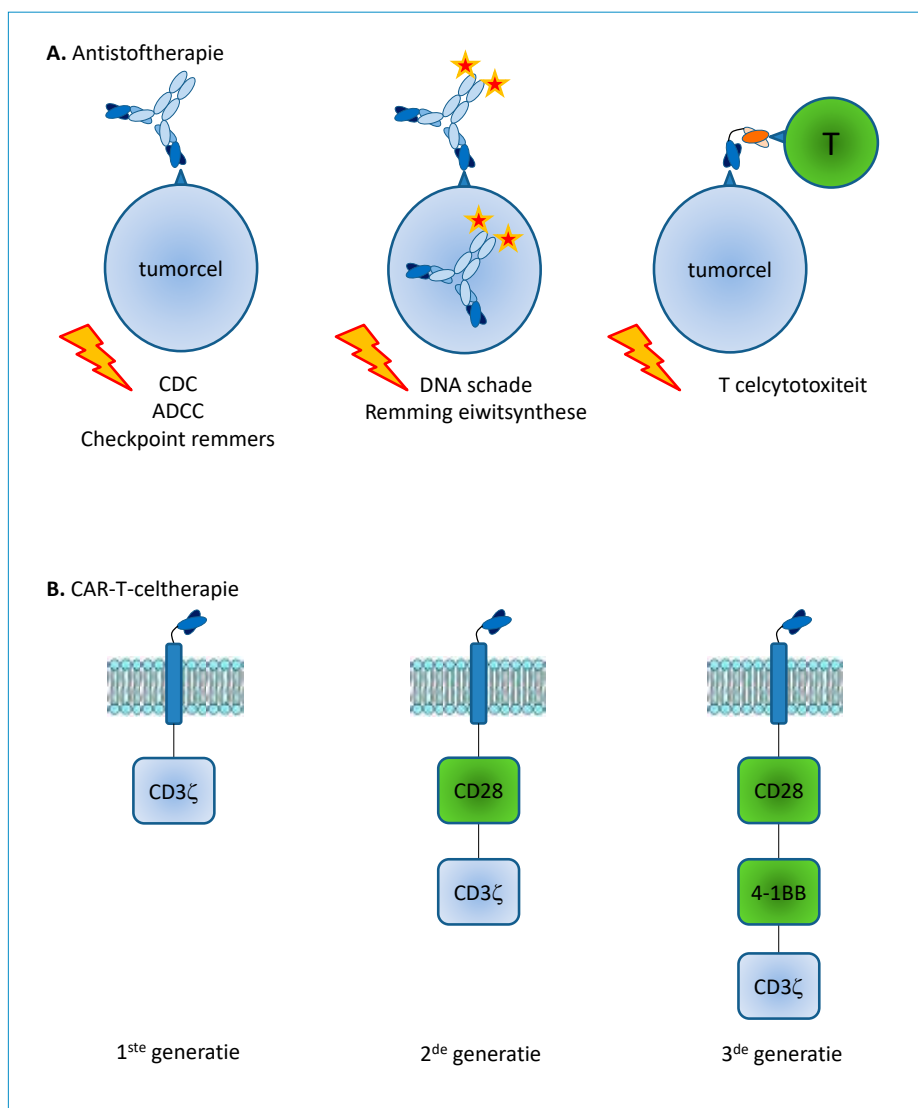
Vincent van der Velden, Laboratorium Medische Immunologie, afdeling Immunologie, Erasmus MC, Rotterdam

Patiënten met een acute leukemie worden steeds vaker behandeld met immuuntherapie, zoals antistoftherapie of CAR-T-celtherapie. Flowcytometrie speelt een belangrijke rol bij de diagnostiek van dit soort patiënten, zowel bij het vaststellen of de doelantigenen op de tumorcel aanwezig zijn, het meten van de immuunrespons, en het detecteren van minimale restziekte.

Inleiding

Flowcytometrie is een methode waarbij cellen in een suspensie gelabeld kunnen worden met fluorescerende markers en vervolgens één voor één gemeten worden. Als fluorescerende markers worden vaak antistoffen gebruikt die geconjugeerd zijn met een fluorochroom. Antistoffen zijn in staat om heel specifiek te binden aan één bepaald antigeen, vaak een eiwit. Doordat verschillende cellen verschillende antigenen tot expressie zullen brengen, zullen ook verschillende antistoffen aan verschillende cellen kunnen binden. Zo brengen B-cellen bijvoorbeeld specifiek het CD19 antigeen en CD22 antigeen tot expressie, is het CD34 antigeen aanwezig op onrijpe hematopoëtische cellen, en is het CD3 antigeen specifiek voor T-cellen. Omdat verschillende antistoffen gelabeld kunnen worden met verschillende fluorochromen, is het mogelijk om cellen tegelijkertijd met meerdere antistoffen te kleuren en op die manier de aanwezigheid van meerdere eiwitten te bekijken. Met de huidige flowcytometers kunnen acht tot twaalf verschillende kleuren tegelijkertijd worden gemeten, waardoor cellen dus gedetailleerd kunnen worden geanalyseerd.

Door hun specifieke binding aan bepaalde antigenen zijn antistoffen ook uitermate geschikt voor gerichte behandeling van maligniteiten, inclusief acute leukemie. De afgelopen jaren zijn er enorm veel ontwikkelingen geweest



Figuur 1. Overzicht van immuuntherapieën in acute leukemie. A. Antistoftherapieën. B. De verschillende generaties CAR-T-celtherapieën.

in de immuuntherapie met zeer goede resultaten: een goede effectiviteit en een verminderde toxiciteit. Echter, immuuntherapieën zijn vaak duur. Daarom is het belangrijk om vroegtijdig te kunnen voorspellen welke patiënt baat heeft bij de therapie en welke niet. Flowcytometrie speelt hierbij een belangrijke rol en deze zal in dit artikel nader worden uitgelegd.

Immuuntherapie

Immunotherapie of immuuntherapie is een behandeling waarbij medicijnen worden gebruikt die feitelijk op twee manieren kunnen werken: (1) het maakt tumorcellen zichtbaar voor het eigen afweersysteem; en (2) het versterkt of verandert de activiteit van het eigen afweersysteem waardoor de natuurlijke afweerreactie van het lichaam tegen tumorcellen wordt gestimuleerd. Voor patiënten met acute leukemie zijn de laatste jaren verschillende immuuntherapieën ontwikkeld en geïntroduceerd (Figuur 1)(1).

Ongeconjugeerde antistoffen

Ongeconjugeerde antistoffen (kale antistoffen) kunnen specifiek binden aan hun doelantigeen op de tumorcellen. Na binding van de therapeutische antistof wordt de normale immuunrespons geactiveerd. Complement-gemedieerde lysis en antistof-afhankelijke cellulaire cytotoxiciteit spelen daarbij een belangrijke rol. Tevens kan de binding van de antistof aan de antigenen op de tumorcellen resulteren in veranderde functie of signalering van de antigenen, en daarbij een direct effect hebben op de vitaliteit van de tumorcel. Belangrijke voorbeelden van ongeconjugeerde antistoffen die momenteel worden gebruikt voor patiënten met acute leukemie zijn Daratumumab (CD38) en Rituximab (CD20). Voor een goede werking is het van belang dat de antistof na binding op het celoppervlak aanwezig blijft, zodat het immuunsysteem goed kan worden geactiveerd.

Een speciale groep van ongeconjugeerde antistoffen zijn de immune checkpoint inhibitors. Deze antistoffen binden aan specifieke eiwitten die normaal gesproken de T-celactivatie remmen. De eiwitten CD80/CD86 en PD1 kunnen tot expressie komen op de tumorcellen en na binding met respectievelijk CTLA4 en PD1 op de T-cel de activatie van de T-cel (na interactie van MHC klasse II en T-celreceptor) rem-

men. Door de interactie tussen CD80/CD86 – CTLA4 en/of PD1 – PDL1 te blokkeren door antistoffen gericht tegen één van deze eiwitten, wordt de rem van het immuunsysteem gehaald en kan de T-cel de tumorcel beter doden. De rol van immune checkpoint inhibitors in de behandeling van acute leukemie wordt nog uitvoerig onderzocht (2).

Toxine geconjugeerde antistoffen

Antistoffen kunnen ook worden gebruikt om heel gericht toxische stoffen af te geven aan de tumorcellen. Er zijn verschillende toxines in gebruik, waarbij sommige een effect hebben op de eiwitsynthese van de tumorcellen en andere DNA-schade induceren. Het is cruciaal dat de antistof na binding aan het antigeen op de tumorcellen wordt geïnternaliseerd, waarna het toxine vrij kan komen en/of geactiveerd kan worden en de cel kan doden. Een voorbeeld is Inotuzumab Ozogamicine, dit is een CD22 antistof met daaraan gekoppeld calicheamicine, dat na activatie dubbelstrengs DNA-breken kan induceren.

Bi-specifieke antistoffen

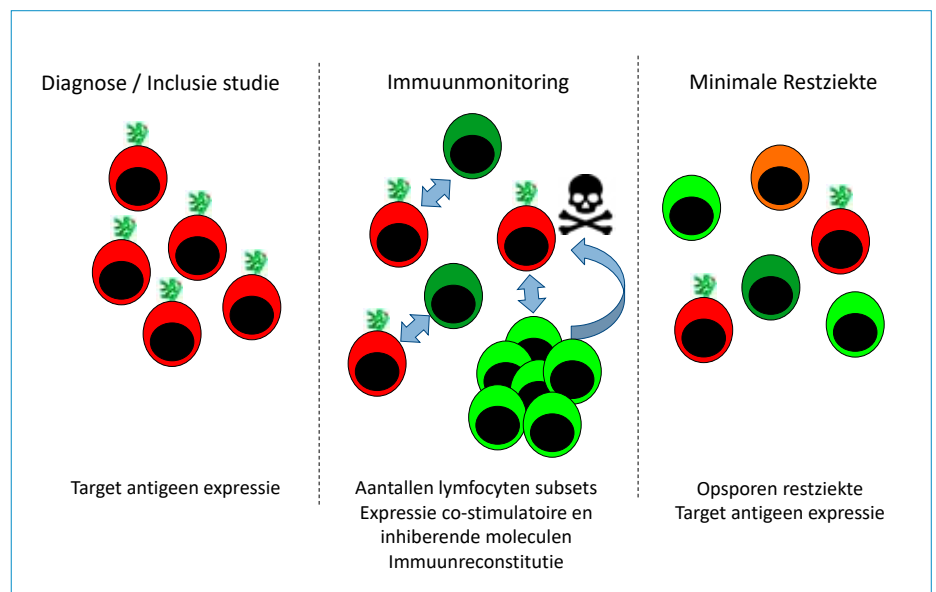
Normale antistoffen bestaan uit twee identieke zware en twee identieke lichte ketens, die twee identieke antigeen-bindende domeinen vormen. Bi-specifieke antistoffen zijn dusdanig gemanipuleerd dat ze bestaan uit twee verschillende (delen van) zware en twee verschillende (delen van) lichte ketens, waardoor de

beide antigeen-bindende domeinen verschillende antigenen kunnen binden. De bi-specifieke antistoffen worden dusdanig gemaakt, dat één helft van de antistof kan binden aan een antigeen op de tumorcel, en de andere helft van de antistof kan binden aan een T-cel (vaak middels CD3). Doordat de tumorcel en de T-cel nu aan elkaar gekoppeld worden, kan de T-cel worden geactiveerd en de tumorcel doden. De eerste bi-specifieke antistof was Blinatumomab (CD19xCD3) en deze bleek zeer effectief te zijn in de behandeling van acute leukemiepatiënten (3). Door de korte halfwaardetijd van Blinatumomab is continue intraveneuze toediening vereist. Neurologische klachten en cytokine-afgifte syndroom zijn bijwerkingen die met name gerelateerd zijn aan T-celactivatie.

CAR-T-cellen

Chimere antigeen receptor (CAR)-T-cellen zijn genetisch gemodificeerde T-cellen die een synthetische T-celreceptor bevatten. Deze receptor bestaat typisch uit (1) een single-chain variabel fragment van een antistof gericht tegen een tumorantigeen, (2) een transmembraan domein en (3) een CD3ζ signaalgereguleerder domein, dat zorgt voor activatie van de T-cellen. Tweede generatie CAR-T-cellen hebben tevens een extra intracellulair co-stimulator signaalgereguleerder domein, zoals CD28 of 4-1BB, waardoor de T-cellen een tweede signaal krijgen voor

Figuur 2. Rol van flowcytometrie bij de diagnostiek van acute leukemie patiënten die behandeld zijn met immuuntherapie. Rode cellen: tumorcellen met expressie van het doelantigeen; Oranje cellen: tumorcellen met verlies van het doelantigeen; Groene cellen: verschillende typen T-cellen.



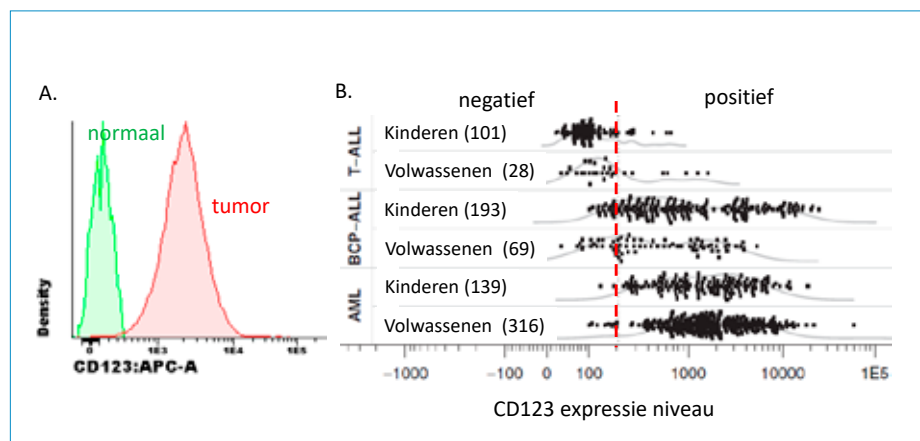
activatie. Verdere optimalisatie resulteerde in derde generatie CAR T-cellen, met twee tandem co-stimulatoire domeinen. Momenteel zijn ook vierde generatie CAR-T-cellen in ontwikkeling, waarbij naast de CAR ook een transgen voor cytokines (bijvoorbeeld IL12) of liganden (bijvoorbeeld CD40L, 4-1BBL) wordt getransfecteerd, waardoor de CAR-T-cellen beter kunnen overleven. Bij patiënten met acute leukemie worden de T-cellen uit het bloed geïsoleerd, vervolgens in speciale laboratoria getransfecteerd met de CAR en opgeschaald, waarna de CAR-T-cellen aan de patiënt worden teruggegeven. Verdere aanpassingen in CAR-T-celtherapieën betreffen onder andere het genereren van CAR-T-cellen met een aan/uitknop en het genereren van CAR-T-cellen die uniform toepasbaar zijn in alle patiënten (4).

Rol van flowcytometrie bij immuuntherapie

Flowcytometrie speelt op verschillende momenten een rol bij patiënten met een acute leukemie die behandeld zijn met immuuntherapie (Figuur 2).

Initiële diagnose/ inname studie: doelantigeen expressie

Om een immuuntherapie succesvol te maken, dient het doelantigeen uiteraard tot expressie te komen op de tumorcellen. Flowcytometrie is bij uitstek geschikt om dit vast te stellen, omdat per cel het expressieniveau kan worden bepaald. Het is hierbij cruciaal dat er robuuste en gestandaardiseerde methodes worden gebruikt, zodat expressieniveaus tussen laboratoria en in de loop der tijd betrouwbaar kunnen worden vastge-



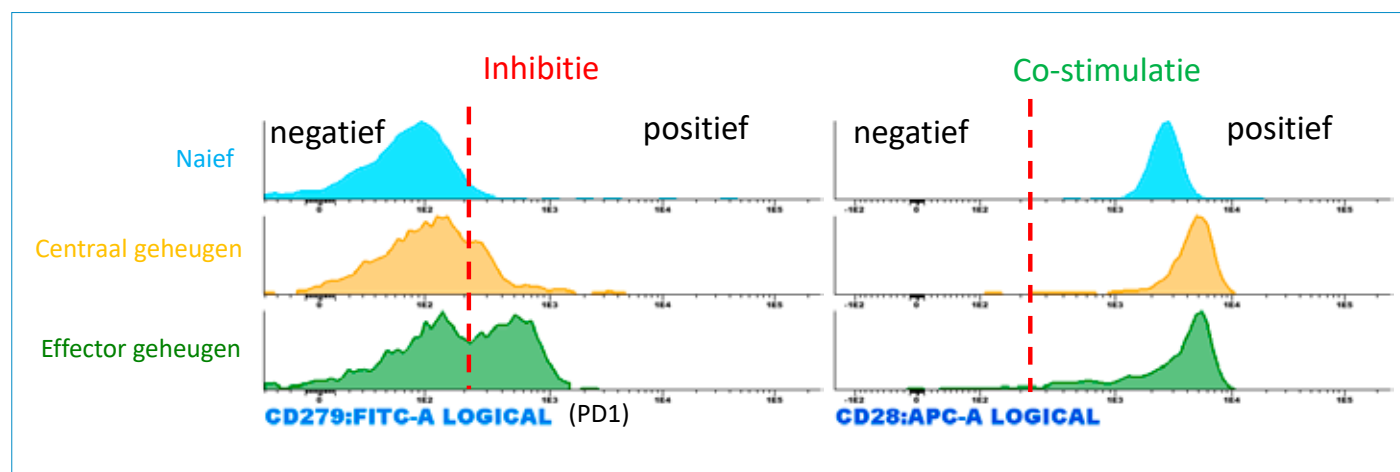
Figuur 3. Flowcytometrische analyse van de expressie van het doelantigeen op tumorcellen. A. Voorbeeld van een analyse, waarbij de normale B-cellen CD123 negatief zijn maar de tumorcellen CD123 positief zijn. B. CD123 expressie in verschillende typen acute leukemie (acute myeloïde leukemie (AML), B-celprecursor (BCP) acute lymfatische leukemie (ALL), en T-ALL), zoals vastgesteld middels de EuroFlow protocollen (6). De stippellijn geeft de grens aan tussen negativiteit en positiviteit voor CD123.

steld. Ook de manier waarop de data worden geïnterpreteerd dient te worden gestandaardiseerd. Binnen onder andere het internationale EuroFlow consortium zijn gestandaardiseerde assays ontwikkeld die dit soort analyses op brede schaal mogelijk maken (5). Een voorbeeld is te zien in Figuur 3, waarbij voor verschillende typen acute leukemie de expressie van het CD123 antigeen is bepaald. Het is evident dat patiënten met een AML veelal het CD123 antigeen tot expressie brengen, terwijl T-ALL patiënten veelal negatief zijn voor dit antigeen (6). Het dient te opgemerkt worden dat het aantal doelantigenen wat op een tumorcel aanwezig dient te zijn voor een goede effectiviteit kan verschillen per type therapie en per ziektebeeld. Zo spelen bij de toxine-geconjugeerde antistoffen ook processen zoals saturatie van de

aanwezige doelantigenen, internalisatie en activatie van het toxine, en efflux van het toxine uit de cel een belangrijke rol. Ook deze processen kunnen middels flowcytometrie in (gespecialiseerde) laboratoria gemeten worden (7-9).

Tijdens en na therapie: immuunmonitoring

Veel immuuntherapieën werken via het immuunsysteem van de patiënt. Voor een goede effectiviteit is een goede immuunrespons daarom een vereiste. Zeker bij de bi-specifieke antistoffen is een goede T-celrespons cruciaal, en deze respons is goed te meten met flowcytometrie. Zo kunnen absolute aantallen van T-, B- en NK-cellen eenvoudig worden vastgesteld. Daarnaast kunnen specifieke antistofpanels de T-cellen verder karakteriseren en



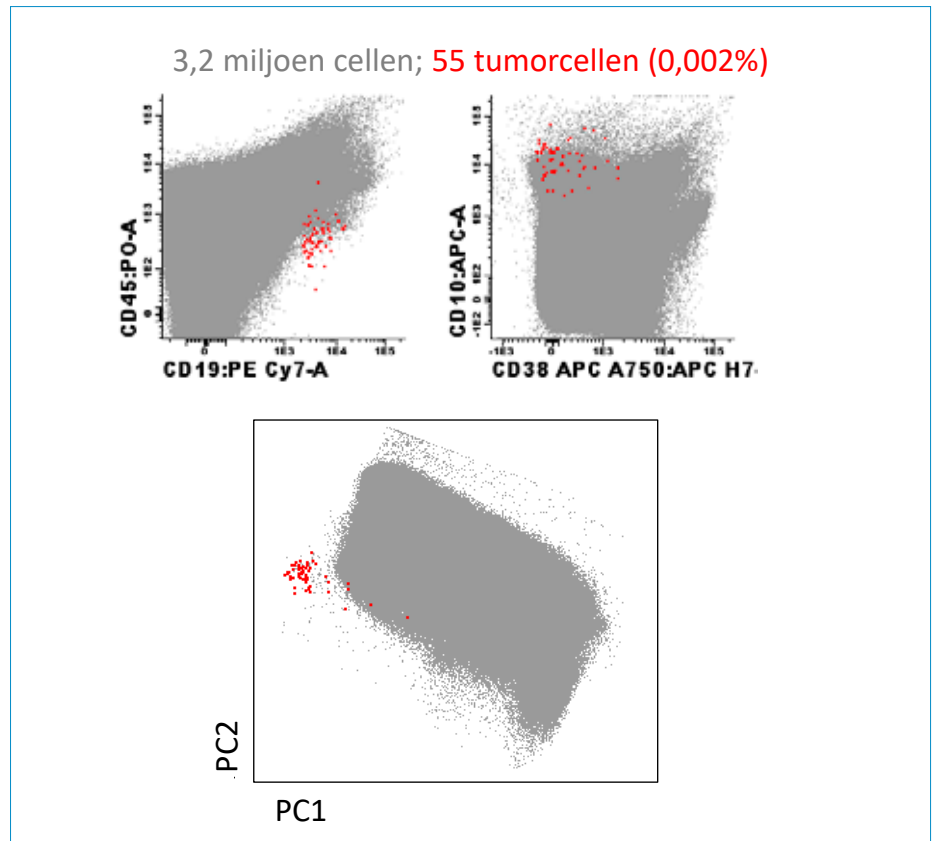
Figuur 4. Flowcytometrische analyse van het inhiberende PD1 (links) en stimulerende CD28 moleculen (rechts) op verschillende T-celsubsets. De stippellijn geeft de grens aan tussen negativiteit en positiviteit voor PD1 (links) en CD28 (rechts).

binnen zowel de CD4+ helper T-cellen als de CD8+ cytotoxische T-cellen onderscheid maken tussen naïeve, centraal geheugen, effector geheugen en CD45RA effector geheugen T-cellen. Het blijkt dat voor een effectieve werking van Blinatumomab met name expansie van de CD8+ effector geheugen T-cellen belangrijk is.

Het is niet alleen van belang welke cellen aanwezig zijn, maar ook in welke mate ze in staat zijn geactiveerd te worden. Hierbij spelen co-stimatoire (o.a. CD80/86-CD28, CD40-CD40L, TIM3-Galectin9, CD70-CD27) en inhiberende moleculen (o.a. CD80/86-CTLA4, PDL1-PD1) een belangrijke rol. De expressie van deze moleculen kan middels flowcytometrie worden bepaald op de verschillende T-celsubsets (Figuur 4). Het is de verwachting dat dit soort analyses in de nabije toekomst bij kunnen dragen aan het vroegtijdig identificeren van patiënten die al dan niet een goede response op immuuntherapie zullen hebben. Tenslotte kan flowcytometrie worden gebruikt om de reconstitutie van het immuunsysteem te evalueren. Omdat de meeste immuuntherapieën ook de normale cellen kunnen aanvallen, is herstel van het immuunsysteem na de behandeling noodzakelijk. Reconstitutie van bijvoorbeeld B-cellen in bloed kan met flowcytometrie gedetailleerd en nauwkeurig worden vastgesteld (10).

Tijdens en na therapie: minimale restziekte

Om de effectiviteit van de immuuntherapie te beoordelen kan tijdens en na therapie zogenaamde minimale restziekte (minimal residual disease; MRD) worden opgespoord, dat wil zeggen kleine hoeveelheden tumorcellen ver beneden de detectiegrens van de microscoop. De afgelopen decennia hebben laten zien dat MRD een zeer sterke en onafhankelijke prognostische factor is in patiënten met acute leukemie. Met flowcytometrie kunnen in relatief korte tijd grote aantallen cellen worden gemeten en daarmee kan een gevoelige MRD meting worden verricht. Hiervoor zijn twee zaken cruciaal. Ten eerste moeten de antistoffen die worden gebruikt in staat zijn om de tumorcellen te onderscheiden van alle aanwezige normale cellen. Ten tweede moeten er voldoende cellen worden gemeten om een gevoeligheid van minimaal 0,01%, bij voorkeur <0,001% te behalen. Dit betekent dat er minimaal 5 tot 10 miljoen



Figuur 5. Flowcytometrische MRD analyse in een patiënt met een B-celprecursor acute lymfatische leukemie. In de twee-dimensionale dotplots zijn de tumorcellen (rood) moeilijk te onderscheiden van alle aanwezige normale cellen (grijs), maar in een multidimensionale "principal component" (PC) analyse is het onderscheid veel duidelijker. Er zijn in totaal 3,2 miljoen cellen gemeten, 55 cellen bleken resterende tumorcellen (0,002%).

cellen moeten worden gemeten. Binnen EuroFlow zijn ook hiervoor assays ontwikkeld, waarbij specifiek en gevoelig MRD kan worden opgespoord (Figuur 5) (11). Hierbij worden ook nieuwe multidimensionale analysemethoden gebruikt en zijn semi-geautomatiseerde analyses, door gebruik te maken van databases met normale cellen, in ontwikkeling zodat ook deze analyses reproduceerbaar en robuust kunnen worden uitgevoerd (12,13). Speciale aandacht is nodig voor eventuele effecten van de therapeutische antistof op de diagnostische bepaling. Zo kunnen gebonden therapeutische antistoffen de binding van de diagnostische antistof blokkeren of verminderen, waardoor vals-negatieve resultaten kunnen worden verkregen. Bij patiënten behandeld met immuuntherapie is het daarnaast van belang om vast te stellen of de resterende of terugkerende tumorcellen het doelantigeen nog tot expressie brengen. Sommige tumorcellen zijn namelijk in staat om te ontsnappen aan de therapie door het doelantigeen niet langer tot expressie te brengen. Met behulp van flowcyto-

metrie kan direct worden vastgesteld welke andere doelantigenen nog wel tot expressie komen, zodat eventueel gericht een andere behandeling kan worden ingezet.

Conclusies

Immuuntherapie heeft de laatste jaren een enorme vlucht genomen met vaak spectaculaire resultaten. Voor een optimaal gebruik van deze nieuwe therapieën is zorgvuldige selectie en monitoring van patiënten cruciaal. Flowcytometrische analyses spelen hierin een belangrijke rol, omdat op single-cell niveau gedetailleerde informatie kan worden verkregen van een groot aantal cellen (miljoenen). De recente ontwikkeling van flowcytometers die >25 kleuren (zelfs >50?) kunnen meten, maken het in de nabije toekomst mogelijk om in één enkele buis met beperkt patiëntmateriaal een zeer gedetailleerde analyse te maken van tegelijkertijd resterende tumorcellen als ook een groot aantal typen immuuncellen, inclusief de aanwezigheid van co-stimatoire en inhiberende moleculen op deze cellen.

Gezien de enorme hoeveelheid data die zal worden gegenereerd zullen (semi)automatische analyses essentieel zijn.

Dankwoord

Met dank aan alle medewerkers van het Laboratorium Medische Immunologie, met name aan Maaike de Bie, Zara-Li van der Sande en Stijn de Jong voor het kritisch beoordelen van dit manuscript.

Literatuur

1. Rafei H, Kantarjian HM, Jabbour EJ. Targeted therapy paves the way for the cure of acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2020 Jan;188(2):207-223.
2. Knaus HA, Kanakry CG, Luznik L, Gojo I. Immunomodulatory Drugs: Immune Checkpoint Agents in Acute Leukemia. *Curr Drug Targets.* 2017;18(3):315-331.
3. Kaplan JB, Grischenko M, Giles FJ. Blinatumomab for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Invest New Drugs.* 2015 Dec;33(6):1271-9.
4. Jacoby E, Shahani SA, Shah NN. Updates on CAR T-cell therapy in B-cell malignancies. *Immunol Rev.* 2019 Jul;290(1):39-59.
5. van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, van der Velden VH, Flores-Montero J, Rawstron A, Asnafi V, Lécrovisse Q, Lucio P, Mejstrikova E, Szczepański T, Kalina T, de Tute R, Brüggemann M, Sedek L, Cullen M, Langerak AW, Mendonça A, Macintyre E, Martin-Ayuso M, Hrusak O, Vidriales MB, Orfao A; EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia.* 2012 Sep;26(9):1908-75.
6. Bras AE, de Haas V, van Stigt A, Jongen-Lavrencic M, Beverloo HB, te Marvelde JG, Zwaan CM, van Dongen JJM, Leusen JHW, van der Velden VHJ. CD123 expression levels in 846 acute leukemia patients based on standardized immunophenotyping. *Cytometry B Clin Cytom.* 2019 Mar;96(2):134-142.
7. van der Velden VH, te Marvelde JG, Hoogeveen PG, Bernstein ID, Houtsmuller AB, Berger MS, van Dongen JJ. Targeting of the CD33-calicheamicin immunoconjugate Mylotarg (CMA-676) in acute myeloid leukemia: in vivo and in vitro saturation and internalization by leukemic and normal myeloid cells. *Blood.* 2001 May 15;97(10):3197-204.
8. Walter RB, Gooley TA, van der Velden VH, Loken MR, van Dongen JJ, Flowers DA, Bernstein ID, Appelbaum FR. CD33 expression and P-glycoprotein-mediated drug efflux inversely correlate and predict clinical outcome in patients with acute myeloid leukemia treated with gemtuzumab ozogamicin monotherapy. *Blood.* 2007 May 15;109(10):4168-70.
9. de Vries JF, Zwaan CM, De Bie M, Voerman JS, den Boer ML, van Dongen JJ, van der Velden VH. The novel calicheamicin-conjugated CD22 antibody inotuzumab ozogamicin (CMC-544) effectively kills primary pediatric acute lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia.* 2012 Feb;26(2):255-64.
10. Theunissen PMJ, van den Branden A, van der Sluijs-Gelling A, De Haas V, Beishuizen A, van Dongen JJM, van der Velden VHJ. Understanding the reconstitution of the B-cell compartment in bone marrow and blood after treatment for B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2017 Jul;178(2):267-278.
11. Theunissen P, Mejstrikova E, Sedek L, van der Sluijs-Gelling AJ, Gaipa G, Bartels M, Sobral da Costa E, Kotrová M, Novakova M, Sonneveld E, Buracchi C, Bonaccorso P, Oliveira E, Te Marvelde JG, Szczepanski T, Lhermitte L, Hrusak O, Lécrovisse Q, Grigore GE, Froňková E, Trka J, Brüggemann M, Orfao A, van Dongen JJ, van der Velden VH; EuroFlow Consortium. Standardized flow cytometry for highly sensitive MRD measurements in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2017 Jan 19;129(3):347-357.
12. Lhermitte L, Mejstrikova E, van der Sluijs-Gelling AJ, Grigore GE, Sedek L, Bras AE, Gaipa G, Sobral da Costa E, Novakova M, Sonneveld E, Buracchi C, de Sá Bacelar T, Te Marvelde JG, Trinquand A, Asnafi V, Szczepanski T, Matarraz S, Lopez A, Vidriales B, Bulsa J, Hrusak O, Kalina T, Lécrovisse Q, Martin Ayuso M, Brüggemann M, Verde J, Fernandez P, Burgos L, Paiva B, Pedreira CE, van Dongen JJM, Orfao A, van der Velden VHJ. Automated database-guided expert-supervised orientation for immunophenotypic diagnosis and classification of acute leukemia. *Leukemia.* 2018 Apr;32(4):874-881.
13. Flores-Montero J, Grigore G, Fluxá R, Hernández J, Fernandez P, Almeida J, Muñoz N, Böttcher S, Sedek L, van der Velden V, Barrena S, Hernández A, Paiva B, Lécrovisse Q, Lima M, Santos AH, van Dongen JJM, Orfao A. EuroFlow Lymphoid Screening Tube (LST) data base for automated identification of blood lymphocyte subsets. *J Immunol Methods.* 2019 Dec;475:112662. ◀

Ontdek de energiezuinige
TSX koelkasten en vriezers
voor veilige opslag van bloed
medicijnen en vaccins
Kijk op polytemp.nl voor meer info

Part of your team!

Al 35 jaar uw betrokken leverancier
in de medische diagnostiek

POLYTEMP
SCIENTIFIC

Koelkasten | Vriezers | CO2 Incubatoren |
Flowkasten | Schudders | Onderhoud |

Het Nieuwe Labwerken na de Corona Crisis



Wat leven we toch in een bizarre tijd. De coronacrisis heeft ons werk- en privé leven momenteel behoorlijk op z'n kop gezet. Terwijl ik dit schrijf, realiseer ik me dat we er nog lang niet zijn. Er zullen weken, maar nog waarschijnlijker maanden nodig zijn om dit virus de baas te worden. Maar we hopen dat we eind van dit jaar terug kunnen kijken op deze tijd en tegen elkaar kunnen zeggen: "Dat was me toch wat, die Coronacrisis." Het is momenteel een heftige tijd voor velen van ons die een dierbare hebben verloren ten gevolge van deze ziekteverwekker. Een drukke tijd voor artsen, verpleegkundigen, analisten en ander zorgpersoneel, die aan het front werken bij de opvang, behandeling en verzorging van corona patiënten. Een moeilijke tijd voor mensen, die even geen werk hebben, omdat ze een beroep uitoefenen dat even niet meer mag. En, voor de leidinggevenden een enorme uitdaging om de personeelsplanning rond te krijgen en iedereen toch zoveel mogelijk aan het werk te houden.

Maar... het is ook een tijd waarbij er ineens geen files meer zijn op de Nederlandse snelwegen, er geen parkeerproblemen meer ontstaan op het werk, thuiswerken ineens mogelijk is, het werkoverleg via videobellen gaat. We zouden het haast vergeten, maar deze Coronacrisis heeft ook deuren geopend, waarvan men eerder niet had verwacht dat we daar een sleutel van hadden.

En dat is precies waar deze WHAPA bijeenkomst over gaat. Tijdens deze WHAPA bijeenkomst willen we met name de focus leggen op wat de Coronacrisis ons in positieve zin heeft opgeleverd voor de laboratoria waar wij in werken en welke creatieve ideeën er in deze tijd zijn ontstaan en welke we graag willen verankeren. Deze leidinggevendendag zal worden georganiseerd door de Werkgroep HoofdAnalisten Pathologie.

De eerste brainstormsessie hebben we half april al via een videobel sessie gedaan. We hopen dat we eind dit jaar weer samen mogen komen om creatieve ideeën uit te wisselen met de leidinggevenden van de verschillende laboratoria. Wil jij ook meedenken over het nieuwe werken na de Coronacrisis? Wat heeft de Coronacrisis jouw lab opgeleverd?

We hopen jullie graag te zien op dinsdag 8 december 2020 in het Meander MC in Amersfoort.

In verband met Covid-19 worden alle NVML-nascholingsactiviteiten aangepast volgens de richtlijnen van de overheid/RIVM. De maatregelen hiervoor worden uitgewerkt. Zo nodig ontvangt u hierover na inschrijving nader bericht.

Met vriendelijke groet, Paul Rombout, voorzitter Werkgroep Hoofdanalisten Pathologie ◀

Een traag werkende schildklier – Hashimoto thyreoïditis

Sharon Veenbergen¹, Willem A. Dik^{1,2,3} en Marco W.J. Schreurs¹

1 Laboratorium Medische Immunologie, Afdeling Immunologie, Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum, Rotterdam

2 Afdeling Interne Geneeskunde, sectie Klinische Immunologie, Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum, Rotterdam

3 Schildkliercentrum Rotterdam

Hashimoto thyreoïditis is een orgaan-specifieke auto-immuunziekte waarbij er sprake is van een chronische ontsteking van de schildklier. De ziekte is vernoemd naar Hakaru Hashimoto (1881-1934), een arts uit Japan die in 1912 voor het eerst vier vrouwelijke patiënten beschreef met een zwelling van de schildklier (struma), welke histologisch gekenmerkt werd door een lymfocytair infiltraat. Hij publiceerde zijn bevindingen onder de naam "struma lymphomatosa". In 1940 werd de ziekte officieel naar hem vernoemd (1).

Achtergrond: De schildklier en een goede hormoonhuishouding

De schildklier, of het thyroïd, behoort tot het endocriene ofwel hormonale systeem en reguleert het energieverbruik en de metabole status van vrijwel elk weefsel in het lichaam. Het is een vlindervormig orgaan dat zich, tegen de luchtpijp, aan de voorzijde van de hals bevindt. Het weefsel van de schildklier is opgebouwd uit follikels bestaande uit folliculaire cellen met in het lumen een viskeuze vloeistof, het zogenoemde colloïd. Tussen de follikels van de schildklier liggen de parafolliculaire cellen, ook wel C-cellen genoemd (Figuur 1a). Thyroxine (T4) en tri-jodothyronine (T3) zijn de belangrijkste hormonen geproduceerd door de schildklier. De folliculaire cellen starten dit proces met de productie van het precursoreiwit thyroglobuline (Tg) en scheiden dit uit in het colloïd. Het Tg wordt vervolgens gejodeerd onder invloed van het enzym thyroid peroxidase (TPO) en hieruit kunnen daarna T3 en T4 worden vrijgemaakt. Het jodium, nodig voor de jodering van Tg, is afkomstig uit het dieet en wordt door de schildklier opgenomen. Het T4 wordt in eerste instantie als een inactief hormoon geproduceerd en krijgt pas biologische activiteit als het in de weefsels wordt omgezet in T3. Het overgrote deel van T3 en T4 in de circulatie is gebonden aan transporteiwitten. Echter wordt het biologische effect bepaald door de niet-gebonden vrije fractie. De productie van T3 en T4 staat onder directe controle van respectievelijk het hormoon TRH ('thyrotropin-releasing

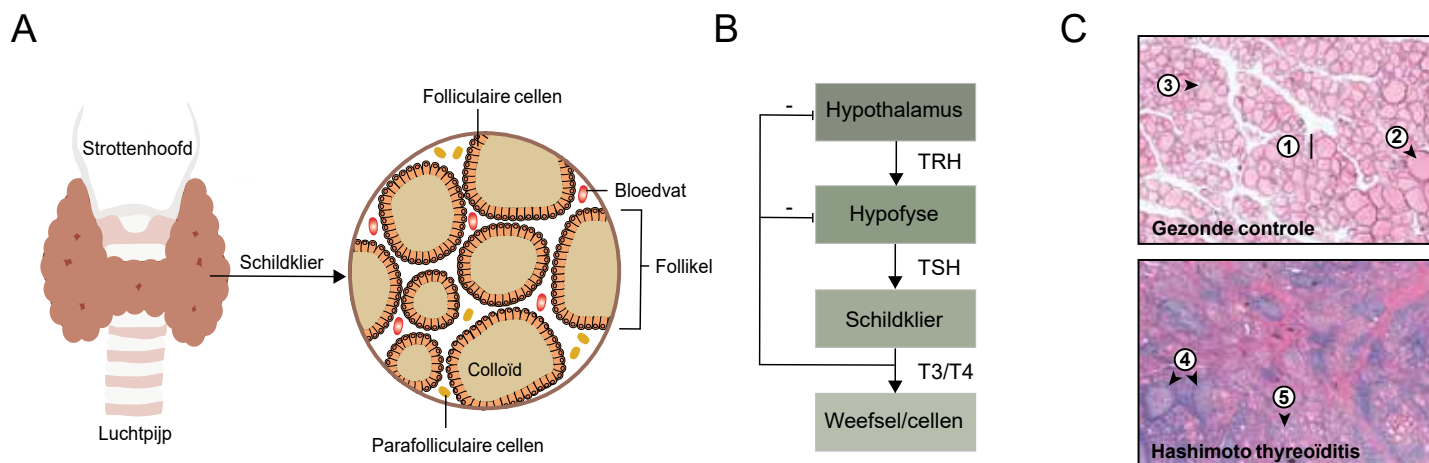
hormone') uit de hypothalamus en TSH ('thyroid-stimulating hormone') uit de hypofyse. Tegelijkertijd is er sprake van een negatieve terugkoppeling door T3 en T4 op de hypothalamus en hypofyse waardoor de productie van TRH en het TSH strikt gereguleerd kan worden. Er is dus sprake van een gebalanceerd hormonaal evenwicht (Figuur 1b) (2).

De klinische aspecten van Hashimoto thyreoïditis

Hashimoto thyreoïditis is de meest voorkomende oorzaak van primaire hypothyreoïdie, dat wil zeggen een aandoening waarbij er sprake is van een traag werkende schildklier. Bij hypothyreoïdie wordt er te weinig van de hormonen T3/T4 uitgescheiden door de schildklier. Ter compensatie zal er verhoogde TSH-productie en stimulatie van de schildklier optreden waardoor deze kan opzwellen, een symptoom dat struma ofwel goiter wordt genoemd. Daarnaast kunnen er bij hypothyreoïdie een scala aan systemische symptomen optreden, veelal gerelateerd aan de belangrijke rol van de schildklier bij de regulatie van energiegebruik en metabolisme. De meest voorkomende klinische manifestaties zijn traagheid, vermoeidheid, droge en bleke huid, hartritme-stoornis, koude intolerantie, gelaats-/ooglidoedeem, constipatie, bloedar-moede en concentratieproblemen. In het begin kunnen de symptomen subtiel en aspecifiek zijn en voor een langere periode onopgemerkt blijven. Hierdoor kan het soms lang duren voordat de diagnose wordt gesteld (3, 4).

Epidemiologie en etiologie

Van de orgaan-specifieke auto-immuunziekten zijn de endocriene aandoeningen, vooral van de schildklier, het meest voorkomend. De prevalentie van hypothyreoïdie als gevolg van auto-immuun thyreoïditis wordt geschat op 0,3-0,4%. De prevalentie is bij vrouwen groter dan bij mannen en deze neemt toe met de leeftijd (5, 6). De schildkliercellen zijn soms ook licht beschadigd zonder dat een klinische hypothyreoïdie waarneembaar is. Dit komt voor bij naar schatting 5-15% van de Nederlandse bevolking. Op jaarbasis krijgt 2-3% van deze patiënten ernstiger, destructiever vormen van schildklierontsteking zoals gezien wordt bij Hashimoto thyreoïditis (7). Hoewel de etiologie van Hashimoto thyreoïditis nog niet volledig wordt begrepen, is wel duidelijk dat genetische predispositie en omgevingsfactoren (jodium, infecties, chemicaliën en medicijnen) een belangrijke rol spelen. Bepaalde allelen van het HLA-locus, waaronder HLA-DR3, -DR4 en -DR5 in de Kaukasische populatie, zijn geassocieerd met Hashimoto thyreoïditis. Samenhang tussen genetisch polymorfismen en de ziekte zijn ook beschreven voor 'cytotoxic T lymphocyte antigen-4' (CTLA4), 'protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 22' (PTPN22) en 'tumor necrosis factor alpha' (TNF α). Allen betrokken bij de regulatie van een immuunrespons, zowel in negatieve (tolerantie) als positieve (immunitet) zin (3, 8).



Figuur 1. (A) De schildklier. (B) Schematische weergave van de hormoonhuishouding van de schildklier. (C) Histologie van een gezonde schildklier en een schildklier van een patiënt met Hashimoto thyreoïditis (2x vergroting). De nummers representeren het volgende: (1) Schildklierfollikel, (2) Het colloid, (3) Folliculaire cellen, (4) Gebieden met ophopingen van lymfoïde cellen, (5) Destructie van schildklierfollikels. De afbeeldingen zijn afkomstig van de afdeling Pathologie van het Erasmus MC Rotterdam.

Wat voor pathologisch beeld geeft Hashimoto thyreoïditis?

Bij Hashimoto thyreoïditis zijn ophopingen van lymfoïde cellen in de schildklier zichtbaar. Deze hebben de architectuur van lymfoïd weefsel ('thyroid-associated lymphoid tissue', TALT) met onderscheidbare T-celgebieden en B-celgebieden. CD4⁺ T-helper cellen zijn in grote aantallen aanwezig en scheiden o.a. de inflammatoire cytokinen TNF α en IFN γ uit. Professionele antigeen-presenterende cellen dragen bij aan de T-cel activatie, als wel de productie van pro-inflammatoire cytokinen. Onder invloed van IFN γ kunnen de folliculaire cellen in de schildklier ook MHC klasse II moleculen tot expressie brengen en als antigeen-presenterende cellen fungeren wat vervolgens voor een amplificatie van de immuunrespons zorgt. Daarnaast spelen de uitgescheiden cytokinen samen met cytotoxische CD8⁺ T-cellen een rol bij de destructie van de schildkliercellen. De B-cellen/plasma cellen in de TALT-gebieden zijn een bron van autoantistoffen, te weten anti-TPO en anti-Tg welke detecteerbaar zijn in het serum van patiënten. De autoantistoffen kunnen samen met NK cellen eveneens een bijdrage leveren aan de destructie van de schildkliercellen door middel van antilichaam-afhankelijke celgemedieerde cytotoxiciteit (Figuur 2). Bij Hashimoto thyreoïditis kan er significante schildklierfollikel destructie en hergroei optreden. De hergroei wordt bepaald door een stijging van de TSH-spiegel in het serum als compensatiemechanisme. Dit kan resulteren in de eerdergenoemde

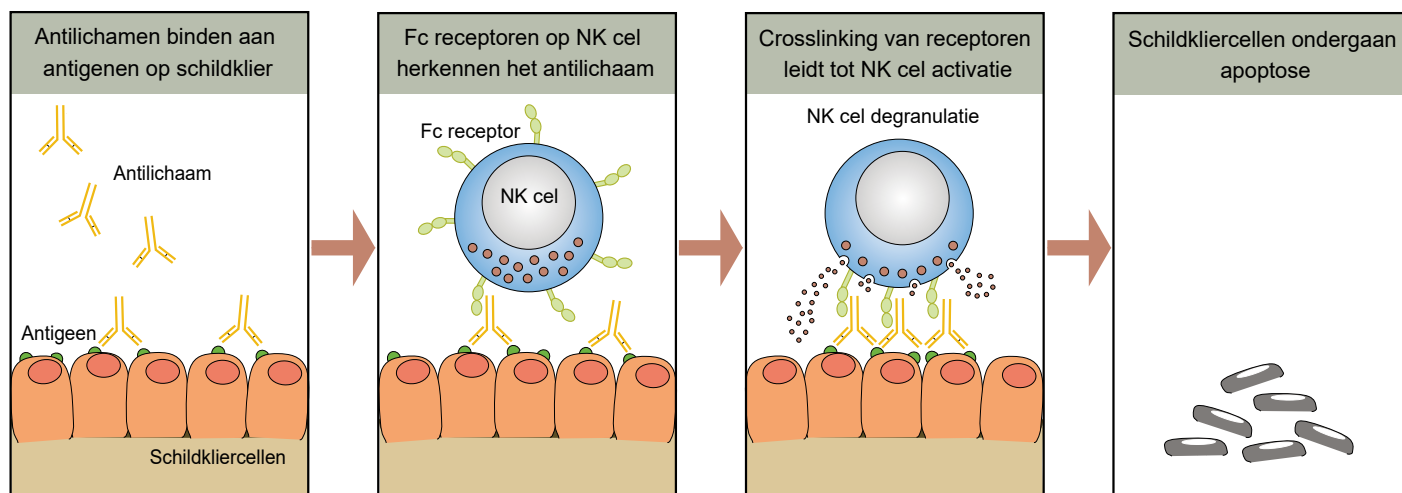
struma bestaande uit lymfoïd weefsel en regenererende schildklierfollikels (Figuur 1c) (7, 9).

Welke laboratoriumdiagnostiek wordt er uitgevoerd?

De diagnose wordt gesteld op grond van het klinische beeld, de bepaling van het TSH, vrij T4 en weefselspecifieke autoantistoffen, en eventueel een echografie. Aan de hand van het gehalte vrije, niet-gebonden T4 en TSH kan de functie van de schildklier getest worden. Primaire hypothyroïdie kenmerkt zich door een verhoogd TSH-gehalte en verlaagd vrij T4 gehalte in serum of plasma. Voor de bepaling van TSH wordt een niet-competitieve immunoassay gebruikt. In deze immunoassay gaat het TSH een binding aan met antistofen gecoat op een plastic oppervlak. Het detectie-antistof gelabeld met een lichtgevend reagens kan vervolgens aan TSH binden, waardoor een zogenaamd 'sandwich-complex' wordt gevormd. De signaalsterkte van het detectie-antistof is een directe afspiegeling van de TSH-concentratie. De bepaling van vrij T4 gebeurt via een competitieve immunoassay, waarbij het vrij T4 in het plasma of serum een competitie aangaat met chemoluminescerend vrij T4 voor binding aan een specifieke antistof gecoat op een plastic oppervlak. Hoe hoger het vrij T4 gehalte in het plasma of serum, des te minder chemoluminescerend vrij T4 kan binden. Dit betekent dat een lager signaal correleert met een hogere concentratie vrij T4 (10-12).

Bij 90-95% van de patiënten met Hashimoto thyreoïditis komen auto-antistoffen tegen TPO voor in het serum. Daarnaast zijn antistoffen tegen Tg detecteerbaar in 60%-80% van de gevallen. De aanwezigheid van hoge titer autoantistoffen tegen TPO of Tg bij patiënten met auto-immuunziekten van andere endocriene organen heeft een hoog voorspellende waarde voor het ontwikkelen van schildklier auto-immu-niteit. Opgemerkt moet worden dat bij 5-15% van gezonde volwassenen deze antistoffen ook kunnen worden aangetoond, echter in lage titer (7). Voor de bepaling kan er gebruik worden gemaakt van een geautomatiseerd fluor-enzym-immunoassay of chemoluminescentie-enzym immunoassay. Antistoffen tegen TPO of Tg aanwezig in het serum van de patiënt kunnen binden aan humaan recombinant TPO of Tg gecoat op een plastic oppervlak. Vervolgens worden enzym-gelabelde antistoffen tegen humane IgG-antistoffen toegevoegd om een 'sandwich-complex' te vormen. Het enzym kan vervolgens een substraat omzetten in een fluorescerend of chemoluminescent signaal, waarbij de sterkte van het signaal direct correleert met de hoeveelheid autoantistof aanwezig in het bloed van de patiënt (10, 11).

Ook kunnen in sommige patiënten autoantistoffen worden aangetroffen tegen de TSH-receptor (TSH-R), het eiwit op de schildkliercellen waar het TSH uit de hypofyse zich aan hecht. De TSH-R antistoffen gaan een competitie aan met TSH voor binding aan de receptor,



Figuur 2. Antilichaam-afhankelijke celgemedeerde cytotoxiciteit. De autoantistoffen, ook antilichamen genoemd, herkennen eiwitten op de schildkliercellen, de zogeheten antigenen. Wanneer de antilichamen gebonden zijn aan het antigeen, worden de antistoffen op de schildkliercellen herkend door Fc receptoren op de NK cellen. Crosslinking van een aantal Fc receptoren resulteert in activatie en degranulatie van de NK cellen. Hierbij komen cytotoxische eiwitten, zoals perforine en granzymes, vrij uit de granules van de NK cellen, welke vervolgens apoptose, het proces van geprogrammeerde celdood, van de schildkliercellen kunnen veroorzaken.

waarbij ze blokkerend of stimulerend kunnen werken. De blokkerende TSH-R antistoffen komen vaak voor bij atrofische thyreoïditis, een aandoening van hypothyroïdie waarbij er in plaats van opzwellen, een verschrompeling van de schildklier optreedt. Bij de stimulerende TSH-R antistoffen kan er een struma en hyperthyroïdie ontstaan, een fenomeen wat voornamelijk gezien wordt bij de ziekte van Graves al dan niet in aanwezigheid van Graves orbitopathie. Het is beschreven dat bij Hashimoto thyreoïditis zowel blokkerende als stimulerende TSH-R antistoffen kunnen voorkomen. Deze antistoffen kunnen met verschillende methoden worden bepaald. Net als bij vrij T4, kunnen TSH-R antistoffen in het plasma of serum gemeten worden via een competitieve immunoassay. Hierbij worden de antistoffen aangetoond die binden aan recombinant TSH-R, echter kan er met deze methode geen onderscheid gemaakt worden tussen blokkerende en stimulerende TSH-R antistoffen. Dit is wel mogelijk met behulp van een bioassay. Hierbij wordt gebruik gemaakt van genetisch gemodificeerde hamstercellen (CHO cellen) die de humane TSH-R en een luciferase reporter systeem tot expressie brengen. De hoogte van het luciferase signaal weerspiegelt hierbij de mate van TSH-R activatie na binding van de TSH-R antistoffen. Recent is er ook een nieuwe geautomatiseerde immunoassay ontwikkeld waarbij er gebruik wordt gemaakt van een chimere humane TSH-R. Dit zogeheten IMMULITE chemolumines-

centie immunoassay systeem kenmerkt zich door gebruik te maken van een recombinant humaan TSH-R waarin de blokkerende epitopen vervangen zijn. Hierdoor kunnen in theorie alleen de stimulerende TSH-R antistoffen binden en gedetecteerd worden (4, 10, 13, 14).

De behandeling

De behandeling van Hashimoto thyreoïditis bestaat uit levenslange schildklierhormoon substitutietherapie met synthetisch levothyroxine (L-T4). Het doel van de behandeling is dat het TSH en vrij T4 gehalte genormaliseerd wordt en dat de patiënt grotendeels klachtenvrij is (3, 9). Genezing is helaas niet mogelijk.

En dan zijn er nog zeldzame gevallen...

Tenslotte kan Hashimoto thyreoïditis samengaan met andere aandoeningen van het lichaam. Veelal betreft het een andere (orgaan-specifieke) auto-immuunziekte zoals type 1-diabetes, atrofische gastritis of coeliakie. In zeldzame gevallen komt de ziekte voor in combinatie met meerdere auto-immuunziekten, zoals type 1-diabetes, bijniertinsufficiëntie en mucocutane candidiasis. Men spreekt dan van auto-immuun polyglandulair syndroom (APGS) (7). Ook kan in zeer zeldzame gevallen de schildklier auto-immuniteit zich uiten samen met neurologische en psychiatrische symptomen. Deze Hashimoto-encefalopathie is een minder bekende aandoening die zich kenmerkt door therapieresistente epilepsie met

bewustzijnsdalingen en hallucinaties, als ook verwardheidstoestanden en coördinatiestoornissen (15).

Over de auteurs:

Dr. Sharon Veenbergen is Laboratoriumspecialist Medische Immunologie in opleiding bij het Erasmus MC te Rotterdam. Voorheen was zij wetenschappelijk onderzoeker met als aandachtsgebied immuunregulatie bij auto-immuunziekten als reumatoïde artritis en inflammatoire darmziekten.

Dr. Willem A. Dik is Laboratoriumspecialist Medische Immunologie bij het Erasmus MC te Rotterdam. Zijn voornaamste aandachtsgebieden zijn (auto-) inflammatoire aandoeningen, immuun-deficiënties en immuundisregulatie syndromen.

Dr. Marco W.J. Schreurs is Laboratoriumspecialist Medische Immunologie bij het Erasmus MC te Rotterdam. Zijn voornaamste aandachtsgebieden zijn auto-immuunziekten en allergische aandoeningen.

Literatuur

1. J. van Gijn en J.P. Gijssels. Hashimoto en de schildklier. Ned. Tijdschr. Geneesk. 2011; 155:A2248.
2. J. Bowers, J. Terrien, M.S. Clerget-Froidevaux, J.D. Gothie, M.P. Rozing, R.G.J. Westendorp, D. van Heemst, B.A. Demeneix. Thyroid Hormone Signaling and Homeostasis During Aging. Endocrine Reviews 2013; 34:556–589.
3. T.A. Fleisher, W.T. Shearer, H.W.

- Schroeder Jr, A.J. Frew, C.M. Weyand. *Clinical Immunology: Principles and Practice*. Elsevier, 5e druk. 2019.
4. Y. Shoenfeld, R. Cervera, M.E. Gershwin. *Diagnostic Criteria in Autoimmune Diseases*. Humana Press, 1e druk. 2008
 5. J.G. Hollowell, N.W. Staehling, W.D. Flanders, W.H. Hannon, E.W. Gunter, C.A. Spencer, L.E. Braverman. Serum TSH, T4, and Thyroid Antibodies in the United States Population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 87:489–499.
 6. E.H. Hoogendoorn, A.R. Hermus, F. de Vegt, H.A. Ross, A.L.M. Verbeek, L.A.L.M. Kiemeney, D.W. Swinkels, F.C.G.J. Sweep, M. den Heijer. Thyroid Function and Prevalence of Anti-Thyroperoxidase Antibodies in a Population with Borderline Sufficient Iodine Intake: Influences of Age and Sex. *Clinical Chemistry* 2006; 52:1 104–111.
 7. M.R. Batstra en H.A. Drexhage. Auto-immuunziekten van endocriene organen. *Ned. Tijdschr. Klin. Chem. Labgeneesk.* 2006; 31: 275-281.
 8. K. Zaletel and S. Gaberscek. Hashimoto's Thyroiditis: From Genes to the Disease. *Current Genomics* 2011; 12:576-588.
 9. F. Ragusa, P. Fallahi, G. Elia, D. Gonnella, S.R. Paparo, C. Giusti, L.P. Churilov, S.M. Ferrari, A. Antonelli. Hashimotos' thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2019; 33:101367.
 10. Y. Shoenfeld, P.L. Meroni, M.E. Gershwin. *Autoantibodies*. Elsevier, 3e druk. 2014.
 11. H. Hooijkaas, K. Mohrmann, L.C. Smeets, J.H.M. Souverijn, G.H.M. Tax. *Handboek medische laboratoriumdiagnostiek*. Prelum uitgevers, 2e druk. 2013.
 12. L.S.M. Boesten, M.P. Brugts, A.P. van Rossum. Schilddiagnostiek: discrepantie FT4 en TSH. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 2012; 156: A4167V
 13. G.J. Kahaly, T. Diana, J. Glang, M. Kanitz, S. Pitz, J. König. Thyroid Stimulating Antibodies Are Highly Prevalent in Hashimoto's Thyroiditis and Associated Orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101:1998-2004
 14. T. Diana, C. Wüster, P.D. Olivo, A. Unterrainer, J. König, M. Kanitz, A. Bossowski, B. Decallonne, G.J. Kahaly. Performance and Specificity of 6 Immunoassays for TSH Receptor Antibodies: A Multicenter Study. *Eur Thyroid J.* 2017; 6:243-249.
 15. H. Geerts, P. Emmery, K. Spaas, C. Klockaerts, M. Danckaerts. Hashimoto-encefalopathie als verklaring voor psychotische symptomen bij een adolescent. *Tijdschrift voor psychiatrie.* 2018; 60:120-123. ◀



FEEL CONFIDENT IN YOUR RESULTS

bio-rad.bz/more

Check your instrument's capability to detect pre-analytical HIL interferences with Liquicheck Serum Indices

Gain greater confidence in reporting patient test results by monitoring for HIL interferences.

Monitoring your samples' integrity before analyzing them is an important step in achieving reliable results. Liquicheck Serum Indices is a quality indicator intended for use as part of laboratory interference testing to monitor an instrument's ability to detect haemolysed, icteric and or lipemic samples.

How will Liquicheck Serum Indices help you to be confident? Visit bio-rad.bz/more

BIO-RAD

Genezing van hiv:

is het mogelijk en waar staan we nu?

Jade Jansen[†], Shirley Man[†], Stefanie Kroeze, Neeltje A. Kootstra, Carla M. S. Ribeiro, Teunis B. H. Geijtenbeek en Neeltje A. Kootstra

[†] Deze auteurs hebben evenveel bijgedragen aan dit artikel

Afdeling Experimentele Immunologie, Amsterdam Infection and Immunity Institute, Amsterdam UMC locatie AMC, Amsterdam, Nederland

COVID-19 houdt momenteel eenieder in haar greep dankzij de wereldwijde verspreiding van het coronavirus SARS-CoV-2. Echter is dit niet de eerste virusinfectie die zich wist uit te breiden op globale schaal. Begin jaren 80 werd de wereld ook al opgeschud door een pandemie: aids. In eerste instantie werd gedacht dat de ziekte alleen door seks overdraagbaar was, maar al snel bleek dat vervuilde naalden en donorbloed ook hiv, de ziekteverwekker van aids, konden overbrengen. Miljoenen mensen raakten geïnfecteerd en stierven aan de ziekte. Initiële onderzoeken naar hiv-medicatie mochten niet baten omdat bleek dat het virus snel muteerde

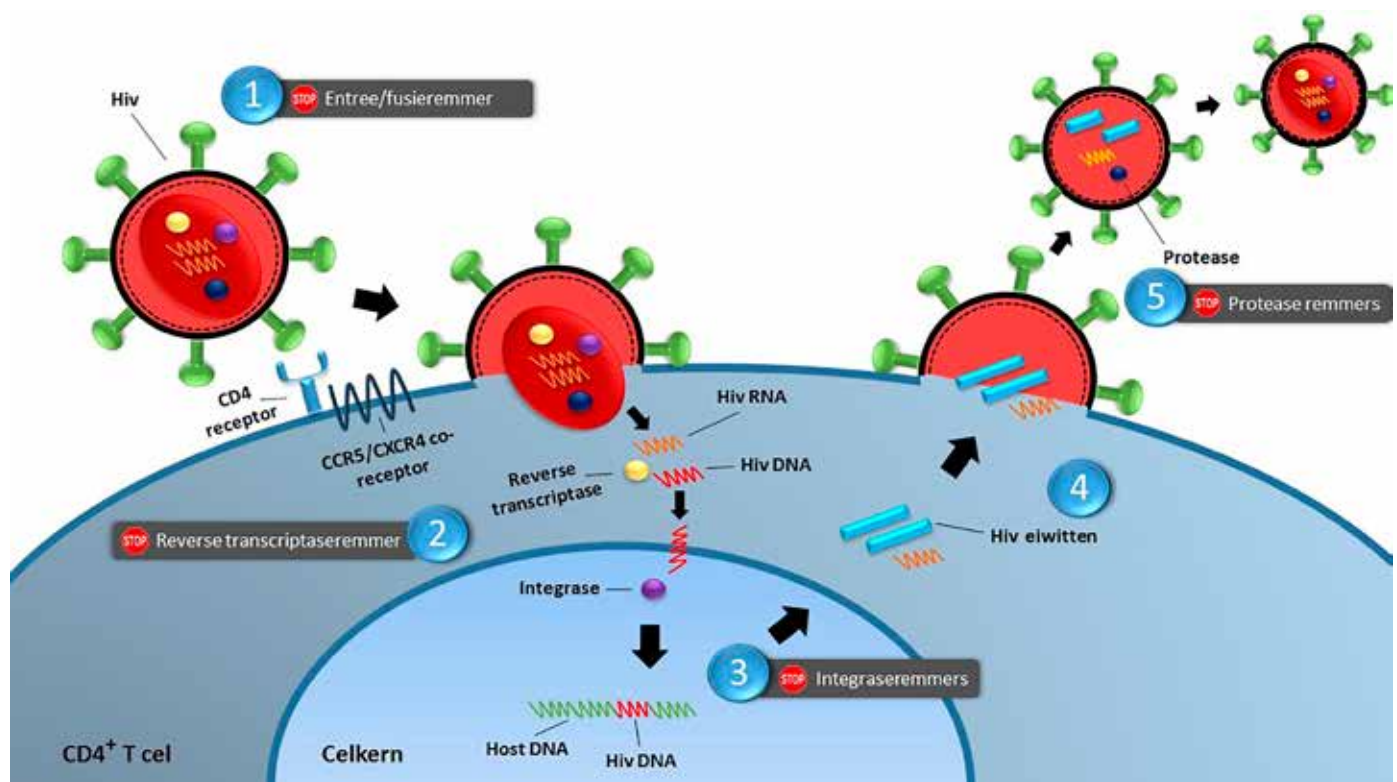
en resistentie kon ontwikkelen. In 1996 was er echter een doorbraak in hiv/aids onderzoek: een combinatietherapie met verschillende medicijnen die het virus wist te onderdrukken kwam beschikbaar. De medicijnen moeten echter wel levenslang elke dag worden ingenomen, komen met bijwerkingen en genezen mensen met hiv niet. Daarbij zijn deze medicijnen niet altijd beschikbaar in ontwikkelingslanden waar vele mensen nog steeds sterven aan aids. In de laatste jaren zijn er grote stappen gezet in het begrijpen van hiv, en daarnaast heeft een ingrijpende therapie zelfs al twee mensen genezen. Huidig onderzoek richt zich daarom meer op de genezing

van hiv. In dit artikel zijn de ontwikkelingen van deze onderzoeken en de toekomstige haken en ogen beschreven.

Hiv en reservoir-vorming

Hiv en de behandeling

Ruim 35 jaar geleden is het humane immunodeficiëntie virus (hiv) ontdekt als de veroorzaker van het 'Acquired Immune Deficiency Syndrome' (aids). Om cellen te infecteren maakt hiv gebruik van het CD4 eiwit, een receptor die voorkomt op veel cellen van het immuunsysteem. De meest voorkomende immuuncel met een CD4 eiwit is de CD4-positieve (CD4+) T-cel, die noodzakelijk is voor efficiënte afweer-



Figuur 1. Replicatiecyclus van het virus en de cART therapieën die ingrijpen op de verschillende replicatie stappen. Stap 1: Binding en fusie van hiv aan een CD4 receptor en co-receptor. Stap 2: Reverse-transcriptase zet viraal RNA om in DNA. Stap 3: Integrase integreert het virale DNA in het genoom van de gastheer cel. Stap 4: Geproduceerde hiv eiwitten en hiv RNA vormen een non-infectieus virusdeeltje. Stap 5: Protease knipt de hiv eiwitten waardoor een infectieus hiv virus ontstaat.

reacties. Het verlies van deze CD4+T-cellen door hiv-infectie verzwakt het immuunsysteem dusdanig, wat uiteindelijk kan leiden tot aids waarbij infecties, waarvan men normaal niet of nauwelijks ziek wordt, levensbedreigend zijn.

Infectie van een cel met hiv gaat als volgt (figuur 1): het virus bindt aan de CD4 receptor en een co-receptor op het celoppervlak, waarna het virus met de cel fuseert. In de cel wordt het virus ontmanteld en komen het virale RNA en de virale eiwitten vrij. Het virale eiwit reverse-transcriptase zet het virale RNA om in DNA, waarna het DNA door het virale eiwit integrase geïntegreerd wordt in het genoom van de cel. Nadat het virus is geïntegreerd, gebruikt hiv de gastheercel als een fabriek om nieuwe virusdeeltjes te produceren. Deze virusdeeltjes bevatten het virale RNA en de virale eiwitten. De virusdeeltjes zijn in eerste instantie niet infectieus, maar het eiwit protease is in staat de virale eiwitten dusdanig te knippen waardoor een infectieus virus ontstaat (1).

Combinatie antiretrovirale therapie (cART) bestaat uit een combinatie van hiv-remmers die ingrijpen op verschillende essentiële stappen van de hiv replicatiecyclus, waardoor virusreproductie geremd wordt en de progressie naar aids wordt voorkomen (1,2) (figuur 1):

- entree/fusie-remmers: blokkeren de binding van het virus aan CD4+T-cellen;
- reverse-transcriptaseremmers: voorkomen de omzetting van viraal RNA naar DNA, zodat het virus niet meer in het genoom van de gastheercel kan worden ingebouwd;
- integraseremmers: voorkomen dat viraal DNA door het enzym integrase in het genoom van de gastheer wordt ingebouwd;
- proteaseremmers: voorkomen dat nieuwe infectieuze virusdeeltjes zich kunnen vormen.

Hiv maakt veel fouten bij het kopiëren van het virale RNA naar DNA, wat erg kenmerkend is voor dit virus. Door deze vele mutaties wordt het virus snel resistent voor een enkele hiv-remmer. Het gebruik van meerdere middelen tegelijkertijd zoals bij cART verlaagt de kans op resistentie en ontsnapping van het virus. Doordat cART hiv-replicatie remt worden hiv-deeltjes tot een ondetecteerbaar laag niveau gebracht, waardoor het virus

niet meer overgedragen kan worden naar andere mensen.

cART geneest een hiv-infectie niet maar remt de virusproductie, waardoor de afbraak van het immuunsysteem wordt gestopt. Hiv blijft echter in het genoom van de cel zitten; virusproductie komt weer op gang zodra er gestopt wordt met cART. Hiv-geïnfekteerde individuen (people living with HIV; PLWH) blijven dus hun hele leven afhankelijk van medicatie om het virus te onderdrukken. Ondanks succesvolle behandeling met cART zorgt de chronische hiv-infectie wel voor schade aan het immuunsysteem. Hiernaast kan cART bijwerkingen geven, waaronder misselijkheid en vermoeidheid, maar ook ernstige complicaties zoals nier- en leverschade, verhoogde cholesterolwaarden en aanhoudende stemmingswisselingen (1). Tevens is er bij PLWH door chronische hiv-infectie sprake van een verhoogd risico op comorbiditeit, zoals hart- en vaatziekten, botziekten en neurologische aandoeningen (3). Ondanks de aanzienlijk gedaalde kosten en de betere beschikbaarheid van cART in ontwikkelingslanden, heeft globaal gezien slechts 62% van PLWH toegang tot de levensreddende medicijnen. Ook de kosten die gepaard gaan met het leveren van deze medicijnen zet een enorme financiële druk op wereldwijde hulporganisaties en zorgsectoren. Tot slot is er nog altijd sprake van een wereldwijde stigmatisering rondom hiv, waardoor PLWH te kampen hebben met discriminatie en uitsluiting (4,5). Het vinden van een genezing van hiv is om al deze redenen essentieel.

Struikelblok in de genezing: het virale reservoir

De grootste belemmering in het vinden van een genezing is het bestaan van het hiv reservoir. Dit zijn cellen die een 'slapende' oftewel een latente kopie van het virus bevatten. Als het virus eenmaal geïntegreerd is in het genoom van de cel, blijft deze cel voor altijd geïnfecteerd tot deze sterft. Hiv infecteert naast de CD4+ T-cellen ook andere witte bloedcellen van het immuunsysteem, zoals monocyt, (weefsel-) macrofagen en dendritische cellen. Hiervan is gevonden dat deze tevens behoren tot het cellulair hiv reservoir. Dit reservoir beperkt zich niet alleen tot het bloed, maar bevindt zich ook in andere anatomische compartimenten, zoals de lymfeklieren, het darmstel-

sel en het centrale zenuwstelsel (6). Deze lastig te bereiken reservoirs en de wijde verspreiding ervan in het lichaam bemoeilijken de opsporing van de latente geïnfecteerde cellen (figuur 2). Doordat er geen actieve hiv-replicatie plaatsvindt, worden deze cellen tevens onvoldoende herkend door het immuunsysteem en daardoor niet opgeruimd. Hiv latentie wordt op verschillende niveaus gereguleerd en de complexe mechanismen erachter worden nog volop onderzocht (6). Meer kennis over deze onderliggende mechanismen is nodig voor hiv genezing, aangezien deze bijdragen aan de complexiteit van het virale reservoir.

Hiv genezing, verschillende aanpakken

Bewijs van volledige genezing: de Berlin en London patiënt

Voor het genezen van een hiv-infectie worden twee verschillende geneeswijzen onderzocht. De eerste vorm wordt een steriliserende genezing genoemd en is erop gericht om hiv volledig uit het lichaam te verwijderen. Bij PLWH betekent dit dat alle cellen die hiv bevatten verwijderd zouden moeten worden (2). De grootste belemmering voor een steriliserende behandeling is het latente reservoir wat zich overal in het lichaam kan bevinden en tot nu toe is er geen methode om het reservoir te herkennen. In 2007 was er echter een wereldwijde doorbraak toen de eerste patiënt volledig genezen bleek te zijn van hiv.

Tot dusver zijn wereldwijd slechts twee mensen genezen van hiv. De eerste patiënt die genezen is wordt gerapporteerd als de 'Berlin patiënt' en was het bewijs dat het mogelijk is om van een hiv-infectie te genezen. De tweede persoon, de 'London patiënt', is in 2019 genezen verklaard. Beide patiënten kregen een vergelijkbare beenmergtransplantatie als behandeling voor kanker (Hodgkin's lymphoma en leukemie, respectievelijk). Voor deze transplantatie werden alle bloedstamcellen, en daarbij ook het hiv reservoir, vernietigd en weer aangevuld met donorcellen. Om naast kanker ook de hiv-infectie te behandelen, is er in beide gevallen gekozen voor een stamcel donor die homozygoot was voor de hiv-resistente CCR5Δ32-mutatie. Deze stamcellen missen het gen voor CCR5, dat door hiv als co-receptor naast de CD4 receptor wordt gebruikt om de gastheercel binnen te komen. Hiv kan door deze CCR5Δ32-mutatie cellen niet meer infecteren. Na de stamceltrans-

plantatie was hiv-DNA ondetecteerbaar in het weefsel van beide patiënten en hebben de patiënten nooit meer een behandeling met cART hoeven te volgen. De Berlin en London patiënten zijn een voorbeeld van een steriliserende behandeling waarbij hiv uit het lichaam is verwijderd. Deze aanpak is echter op grote schaal niet haalbaar vanwege het hoge risico op overlijden, bijwerkingen, hoge kosten, immunosuppressie en de lage kans om een geschikte donor te vinden met de homozygote CCR5Δ32-mutatie. Het laat echter wel zien dat het mogelijk is om hiv te genezen (7).

Aanwijzingen voor een functionele genezing: elite en post-treatment controllers

De andere methode van genezing wordt functionele genezing genoemd, en hierbij is de behandeling erop gericht om door een tijdelijke therapie de ziekteverwekker langdurig te onderdrukken. In het geval van PLWH betekent dit dat het virus uiteindelijk in toom wordt gehouden door het eigen immuunsysteem zonder verdere medicatie (2).

Door de jaren heen zijn er PLWH gevonden die in staat zijn het virus meer dan tien jaar onder controle te houden zonder het gebruik van cART. Deze 'elite controllers' presenteren zich jarenlang met ondetecteerbare virusniveaus, wat suggereert dat een functionele hiv genezing of remissie mogelijk is. Nader onderzoek heeft aangetoond dat een deel van deze elite controllers genetisch gezien een iets ander afweersysteem hebben, waardoor het virus moeilijk kan ontsnappen aan cytotoxische T-cellen die de geïnfecteerde cellen doden. Bovendien hebben de elite controllers vaak ook een kleiner hiv reservoir (8,9). Lopend onderzoek naar de elite controllers probeert deze mechanismen in kaart te brengen, zodat deze nagebootst kunnen worden voor een functionele hiv genezing.

Beheersing van hiv-infectie is ook gerapporteerd in een studie waarbij patiënten vlak na infectie behandeld werden met cART, welke na twee jaar werd gestopt. Verrassend genoeg bleek dat bij sommige patiënten het virus in het bloed ondetecteerbaar bleef voor een periode van meer dan tien jaar. Blijkbaar is het immuunsysteem van deze zogeheten 'post-treatment controllers' in staat hiv te onderdrukken. In tegenstelling

tot de zeldzame elite controllers (1% van PLWH), wordt er gedacht dat het klinische fenotype van de post-treatment controllers veel vaker voorkomt (5-15% van PLWH) (10,11). Verder onderzoek naar deze post-treatment controllers kan dus mogelijk leiden tot belangrijke aanwijzingen voor een functionele hiv genezing.

Strategieën in het genezen van hiv-infectie

De eerdergenoemde casussen bewijzen dat het mogelijk is om hiv volledig te genezen of te onderdrukken zonder blijvende medicatie. Het in kaart brengen en identificeren van het hiv reservoir ligt hier zonder twijfel aan ten grondslag. Een van de belangrijkste pijlers binnen het huidige onderzoek richt zich dan ook op de opsporing van de latent geïnfecteerde cellen om deze vervolgens specifiek aan te pakken. Omdat hiv latentie een complex mechanisme is, zijn er voor de eliminatie of uitschakeling van het virale reservoir veel verschillende strategieën bedacht, waarvan een aantal hieronder toegelicht worden (figuur 2).

Shock-and-Kill

Een van de strategieën om hiv latentie te bestrijden is het activeren van de virusproductie in latent geïnfecteerde cellen en deze gereactiveerde cellen vervolgens te verwijderen. Deze 'shock-and-kill' benadering maakt gebruik van zogeheten latency reversing agents (LRA's) die virale genexpressie van latent hiv kunnen induceren. LRA's omvatten een brede klasse aan middelen, die allemaal aangrijpen op verschillende mechanismen en leiden tot de activatie van virusreproductie (12). Gezien de vele onderliggende mechanismen van hiv latentie, is het vanzelfsprekend dat één compound niet voldoende zal zijn voor reactivatie en dat LRA's van verschillende klassen met elkaar gecombineerd zullen moeten worden. Ook moeten LRA's toegediend worden in combinatie met cART om verspreiding van virusdeeltjes tijdens virale reactivatie te voorkomen.

Hoewel initieel werd gedacht dat LRA's virus-geïnduceerde celdood teweeg konden brengen, is dit niet erg effectief bevonden in klinische onderzoeken. Voor de eliminatie zijn er dusdanig twee leidende strategieën opgesteld: 1) actieve eliminatie door het immuunsysteem middels cytotoxische T-cellen, en 2) inductie van celdood door cytotoxi-

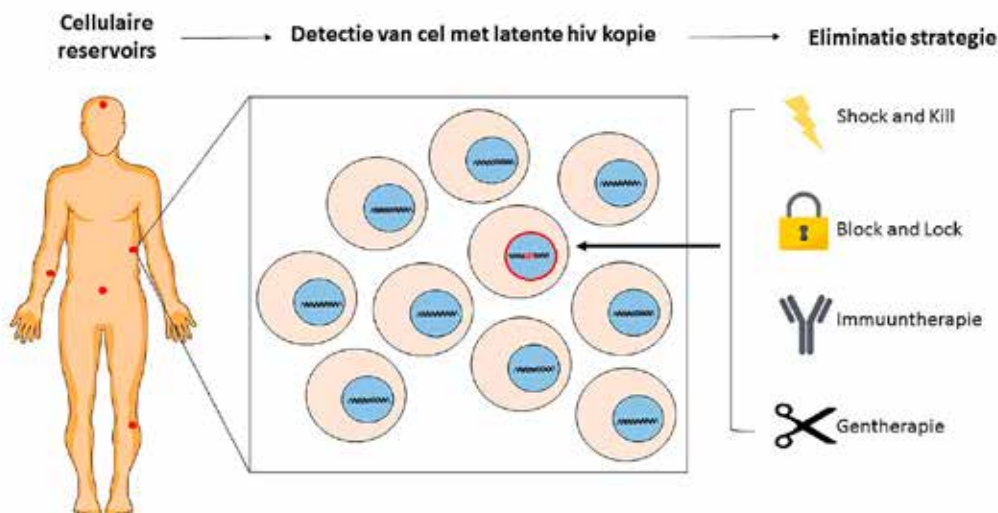
sche middelen (12,13). Afgelopen jaren is er vooral onderzoek gedaan naar LRA's, oftewel de 'shock', in latente hiv-infectie. Verder onderzoek moet de nog onbekende 'kill'-zijde van deze strategie beter gaan belichten. Daarnaast kunnen verschillende middelen en behandelingen een tegengestelde onderliggende werking hebben. Zo kan een 'kill'-strategie celdood bevorderen, terwijl een LRA juist een remmende werking op celdood kan hebben. Het is dus van groot belang dat er goed gekeken wordt naar de synergie van de verschillende middelen.

Block-and-Lock

De 'block-and-lock' aanpak heeft tot doel transcriptie van hiv langdurig of voor altijd uit te schakelen. Hypothetisch gezien zou dit reactivatie van latente virussen onder alle omstandigheden moeten voorkomen. Er zijn meerdere block-and-lock mechanismen onderzocht die werken op verschillende factoren welke van belang zijn voor hiv-transcriptie (14). Een recent onderzoek vergeleek het gebruik van een block-and-lock middel in combinatie met cART. De muizen op deze combinatietherapie lieten een vertraagde virale terugkeer zien na het stoppen van de behandeling vergeleken met de muizen die alleen behandeld werden met cART. Er was echter geen sprake van lange termijn suppressie van het virus, terwijl idealiter de virale remissie levenslang zou moeten zijn na een korte behandeling (15). De huidige block-and-lock methodes die zowel *in vitro* als *in vivo* zijn getest, laten nog geen verbetering op de huidige cART behandeling zien.

Een vorm van immuuntherapie: breed neutraliserende antilichamen

Verschiedende vormen van immuuntherapie worden onderzocht voor de aanpak van het virale reservoir, waaronder het gebruik van antilichamen. Mensen met hiv worden constant blootgesteld aan hiv envelop antigenen. Sommige geïnfecteerden, de zogenaamde 'elite neutralizers', produceren extreem reactieve neutraliserende antilichamen tegen deze envelop antigenen (16). Deze antilichamen worden ook wel breed neutraliserende antilichamen (bNAbs) genoemd. Een elite neutralizer heeft zelf maar een beperkt voordeel van zijn eigen bNAbs, aangezien hiv snel muteert en zo resistent wordt tegen de aanwezige bNAbs. Antilichaamtherapie, daarentegen, omvat vele combinaties van



Figuur 2. Cellulaire reservoirs bevatten cellen die een latente kopie van hiv bevatten. Deze cellen kunnen weer actief worden zodra gestopt wordt met cART. Verschillende strategieën die zich specifiek richten op het virale reservoir worden onderzocht voor de genezing van hiv.

verschillende bNAbs, waardoor de kans op het ontwikkelen van virusresistentie verkleind wordt. bNAbs onderscheiden zich van andere hiv-antilichamen doordat zij zich binden aan geconserveerde delen van het virus: dit zijn delen in de virale eiwitten die essentieel zijn voor de overleving van het virus. bNAbs zullen hierdoor het gros van de verschillende hiv varianten herkennen.

Er wordt verwacht dat de bNAbs kunnen binden aan de envelop antigenen die tot expressie worden gebracht op geïnfecteerde cellen. De bNAbs zouden op twee manieren ingezet kunnen worden: 1) het verwijderen van geïnfecteerde cellen door het activeren van verschillende immuuncellen zodra er met cART wordt gestopt, en 2) het voorkomen dat er nieuwe cellen geïnfecteerd worden doordat bNAbs vrijgekomen hiv-deeltjes kunnen neutraliseren. Eerdere onderzoeken in primaten laten zien dat er virale klaring optreedt na toediening van bNAbs kort na infectie. Deze klaring kan optreden doordat bNAbs helpen bij het behouden van de CD4+ T-cellen en het opwekken van een cytotoxische T-celrespons (16). Fase 1 klinische onderzoeken met bNAbs zijn al begonnen, maar of de antilichamen ook effectief het latente reservoir kunnen bereiken moet nog verder onderzocht worden.

CRISPR-Cas

Ook CRISPR-Cas, een methode om het genoom te bewerken, wordt gebruikt in de zoektocht naar mogelijke therapieën voor hiv. Omdat een transplantatie van immuuncellen met een CCR5 Δ 32-mutatie de eerdergenoemde Berlin en London patiënten kon genezen van hiv-infectie, hebben studies gekeken naar het uitschakelen van CCR5 met behulp van CRISPR-Cas. Inactivatie

van CCR5 *in vitro* leidde echter tot de selectie van virussen met gemuteerde enveloppen, waardoor deze de CXCR4 co-receptor konden gebruiken voor infectie. Vanwege de belangrijke rol die CXCR4 speelt in het beenmerg zijn er verder weinig studies geweest waarbij ook deze co-receptor werd uitgeschakeld. Een alternatief is het aanpakken van het hiv genoom, waarbij met behulp van CRISPR-Cas gericht inactiverende mutaties of zodat er excisies worden gemaakt in de hiv genen, zodat het virus niet meer kan repliceren of er alleen non-infectieuze virusdeeltjes ontstaan (17).

Het gebruik van CRISPR is echter niet zonder struikelblokken. Het toepassen van enkele guide RNA's (gRNA's) is geen optie omdat hiv snel muteert en makkelijk kan ontsnappen, maar de combinatie van meerdere gRNA's die verschillende gensequenties aanpakken zouden dit probleem wellicht kunnen oplossen. Ook is het lastig om alle hiv-positieve cellen aan te pakken omdat hiv erg variabel is, waardoor het mogelijk is dat de gRNA's niet meer binden. Een ander probleem is dat er nog geen cellulaire marker is gevonden voor latent geïnfecteerde cellen, waardoor het nog niet mogelijk is om een virale vector met gRNA's gericht naar het latente reservoir te sturen.

Vooruitzicht

Alhoewel er een hoop strategieën zijn bedacht om hiv te genezen, blijven baanbrekende resultaten uit. De grootste belemmering bij het vinden van een genezende hiv-behandeling is de vorming van latente virale reservoirs. Het blijft een enorme uitdaging om alle latent geïnfecteerde cellen in PLWH te detecteren en deze effectief aan te pakken

ken door middel van therapieën. Hier is het ook zaak dat het omliggende weefsel en vooral het immuunsysteem verder niet geschaad worden. Cellulaire markers die dit latente reservoir zouden kunnen identificeren zijn daarom hard nodig. Er is momenteel geen enkele marker die in staat is om alle met hiv-geïnfecteerde cellen te markeren, ongeacht het celtype. De zoektocht naar deze cellulaire markers wordt bemoeilijkt door onder andere de beperkte sensitiviteit van detectie-assays, het lage aantal geïnfecteerde cellen in het bloed van patiënten en de lastig te bereiken anatomische reservoirs. Het genezen van hiv klinkt als een onmogelijke taak, maar de wereld van medisch onderzoek staat nooit stil. Vervolgonderzoek focust zich onder meer op een nauwkeurigere detectie van een geïntegreerd hiv-genoom. De data die hieruit voortkomt levert hopelijk unieke markers op die slechts tot expressie worden gebracht in latent geïnfecteerde cellen, waarmee er doeltreffende therapieën ontwikkeld kunnen worden. Waar hiv genezing decennia geleden een illusie leek te zijn, komen we met de groeiende kennis van nu elke dag een stapje dichterbij het vinden van een mogelijke genezing van hiv.

Auteurs

Jade Jansen en Shirley Man zijn begin dit jaar begonnen met hun promotieonderzoek en Stefanie Kroeze is recentelijk aangesteld als postdoc bij het Amsterdam UMC, locatie AMC, op de afdeling Experimentele Immunologie. Zij gaan onderzoek doen naar de identificatie van cellulaire targets van het hiv reservoir en de eliminatie van dit reservoir onder begeleiding van Neeltje Kootstra, Carla Ribeiro en Theo Geijtenbeek. De projecten zijn opgezet binnen het 'Target2Cure' consortium, een samenwerkingsverband

tussen onderzoekers van het Amsterdam UMC, UMC Utrecht en bedrijven die gespecialiseerd zijn in diagnostisch onderzoek en het ontwikkelen van nieuwe therapieën. Deze onderzoeken worden gefinancierd door Health Holland, Aidsfonds en Amsterdam UMC.

Literatuur

1. Dionne B. Key Principles of Antiretroviral Pharmacology. Infectious Disease Clinics of North America. 2019.
2. Pace M, Frater J. A cure for HIV: Is it in sight? Expert Review of Anti-Infective Therapy. 2014.
3. Schouten J, Wit FW, Stolte IG, Kootstra NA, Van Der Valk M, Geerlings SE, et al. Cross-sectional comparison of the prevalence of age-associated comorbidities and their risk factors between hiv-infected and uninfected individuals: The age HIV cohort study. Clin Infect Dis. 2014;
4. Aidsfonds [Internet]. [cited 2020 Apr 30]. Available from: <https://aidsfonds.nl/>
5. Deeks SG, Autran B, Berkhout B, Benkirane M, Cairns S, Chomont N, et al. Towards an HIV cure: A global scientific strategy. Nature Reviews Immunology. 2012.
6. Kulpa DA, Chomont N. HIV persistence in the setting of antiretroviral therapy: when, where and how does HIV hide? J virus Erad. 2015;
7. Hütter G, Nowak D, Mossner M, Ganepola S, Müß A, Allers K, et al. Long-term control of HIV by CCR5 delta32/delta32 stem-cell transplantation. N Engl J Med. 2009;
8. Study IHIVC, Pereyra F, Jia X, McLaren PJ, Telenti A, de Bakker PIW, et al. The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. Science (80-). 2010;
9. Graf EH, Mexas AM, Yu JJ, Shaheen F, Liszewski MK, Di Mascio M, et al. Elite suppressors harbor low levels of integrated HIV DNA and high levels of 2-LTR circular HIV DNA compared to HIV+ patients on and off HAART. PLoS Pathog. 2011;
10. Sáez-Cirión A, Bacchus C, Hocqueloux L, Avettand-Fenoel V, Girault I, Lecuroux C, et al. Post-Treatment HIV-1 Controllers with a Long-Term Virological Remission after the Interruption of Early Initiated Antiretroviral Therapy ANRS VISCONTI Study. PLoS Pathog. 2013;
11. Cockerham LR, Hatano H, Deeks SG. Post-Treatment Controllers: Role in HIV "Cure" Research. Current HIV/ AIDS Reports. 2016.
12. Clutton GT, Jones RB. Diverse impacts of HIV latency-reversing agents on CD8+ T-cell function: Implications for HIV cure. Frontiers in Immunology. 2018.
13. Kim Y, Anderson JL, Lewin SR. Getting the "Kill" into "Shock and Kill": Strategies to Eliminate Latent HIV. Cell Host and Microbe. 2018.
14. Vansant G, Bruggemans A, Janssens J, Debyser Z. Block-and-lock strategies to cure HIV infection. Viruses. 2020.
15. Kessing CF, Nixon CC, Li C, Tsai P, Takata H, Mousseau G, et al. In Vivo Suppression of HIV Rebound by Didehydro-Cortistatin A, a "Block-and-Lock" Strategy for HIV-1 Treatment. Cell Rep. 2017;
16. Haynes BF, Burton DR, Mascola JR. Multiple roles for HIV broadly neutralizing antibodies. Sci Transl Med. 2019;
17. Wang G, Zhao N, Berkhout B, Das AT. CRISPR-Cas based antiviral strategies against HIV-1. Virus Research. 2018. ◀

Sensitive CE-IVD COVID-19 assay made in Germany

RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0

- Real-time PCR based test with ready-to-use reagents
- Included internal control and positive control
- Validated for use with most common real-time PCR cyclers
- Different kit sizes: 384 rxns, 4800 rxns (June 2020)

Dual-target assay for increased detection reliability

Target	Signal	Detection
lineage B-betacoronaviruses (E gene)	FAM™	✓
SARS-CoV-2 specific (S gene)	Cy5	✓
Internal Control	JOE™	✓

Save time and test in parallel!

- Respiratory Syncytial Virus A and B (RSV)
- Human Influenza A, B and SwineFlu (H1N1)pdm09



For further information, please contact:

altona Diagnostics GmbH
Jolanda Jacobs
Mobile: +31 6 46 82 34 98
jolanda.jacobs@altona-diagnostics.com

Coming soon for the AltoStar® Automation System AM16

- AltoStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.5
- AltoStar® Influenza Screen & Type RT-PCR Kit 1.5

Immunologie en de bloedbank

Gerard van Mierlo, teamleider afdeling Immunopathology Sanquin

Immunologie is de wetenschap van de natuurlijke afweer van het lichaam tegen lichaamsvreemde indringers in het breedste zin van het woord. Het is een ingenieus biologisch systeem om alle ziekteverwekkers zoals bacteriën, virussen, parasieten en schimmels die onze gezondheid zouden kunnen schaden te neutraliseren. Hiervoor maakt het lichaam gebruik van twee soorten afweersystemen, het aangeboren afweersysteem waartoe bijvoorbeeld het complement, neutrofielen en macrofagen behoren en het aangeleerde afweersysteem dat onder andere bestaat uit de B en T-lymfocyten.

Het aangeboren afweersysteem is een niet specifiek systeem dat indringers herkent aan de hand van lichaamsvreemde structuren. Deze structuren kunnen bijvoorbeeld de kapsel eiwitten van een virus zijn of de flagellen van bacteriën. Activatie van dit systeem zorgt voor een snelle, heftige activatie van cellen en moleculen die ook schade kunnen aanrichten aan omliggende cellen. Het aangeleerde immuunsysteem daarentegen is specifiek en zal doelgericht geheugencellen en antistoffen gaan maken tegen de indringer zonder schade aan omliggende cellen te bewerkstelligen. Deze antistoffen worden gemaakt door plasmacellen die ontstaan uit geactiveerde B-cellen. De B-cellen krijgen daarbij hulp van specifieke T-cellen (de zogenaamde T-helpercellen). De memory T cellen maken nieuwe cytotoxische T-cellen en T-helper cellen en de memory B cellen veranderen tot plasmacellen die extra antistoffen aanmaken om de indringer onschadelijk te maken. Van dit principe wordt gebruikt gemaakt tijdens vaccinatie.

De afdeling Immunopathologie Research van Sanquin is gericht op het verrichten van onderzoek naar het immuunsysteem.

De afdeling bevat 5 onderzoeksgroepen:

- Complement Research
- Regulatie van antigeen specifieke B-cellen en CD4 T-cel reacties
- Structuur en functie van antistoffen
- Ontstekingen
- Antigeen presentatie en immunotherapie

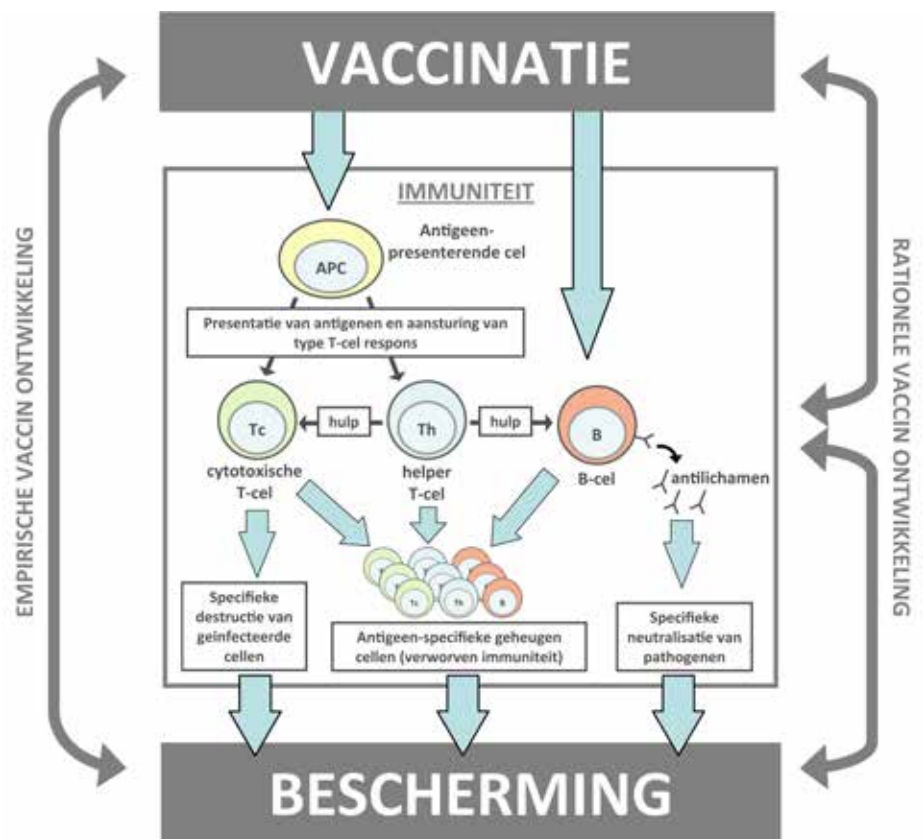


Fig. 1: Schematische voorstelling van de processen die afspelen na een vaccinatie.

Bron: Infectieziekten Bulletin, Themanummer vaccinaties, blz. 272, Nummer 8, Jaargang 23, jaar 2012, blz. 272 T. Guichelaar, P. Kaaijk, RIVM

Van elke onderzoeksgroep zal ik een korte inleiding over hun achtergronden, onderzoeksvragen en toepassingen beschrijven.

Complement Research:

Het was Jules Bordet die in 1898 de reactie beschreef dat het toevoegen van lichaamsvreemd bloedplasma aan erythrocyten leidt tot hemolyse, het

lyseren van de erythrocyten, de ontdekking van het complement systeem. Het complement systeem behoort tot de aangeboren afweer, met als voornaamste taak het onschadelijk maken van pathogenen. Activatie van dit systeem leidt tot het beladen (opsoniseren) van indringers met specifieke eiwitten zodat deze herkend kunnen worden door neutrofielen en macrofagen, waarna een

opname en vernietiging van de indringer plaats zal vinden. Daarnaast kan activatie van dit systeem leiden tot lysis van bepaalde indringers zoals bacteriën en schimmels. Tevens zullen door de opsonisatie B-cellen worden aangezet tot proliferatie en het vormen van plasmacellen die antistoffen tegen de indringer zullen aanmaken. Activatie van het complement systeem leidt ook tot activatiefragmenten die ervoor zorgen dat immuun cellen worden aangetrokken naar de plek van infectie. Het complement systeem is een verbindende factor tussen aangeboren en aangeleerd immuunsysteem en speelt daarom een belangrijke rol in ons afweer.

Het complementsysteem is een domino-systeem van elkaar activerende eiwitten; als er 1 component ontbreekt in de cascade zal de volgende protease niet geactiveerd worden en de gehele route niet functioneel zijn! Het complement-systeem bestaat uit drie verschillende activatie routes. De klassieke route wordt aangezet door antilichamen. De lectine route wordt aangezet door suiker-structuren. De alternatieve route tot slot kan spontaan worden geactiveerd, maar dient ook als amplificatie loop van de klassieke en lectine route. Alle routes leiden tot het knippen van het centrale

complementeiwit C3 en uiteindelijk tot knippen van C5 en lysis van de target. Omdat overmatige complement activatie kan leiden tot schade is het strak gereguleerd door complement remmers, die zowel in het serum als op de oppervlakte van cellen aanwezig kunnen zijn (Figuur 2).

Complement deficiënties kunnen leiden tot ernstige ziekteverschijnselen zoals auto-immuunziekten en infecties. Een voorbeeld is een C5 deficiëntie dat tot een ernstige infectie met *Neisseria meningitidis* leidt, de bacterie die een meningitis veroorzaakt. Dit komt omdat C5 activatie noodzakelijk is voor de lysis van gekapselde bacteriën zoals *N. meningitidis*. Een voorbeeld van het ontstaan van een auto-immuunziekte door complement deficiëntie is Systemische Lupus Erythematoses (SLE) of Lupus. Deze auto-immune ziekte komt vaak voor bij mensen met een deficiëntie in de klassieke complement route. Ook de ernstige nierziekte aHUS (atypische Hemolytisch Uremisch Syndroom) is gelinkt aan afwijkingen van het complement systeem. Naast het ontstaan van aHUS zijn mutaties in deze complement remmers ook betrokken bij het ontstaan van AMD (Age-related Macular Degeneration, dit is een ernstige oogziekte).



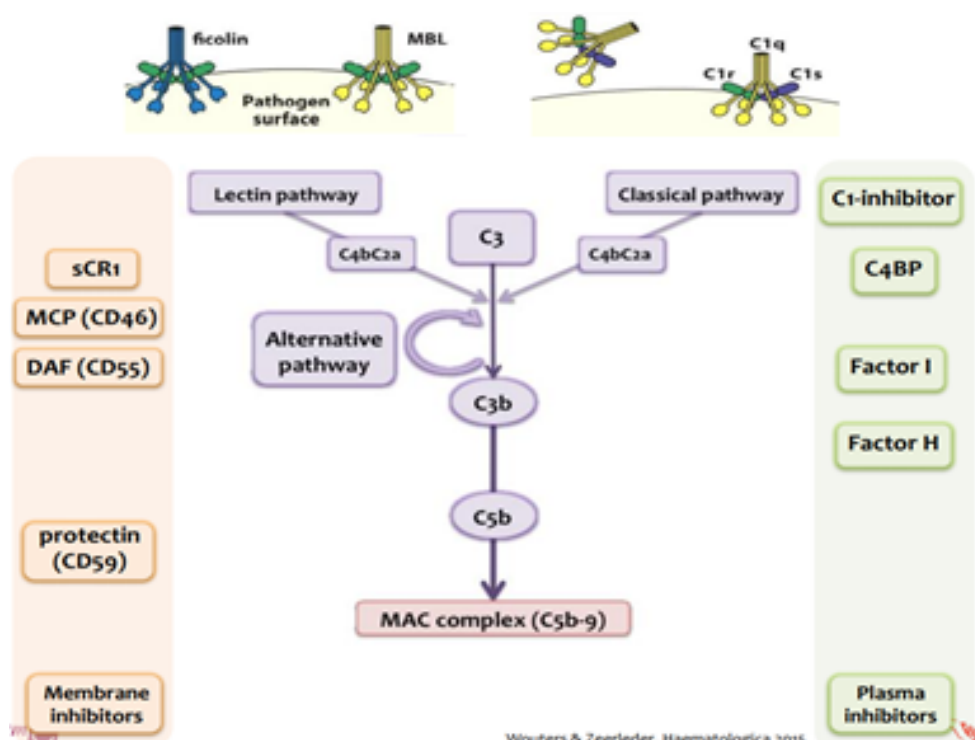
Figuur 3: (L) C1-esteraseremmer deficiënt patiënt, deze foto laat de vorming van oedeem in het gelaat zien tijdens een aanval. Wikipedia, picture by CharlesPicavet

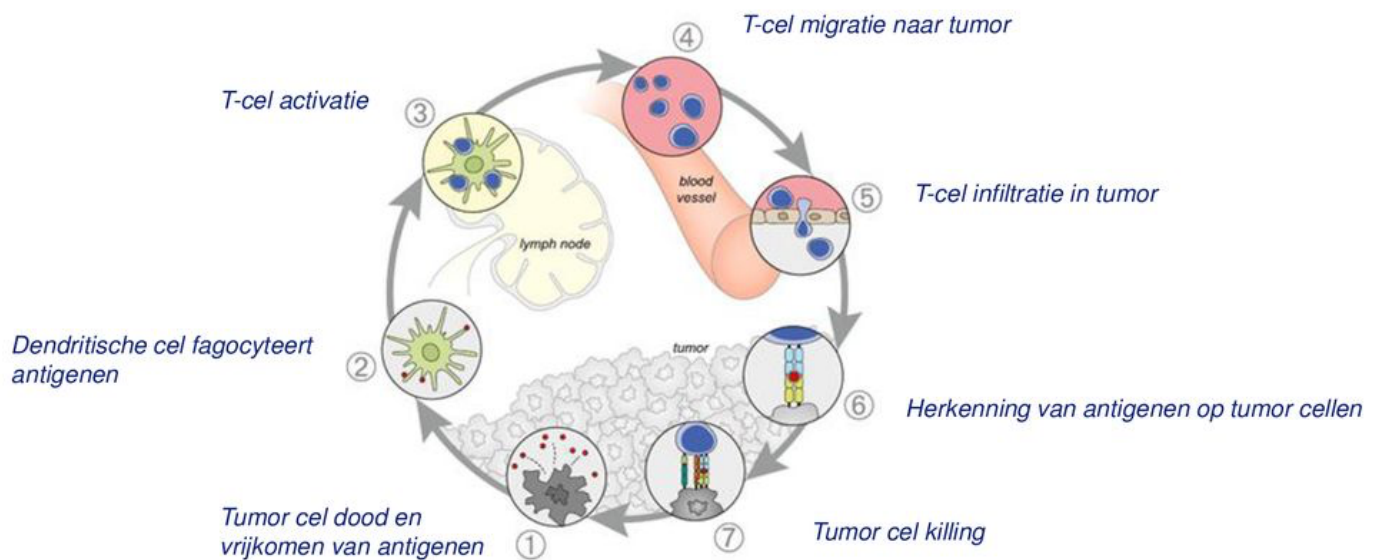


(R) Patiënt met meningococcensepsis, een zeer ernstige ziekte die kan ontstaan ten gevolge van een complementfactor 5 deficiëntie. WikiDoc.

Figuur 2: Schematisch overzicht van het complementsysteem.

Diana Wouters, Sacha Zeerleder. *Haematologica* November 2015 100: 1388-1395; Doi:10.3324/haematol.2015.128538





Figuur 4: Schematische voorstelling van een kankertherapie met dendritische cellen.
 Bron: slideplayer, titel: ontwikkeling asbestkanker.

Deficiëntie van C1-esteraseremmer (remmer van zowel complementfactor C1 als van eiwitten van het stollings- en contactsysteem) leidt tot ernstige spontane oedeemverschijnselen in o.a. de keel. (Zie fig. 3)

Het onderzoeksgebied van deze subgroep richt zich onder andere op de volgende onderzoeksvragen:

- Is het mogelijk om een complement remmer van het complementactivatie systeem te genereren die versterkte activiteit vertoont?
- Is het mogelijk om door middel van suppletie van complementfactoren patiënten met complementdeficiënties te behandelen?
- Wat zijn de moleculaire interacties tussen het complement- en het stollingssysteem?

Regulatie van antigeen specifieke B-cellen en CD4 T-cel reacties

Tot het aangeleerde afweersysteem worden o.a. de B- en T-cel lymfocyten gerekend. Deze twee soorten lymfocyten reageren specifiek op de indringer, met als uiteindelijk resultaat het maken van specifieke antistoffen dat een bepaald eiwit op het membraan van de indringer herkent. De B-cel maakt plasmacellen die antistoffen maakt. Hiervoor heeft de B-cel vaak de hulp van een specifieke T-cel nodig (de zogenaamde T-helpercel). Er zijn ook T-lymfocyten die kunnen differentiëren tot een cytotoxische T-cel. Deze kunnen door een virus geïnfecteerde cel fagocyteren of deze cel aanzetten tot een

geprogrammeerde celdood (apoptose). De B-lymfocyten worden meestal direct geactiveerd door specifieke eiwitten (antigenen) op een indringer. Voor T-cel activatie, moeten afweercellen zoals de dendritische cel en macrofaag de indringer eerst fagocyteren en vervolgens als stukjes vreemd eiwit (ook antigeen genoemd) aanbieden (via het MHC-complex) aan de T-cellen. Wanneer dit systeem normaal functioneert zorgt dit voor een goede afweer tegen de indringer maar ook tegen abnormale cellen zoals tumoren. Een afwijking in dit systeem zal leiden tot ernstige infecties, auto-immuunziekten of bloedkanker. Van de specifieke reacties tegen tumorweefsel (lichaamsvreemd eiwit op het membraan) maakt men gebruik op de volgende manier:

Uit een biopsie van tumorweefsel worden T-cellen geïsoleerd (waaronder ook de specifieke T-cellen zitten die tegen de tumor zijn gericht!). Deze T-cellen worden vaak in het tumorweefsel "verlamd" doordat de tumorcellen stoffen uitscheiden die elke activiteit van de T-cel onderdrukt. Na de isolatie uit het biopsie, worden ze in grote aantallen opgekweekt in het laboratorium, vervolgens hyperactief gemaakt en terug gespoten in de zieke patiënt. De hyperactieve specifieke T-cellen zullen de tumor vervolgens vernietigen. Deze behandelwijze wordt op dit moment veelvuldig toegepast in de kliniek.

Een alternatieve immunotherapie is het gebruik van dendritische cellen die

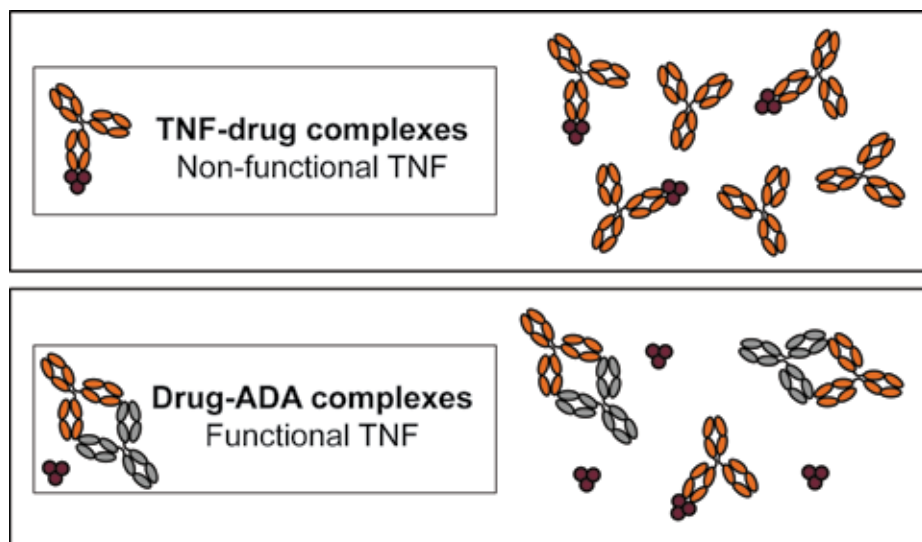
uit eigen bloedcellen van de patiënt gemaakt worden. In het lab worden deze cellen beladen met tumor-antigenen. Na toediening in het lichaam zullen deze de cellen T-cellen aanzetten tot een reactie op het tumorweefsel.

Onderzoeksvragen van deze onderzoeksgroep zijn:

- Hoe verloopt de controle van T-cel functie door dendritische cellen in de lymfeknoop (germinal centre) en hoe kunnen B-cellen met behulp van geactiveerde T-helper cellen uitgroeien tot plasmacellen die antistoffen gaan maken? Wat is het gevolg van deze actie m.b.t. de activiteit jegens de indringer of bijvoorbeeld het ontstaan van auto-immuunziekten?
- Kunnen dendritische cellen die in contact zijn gekomen met tumorweefsel aangezet worden tot een betere activiteit m.b.t. activatie van T-cellen?

Structuur en functie van antistoffen

Hedendaags worden vele auto-immuunziekten en carcinomen maligniteiten behandeld met zogenaamde monoclonale antistoffen. Monoclonale antistoffen zijn antistoffen specifiek gericht tegen een klein stukje van een eiwit (epitoom) en afkomstig van een en dezelfde B-cel kloon. Polyclonale antistoffen zijn daarentegen afkomstig van een grote B-cel populatie, en zullen meerdere delen van het gehele eiwit kunnen binden. Deze monoclonale antistoffen kunnen alleen een bepaald stukje van



Figuur 5: De niet gebonden TNF heeft na de vorming van anti-drugantistoffen (ADA) vrij spel om de ontstekingsreactie wederom te induceren.

Berkhout et al. (2019) Dynamics of circulating TNF during adalimumab treatment using a drug-tolerant TNF assay, *Science Translational Medicine*, 11:477, eaat3356, DOI: 10.1126/scitranslmed.aat3356

een eiwit herkennen, het is dus bijvoorbeeld mogelijk om gericht antistoffen te maken tegen het tumorweefsel. Wanneer deze antistof dit stukje herkent kan het gevolg fagocytose, complementactivatie en of apoptose (gereguleerde celdood) zijn van de tumor. Een tumor onderdrukt het afweersysteem. Er zijn nu ook monoclonale antistoffen die gericht zijn tegen deze onderdrukkende receptoren, waardoor de activiteit van de B- en T-cellen tegen de tumor zullen toenemen.

Ook sommige auto-immuunziekten worden behandeld met monoclonale antistoffen, zoals bijvoorbeeld reumatoïde artritis. Deze patiënten worden behandeld met antistoffen gericht tegen het cytokine tumor necrose factor (TNF, hormoon eiwit voor de cel communicatie). TNF speelt een belangrijke rol in het krijgen van een ontsteking van het kraakbeen, wat uiteindelijk tot een blijvende schade aan het gewricht zal leiden.

Een monoclonale antistof tegen TNF

voorkomt dat deze bindt aan de cellen en daarmee activeert, op deze manier wordt de ontsteking afgeremd. Helaas vormt het lichaam na verloop van tijd soms antistoffen gericht tegen deze therapeutische monoclonale antistoffen. Dit zijn veelal de zogenaamde anti-idiotypen antistoffen, deze antistof reageert met dat deel van de therapeutische antistof dat normaliter TNF gebonden zou hebben. Het gevolg is dat de neutraliserende werking wordt opgeheven en de ontsteking inducerende cytokine TNF vrij spel krijgt. (Zie figuur 5)

Monoclonale antistof therapie is een veel gebruikte behandeling strategie voor allerlei ziektebeelden (psoriasis, ziekte van Crohn,) en er zijn therapeutische antistoffen tegen verschillende ontstekingscytokines (TNF, IL-6, IL-12) die bij deze ziekten een rol spelen.

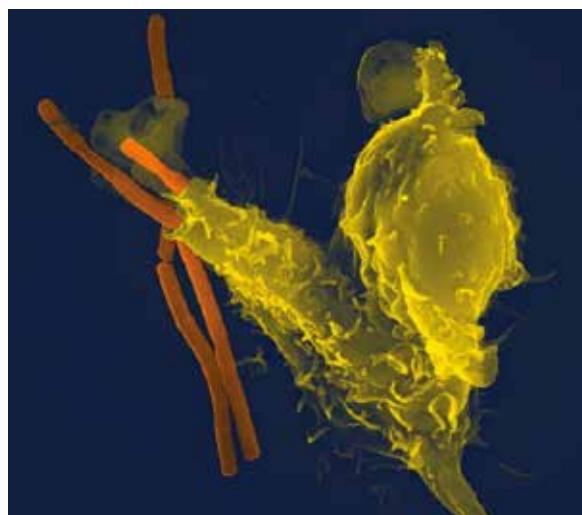
De onderzoeksvragen waar deze onderzoeksgroep aan werkt zijn:

- Kunnen we ontrafelen welke factoren leiden tot het genereren van deze anti-idiotypen antistoffen?
- Hoe kunnen therapeutische antistoffen zo optimaal mogelijk worden gebruikt.

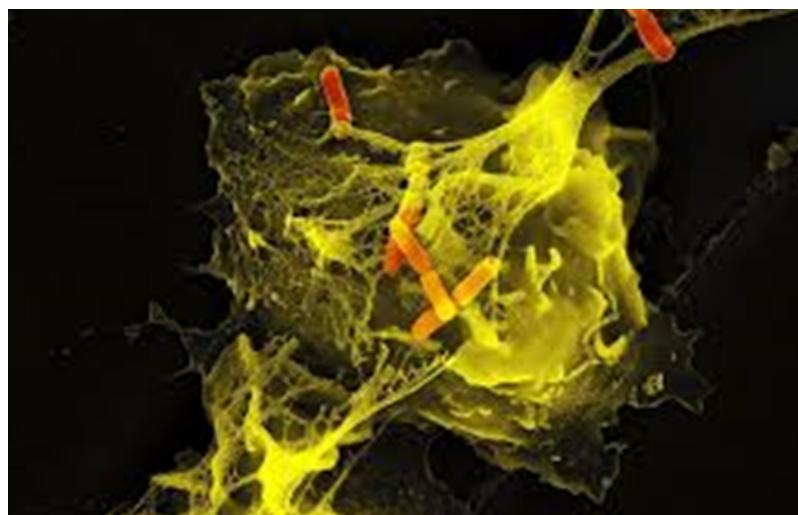
Ontstekingen

Een ontsteking is een reactie van het lichaam op de indringer die men onschadelijk probeert te maken. Dit gaat gepaard met activatie van veel afweercellen die op hun beurt agressieve

Figuur 6: fagocytose van een bacterie door een neutrofiel. Volker Brinkmann - (November 2005). "Neutrophil engulfing *Bacillus anthracis*". *PLoS Pathogens* 1 (3): Cover page. DOI:10.1371. Retrieved on 2009-01-04



Figuur 7: NET's waarin gevangen *Shigella* bacteriën. Brinkman © Max Planck Institute for Infection Biology



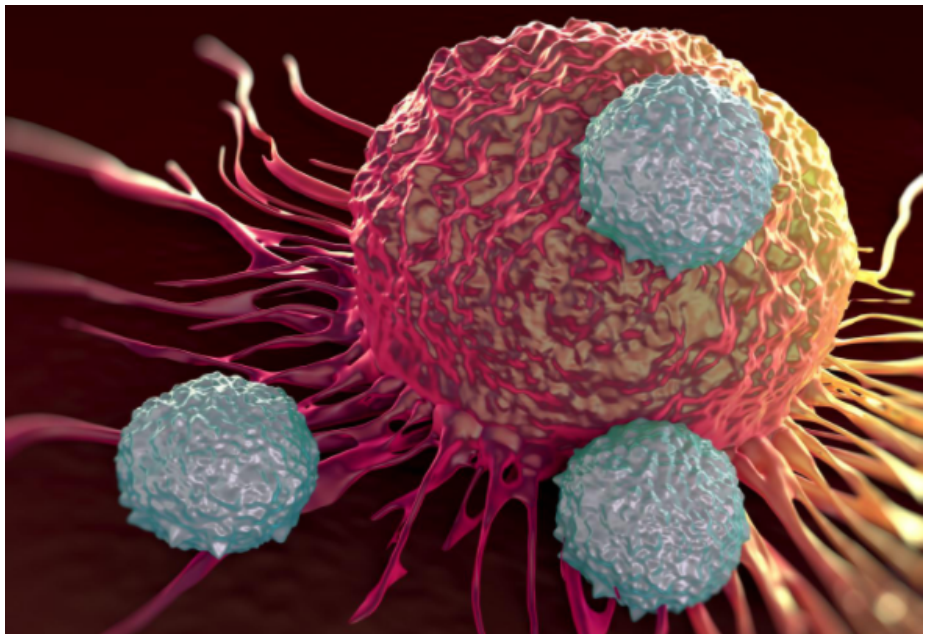
enzymen afgeven om de ziektekiem te elimineren, maar daardoor ook weefsel-schade veroorzaken. Een afweercel die daar berucht voor is, is een neutrofiële granulocyt. De neutrofiële granulocyt heeft de mogelijkheid om de indringer te fagocyteren (figuur 6), maar kan ook een zogenaamde NET (Neutrofill Extracellular Trap) vormen. De fagocytose van een indringer zal leiden tot het vrijmaken van enzymen uit intracellulaire granula. Tot deze enzymen behoren onder andere elastase en myeloperoxidase, tevens zal NADPH geactiveerd worden met als gevolg de vorming van superoxiden en HClO (bleek!!). Deze gecombineerde actie wordt reactieve burst genoemd en resulteert in de eliminatie van de ziektekiem.

Een ander gevolg van de activatie van de neutrofiële leucocyt is de NET formatie. De o.a. hierboven genoemde enzymen uit de granula migreren naar de celkern om vervolgens de nucleusmembraan te dissociëren en het DNA met histonen te fragmenteren. De gedeфраgmenteerde inhoud zal over deze indringer uitgespuugd worden, waarbij de DNA draden de indringer gefixeerd houden om verspreiding door het lichaam tegen te gaan. Dit laatste proces noemt men NET (Neutrofill Extracellular Trap) -formatie. Het vrijgekomen DNA, een sterk negatief geladen molecuul, activeert op zijn beurt het stollingssysteem en eveneens de bloedplaatjes. Dit proces omvat nog vele onduidelijkheden en wordt in de wetenschap (nog) niet door iedereen als een ware gebeurtenis beschouwd (figuur 7). De indringer zal op deze wijze onschadelijk gemaakt worden. Deze acties kunnen leiden tot trombotische complicaties, die regelmatig optreden tijdens ernstige bacteriële infecties en auto-Immuunziekten.

Een onderzoeksvraagstelling van deze onderzoeksgroep is:
Speelt NET-formatie een rol bij trombotische complicaties bij bijvoorbeeld sikkelcelanemie?

Antigeen presentatie en immunotherapie

Ons lichaam heeft een afweersysteem om virus geïnfecteerde cellen maar ook kankercellen te herkennen. Een virus geïnfecteerde cel, maar ook abnormale cellen van (beginnende) kanker maken eiwitten aan, die in een normaal gezond cel niet zouden zijn aangemaakt.



Figuur: 8 T-cellen (grijs) die een kankercel aanvallen.

Picture created by: La Jolla Institute for Allergy and Immunology

Deze eiwitten worden enzymatisch afgebroken tot kleine fragmenten (peptiden). Ons lichaam heeft een systeem ontwikkeld om deze abnormaal voorkomende peptiden te laten zien aan T-cellen, middels het Humaan Leucocyt Antigen (HLA) eiwit. HLA-eiwitten komen op alle cellen voor, uitgezonderd de erythrocyten, en komt voor in twee vormen: te weten HLA-klasse I en HLA-klasse II. De eerstgenoemde zal peptiden presenteren aan de zogenaamde cytotoxische T- cellen, de HLA-klasse II alarmeert de T-helper cellen. De T-cellen herkennen de abnormale peptiden op HLA door middel van de T-cel receptor, waarna de T-cellen tot actie overgaan en de cel zal elimineren (cytotoxische T cel) of B-cellen zal helpen om de juiste antistoffen te maken (T-helper cel).

De T-cel kan dat doen op twee verschillende manieren: door middel van fagocytose of door het afgeven van bepaalde stoffen waardoor de desbetreffende cel een gereguleerde celdood (apoptose) zal ondergaan. Deze onderzoeksgroep houdt zich bezig met het "ontsnappen" van kankercellen aan het afweersysteem en ik zal mij in het verdere verloop van deze tekst daarop concentreren. De kankercel probeert te ontsnappen aan het afweersysteem op verschillende manieren. Allereerst geven kankercellen bepaalde stoffen af die de activiteit van de afweercellen onderdrukken. Verder brengen kankercellen ook bepaalde eiwitten op het membraan (de

z.g. checkpoint markers) die de activatie van T-cellen onderdrukt. Het zal niet verbazingwekkend zijn dat het niet herkennen van het HLA met peptide door de T-cel eveneens een strategie is van een kankercel om aan de afweercel te ontsnappen. De kankercel probeert het HLA-molecuul in de cel te houden of onzichtbaar te maken voor herkenning door de T-cel receptor. Voor dit laatste hebben wij een sluwe manier van de kankercel gevonden: door het aanzetten van bepaalde enzymen in de glycolipide (gesuikerde vetten) synthese is het gevolg een overexpressie van deze glycolipiden op het membraan. Door deze glycolipiden worden de HLA-moleculen afgeschermd voor herkenning door de T-cel receptor.

De vraagstelling van deze onderzoeksgroep:
Kunnen we ontrafelen welke eiwitten betrokken zijn bij de overexpressie van deze lipiden en kunnen wij dit beïnvloeden om kanker beter zichtbaar te maken voor het afweersysteem. ◀



Deliver diagnostic confidence

*The science to shape the future of pathology
is in your hands with BenchMark solutions*

Confidence begins with knowing your IHC/ISH diagnostic solution is clinically sound, technically strong and designed to improve the future for you and your patients. We offer you the globally trusted solution only Roche Diagnostics can deliver:

- Largest menu of 250+ ready-to-use assays
- 25 years of proven automation
- A world leader in *in-vitro* diagnostics
- 180+ companion diagnostics projects
- Partnership built on shared commitment to patients

Let's build confidence together

www.roche.com
www.ventana.com

© 2015 Ventana Medical Systems, Inc.
6098A-1 1215 RTDPCASFASA0051



Een belangrijk onderdeel van de pre-analyse is het verzamelen van materialen en de bloedafname. Dit gebeurt op alle bloedafnamelocaties maar ook bij patiënten thuis. Veel medewerkers gaan dagelijks op pad, bemannen een locatie en maken in het contact de meest uiteenlopende zaken mee. Vanuit de werkgroep pre-analyse leek het ons leuk om in 2020 hier in drie stukjes aandacht aan te geven. De stukjes komen het boekje 'De Prikpost', de schrijfster is Marijn van Teylingen, uitgeverij Boekscout.nl, Soest, ISBN 978-94-022-3376-6
Veel plezier met deel 2: Piano

*Namens de werkgroep NVML pre-analyse,
Marco Wouters*

Piano

Regelmatig krijg ik huisbezoeken in mijn hand gedrukt voor een wijk waar ik een volkomen vreemde ben. Daar ik ook nog eens het richtingsgevoel van een zieke postduif heb, zijn dit soort huisbezoeken doorgaans niet zo aan mij besteed. Mijn beste vriend Tom is ook al wat ouder en zijn voorgeprogrammeerde hersentjes doen het na vijf jaar trouwe dienst niet meer zo best, zeker niet wanneer driekwart van Amstelveen opgebroken blijkt.

Terwijl Tom mij op dwingende toon sommeert, om te keren, nadat ik al vijf keer dezelfde rotonde heb gezien, begin ik langzaam wat licht in mijn hoofd te worden. Enige seconden later breekt het zweet me uit en slaat de paniek een beetje toe. Ik ben inmiddels al een half uur onderweg zonder resultaat. Hoe kom ik in godesnaam op de plek van bestemming zonder dat ik het fietspad oprijd dat nu ineens voor mij opdoemt. "Tom! Je zei toch; rechtdoor?"

Ik zet mijn auto aan de kant en waag mij naar de eerste de beste passant die op mijn pad komt. (Ik ben niet zo'n held in het vragen om hulp maar ik realiseer me ook dat ik er anders niet uit ga komen.) De goede man in kwestie wijst lachend op een steegje aan zijn rechterhand en wenst me succes

gevolgd door een knipoog. Bij het huis aangekomen zie ik door het raam een man voorover gebogen op een bank zitten omringd door stapels kranten, boeken, vuile glazen en volle asbakken. Wanneer ik aanbel kost het de man moeite om uit de zichtbaar te lage bank overeind te komen. Ik zwaai wat onhandig met mijn oranje koffertje.

Eenmaal bij de deur gekomen nodigt hij mij met een flamboyante zwaai van harte uit om zijn nederige woning te betreden. Ik volg hem voorzichtig en probeer niet te struikelen over een accordeon die naast de bank staat. In de kamer staan en hangen veel meer instrumenten waaronder 2 keyboards midden in de kamer en tegen de muur een akoestische piano met daarop een opvallende kleuren foto in een lijst.

De foto is (gezien de kledingstijl) in de jaren 60 genomen en als ik naderbij kom herken ik de man die naast de cliënt op de foto prijkt en mijn hart maakt een sprongetje. Het is Oscar Peterson, een van 's werelds meest beroemde jazz pianisten waar ik helemaal gek van ben.

Aan de muur hangt een serie gouden platen met daaronder de naam van de cliënt die inmiddels enigszins waggelend zijn veel te

lage bank weer probeert te bereiken. De man gaat zitten en neemt een teug uit zijn glas dat gevuld is met witte wijn. Ik vraag hem om de nodige papieren en probeer met moeite een plaats voor mezelf te vinden waar ik veilig zit zonder te eindigen met een gitaar of ander instrument in mijn nek. Ik kijk nog eens rond terwijl de man zijn mouw opstroopt. In de keuken staat een enorme berg afwas, stapels pannen met daarin etensresten van langere tijd geleden, zo verraaft inmiddels ook mijn neus. Terwijl ik de man prik vraag ik naar zijn ontmoeting met Oscar Peterson.

Het antwoord vervult mij met enthousiasme plus een vleugje jaloezie; hij heeft persoonlijk les gehad van deze legendarische pianist! Op mijn vraag of hij dan ook mijn favoriete stuk *Nigerian Marketplace* kent, uitgevoerd door het Oscar Peterson trio, springt hij enthousiast op van de bank en neemt plaats achter de piano. Bij de eerste akkoorden begrijp ik dat hij geen woord gelogen heeft en sprakeloos sta ik midden in die kamer te luisteren naar de klanken van mijn lievelingsstuk. Ik vergeet de vieze keuren, de volle asbakken, het glas witte wijn op de vroege ochtend en de cliënt? Die vergat mij. Ik heb nog een paar keer vergeefs zijn naam geroepen en ben toen maar stilletjes vertrokken. ◀

Commissie Internationale Contacten (CIC)

"Dark clouds or blue skies"

Na de jaarlijkse conferentie van de European Association for Professions in Biomedical Science (EPBS) in Genua werd door de Italiaanse analistenvereniging en de EPBS een congres georganiseerd met de titel "Dark clouds or blue skies". M.a.w.: hoe ziet de toekomst van de medisch analist eruit. Eigenlijk zou ik over de inhoud van het congres schrijven maar een aantal items staan nu in een ander daglicht. Nog nooit is ons beroep als analist zo in het nieuws geweest en nog nooit is diagnostiek zo belangrijk geweest.

Ik wil hieronder dan ook het woord geven aan de president van de EPBS, Fernando Mendes.

Namens de CIC, Marianne Egbers

Biomedical Scientists' important role in Covid-19 pandemic

COVID-19 is nowadays one of the major international health problems. Our social responsibility as members of the society is to contribute to flat the pandemic curve, basically by breaking the infection chain and whenever possible to stay home. Besides being members of our society, we are also health professionals. As Biomedical Scientists we have a major role in the actual scenario, therefore we must bring our expertise to bear here, namely knowledge, skills and competences in several key areas such as virology, infection, molecular biology, biosafety, among others. A special acknowledgment belongs to all the Biomedical Scientists that are in the frontline but still behind the scenes, working 24/7 to have accurate results in time. These results are guiding authorities to start preventive actions where needed as well as to contribute to saving lives. When a patient result is positive for SARS-COV-2 (test usually performed by molecular biology) a sequence of other lab tests will be ordered involving several laboratory fields. When COVID-19, in some cases, cause serious complications, is highly important to have patients regularly monitored, involving other blood tests and further SARS-COV-2 testing, that will be again performed by biomedical scientists. We are true members of this health care team fighting COVID-19.

My sincere wish is that soon we will all be good and EPBS's thoughts go to everyone affected by COVID-19 and their families.

#stayhome

Fernando Mendes, PhD EPBS President



instru**chemie**

Science without f(r)iction since 1979

ISO 13485:2016

Clinical Chemistry Diagnostics
Controls & Standards
Haematology Diagnostics
Microbiology Diagnostics
Immuno Chemistry Diagnostics
Lipids
Biochemicals
Antibodies
Enzymes & Substrates
Instrumentation

Zwet 26, 9932AB Delfzijl
Tel. 0596 - 634 831
info@instruchemie.nl

www.instruchemie.nl

De immuno-logi-puzzel

Frida is analist en werkt op het moment op een medisch-immunologische laboratorium. Een van haar collega's, Mike, heeft een verwarrend mailtje van een arts gekregen en vraagt haar hulp.

De arts heeft die ochtend, van vier nieuwe patiënten met een immunodeficiëntie, bloedaanvragen doorgestuurd. Echter kunnen ze uit de informatie die de arts heeft doorgestuurd en de bijbehorende bloedbuizen niet halen om welke patiënten het nu precies gaat.

Wat ze wel weten is:

1. Dhr. Spook woont in Uitgeest en heeft een IgA deficiëntie. Hij is ouder dan 20 jaar.
2. De patiënt met een IgE deficiëntie is geboren in juni.
3. Mw. Colt heeft een IgG deficiëntie. Zij woont niet in Drenthe.
4. Dhr. Vossen woont in Amstelveen en hij is niet geboren in oktober. Hij is ongeveer 10 jaar ouder dan de patiënt met een IgM deficiëntie.

Deze grid zal je helpen de puzzel op te lossen.

Noteer in de vakjes een + of een – om aan te geven of het wel of juist geen match is.

Probeer erachter te komen welke gegevens bij welke patiënt horen en noteer die de patiëntengegevens tabel.

		Foxhol	Ruinen	Uitgeest	Amstelveen	IgM deficiëntie	IgG deficiëntie	IgE deficiëntie	IgA deficiëntie	11-8-2001	16-10-1994	28-6-1986	31-12-1977
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
dhr. Vossen	1												
mw. Colt	2												
dhr. Spook	3												
mw. Nodam	4												
11-08-01	1												
16-10-94	2												
28-06-86	3												
31-12-77	4												
IgM deficiëntie	1												
IgG deficiëntie	2												
IgE deficiëntie	3												
IgA deficiëntie	4												

Patiëntengegevens tabel

Naam	Geboortedatum	Woonplaats	Deficiëntie
Dhr. Vossen			
Mw. Colt			
Dhr. Spook			
Mw. Nodam			

Stuur de ingevulde tabel voor 10 juli 2020 op naar nvml@nvml.nl en win een leuke prijs!
Veel succes!

Barbara Nikolov en de redacties van de Analyse en VAPvisie

Deze namen en verdere persoonlijke gegevens zijn fictief

CURSUSSEN EN OPLEIDINGEN NVML

Aanmelding NVML cursussen geopend:

Voor de volgende NVML cursussen is het aanmeldingsformulier te vinden op de website www.nvml.nl:

	Sluiting inschrijving	Cursusdata
Moleculair biologische technieken	29 september	Dinsdag 3 en woensdag 4 november
SAFER	6 oktober	Woensdag 11 november
Omgaan met uiteenlopende persoonlijkheden	6 oktober	Donderdag 12, 19 en 26 november
Cursus Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk (nieuwe inhoud)	27 oktober	Dinsdag 1 december
Cursus Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk (nieuwe inhoud)	27 oktober	Dinsdag 15 december
Morfologie voor kinderen en neonaten	27 oktober	Verplaatst van dinsdag 2 juni naar donderdag 17 december

In verband met Covid-19 worden alle NVML-nascholingsactiviteiten aangepast volgens de richtlijnen van de overheid/RIVM. De maatregelen hiervoor worden uitgewerkt. Zo nodig ontvangt u hierover na inschrijving nader bericht.

Opleidingen

Hogeschool Leiden

Centrum Bioscience en Diagnostiek

Titel: **Bloedcelmorfologie**

Datum: 3, 10 en 17 september 2020
(18.00-20.30 uur)

Inschrijven vóór: 20 augustus 2020

Titel: **Klinische chemie**

Datum: 15, 22, 29 september, 6, 27 oktober en 3 november 2020
(09.30-15.00 uur)

Inschrijven vóór: 1 september 2020

Titel: **ELISA theorie: achtergronden en kwaliteitsaspecten**

Datum: 16, 23 en 30 september 2020
(09.30-16.00 uur)

Inschrijven vóór: 5 augustus 2020

Titel: **Moleculaire biologie (basis)**

Datum: 17, 24 september, 1, 8, 29 oktober en 5 november 2020
(14.30-19.15 uur)

Inschrijven vóór: 6 augustus 2020

Titel: **Histologie**

Datum: 18 september, 2, 28 oktober, 6, 20 november en 4 december 2020 (09.30-15.00 uur)

Inschrijven vóór: 4 september 2020

Titel: **Introductie genome editing: CRISPR design**

Datum: 5 oktober 2020
(09.30-16.00 uur)

Inschrijven vóór: 24 augustus 2020

Titel: **Bloedgasanalyse**

Datum: 7 oktober 2020
(09.30-15.00 uur)

Inschrijven vóór: 23 september 2020
Hogeschool Leiden, CBD,
website: cbd.hsleiden.nl

Titel: **Timemanagement in het lab**

Datum: 27 oktober en 24 november 2020 (09.30-16.30 uur en 09.30-12.30 uur)

Inschrijven vóór: 15 september 2020

Titel: **Parasitologie**

Datum: 2, 3, 4, 11, 12 en 13 november 2020 (09.00-17.00 uur)

Inschrijven vóór: 21 september 2020

Titel: **Urineonderzoek**

Datum: 7 november 2020
(09.30-15.00 uur)

Inschrijven vóór: 25 september 2020

Titel: **Diagnostiek van veel voorkomende schimmelinfecties**

Datum: 16, 18, 23, 25, 30 november en 2 december 2020
(16.30-20.45 uur)

Inschrijven vóór: 5 oktober 2020

Titel: **Veilige microbiologische technieken (VMT)**

Datum: 9 en 10 december 2020
(09.30-16.00 uur)

Inschrijven vóór: 28 oktober 2020

Titel: **Hematologie**

Datum: 12, 26 januari, 9 februari, 2, 16 en 30 maart 2021
(09.30-15.00 uur)

Inschrijven vóór: 1 december 2020

Titel: **Virologie (basis)**

Datum: 12, 19 en 26 januari 2021
(16.00-19.00 uur)

Inschrijven vóór: 1 december 2020

Titel: **Malaria**

Datum: 21 en 22 januari 2021
(09.00-17.00 uur)

Inschrijven vóór: 10 december 2020

Titel: **Linux voor analisten**

Datum: 21, 22 januari (09.30-17.00 uur) en 5 maart 2021
(09.30-12.30 uur)

Inschrijven vóór: 10 december 2020

Titel: **Antibiotica nu en in de toekomst**

Datum: 21 januari 2021
(09.00-17.00 uur)

Inschrijven vóór: 4 december 2020

Titel: **Introductie tot de real-time PCR**

Datum: 2, 3 en 4 februari 2021
(09.30-16.30 uur)

Inschrijven vóór: 17 december 2020

Titel: **Kwaliteitsanalyse van real-time PCR amplificatiecurven**

Datum: 8 en 9 februari 2021
(09.30-15.15 uur)

Inschrijven vóór: 4 januari 2021

Titel: Markers en panels in de diagnostiek van testis en ovarium tumoren

Datum: 5 en 19 maart 2021
(09.30-15.00 uur)

Inschrijven vóór: 22 januari 2021

Titel: Validatie van assays en hun diagnostische toepassing

Datum: 10, 24 maart, 7 en 21 april 2021
(13.00-16.15 uur)

Inschrijven vóór: 27 januari 2021

Titel: Immunohistochemie

Datum: 12, 26 maart, 9, 23 april, 21 mei en 4 juni 2021 (09.30-15.00 uur)

Inschrijven vóór: 29 januari 2021

Titel: Macroscopie van de huid

Datum: 23 maart en 25 mei 2021
(09.30-15.00 uur)

Inschrijven vóór: 9 februari 2021

Raadpleeg onze website voor meer informatie en inschrijfformulieren. U kunt hier tevens informatie over onze maatwerktrajecten vinden.

Website: <http://cbd.hsleiden.nl>,

tel: 071-518 87 53, fax: 071-518 84 15,

e-mail: cbd@hsleiden.nl.

Hogeschool van Arnhem en Nijmegen

Cursussen, post-hbo en maatwerk-opleidingen

Life Sciences en Chemie

Titel: Basiskennis Chemie

Datum: e-learning
(vrije keus startdatum)

Omvang: 2,5 maand

Kosten: € 770

Titel: Bloedbankkunde

Start: 8 september 2020
(11 dagen 18.00 – 21.00 uur)

Kosten: € 1.240

Locatie: Nijmegen

Titel: Projectmanagement in het laboratorium

Start: 15 september 2020
(4 dagen 9.00-13.00 uur)

Kosten: € 1.040

Locatie: Nijmegen

Titel: Communicatie in het laboratorium

Start: 15 september
(4 dagen 14.00-18.00 uur)

Kosten: € 1.040

Locatie: Nijmegen

Titel: Kwalificatie en Validatie Engineer

Start: 15 september 2020
(18 dagen 15.30-20.00 uur)

Kosten: € 7.500

Locatie: Nijmegen

Titel: Kwaliteitszorg in het laboratorium

Start: 3 november 2020
(4 dagen 14.00-17.00 uur)

Kosten: € 1.040

Locatie: Nijmegen

Titel: Morfologie van het Urinesediment

Cursusdag: 5 november 2020
(9.30-17.00 uur)

Kosten: € 475

Locatie: Nijmegen

Voor aanmelding en aanvullende informatie over onze opleidingen kunt u terecht op onze website www.hanlifesciences.nl of stuur een mail naar info.lifesciences@han.nl.

Hogeschool Utrecht

*Institute for Life Sciences & Chemistry,
Heidelberglaan 7, Utrecht*

Cursus Using R for Data Analysis

Data Donderdagen 17, 24 september, 8, 15, 29 oktober en 5 november 2020

Omvang 6 bijeenkomsten van 12.30 – 17.00 uur

Kosten € 1.750,- (vrij van BTW)

Cursus Antibiotica en Resistentie

Data Woensdagen 14, 28 oktober en 4 november 2020

Omvang 3 bijeenkomsten van 9.30 – 16.30 uur

Kosten € 1.425,- (vrij van BTW)

Kijk op onze website www.hu.nl en u vindt onder Deeltijdopleidingen, Natuur en techniek, Life Sciences & Chemistry ons volledige cursusaanbod of kies voor keuzemodules uit het bachelor-onderwijs.

Wilt u de opleidingsbehoefte binnen uw organisatie in huis en op maat invullen, dan kunt u contact opnemen met onze adviseur Barbara Jerusalem via barbara.jerusalem@hu.nl.

De werkgroep e-learning is op zoek naar nieuwe leden!

De NVML is zeer actief in het aanbieden van een breed scala aan e-learning-modules voor alle laboratoriummedewerkers met aandachtsgebieden preanalyse, klinische chemie, hematologie, immunologie, microbiologie, pathologie etc. Op dit moment zijn er meer dan 35 ziekenhuizen die, voor na- en bijscholing van hun medewerkers, gebruik maken van de e-learningmodules en zijn er 38 e-learningmodules online. Om het pakket te blijven uitbreiden en relevant te houden voor het werkveld is de werkgroep op zoek naar nieuwe leden met als expertise, klinische chemie (2 personen) en pathologie (1 persoon).

De werkgroep komt ca. zes keer per jaar bij elkaar op het bureau van de NVML of vergadert digitaal. Besproken worden, onder andere, de behoefte aan nieuwe modules en de revisie van bestaande modules. Dit alles met als doel het pakket van e-learningmodules zo goed mogelijk aan te laten sluiten bij het werkveld. De modules worden gemaakt door professionals uit de diverse werkgebieden. De werkgroepleden initiëren contacten; zoeken en benaderen mensen voor het aanleveren van modules en bewaken de voortgang. Er is contact met verschillende beroepsverenigingen zoals NVKC en CMI.

Heeft u interesse om plaats te nemen in de werkgroep e-learning of heeft u vragen hieromtrent, neem dan contact op met het bureau van de NVML.

Stukken Algemene Ledenvergadering NVML 13 oktober 2020

Omdat de ALV verplaatst is naar 13 oktober zijn alleen de afgeronde stukken geplaatst. De overige stukken volgen eind september.

AGENDA

Agenda NVML

September

15	start NVML-cursus Stagebegeleiding (C)	Utrecht
24	start NVML-cursus Meewerkend Leidinggevende plus (C)	Utrecht
24	NVML-symposium Fertiliteit 2020	Amersfoort

Oktober

1	start NVML-cursus Malariadiagnostiek basis	Rotterdam
6	NVML-congres POCT 2020	Utrecht
6	start NVML-cursus Invloedrijk communiceren 2.0	Utrecht
7	NVML-cursus Malariadiagnostiek gevorderden	Rotterdam
13	NVML-congres Kwaliteit	Amersfoort
13	ALV (alleen voor NVML-leden)	Amersfoort
29	NVML-congres Medische Microbiologie: Wijzer over ouderen	Amersfoort

November

3	start NVML-cursus Moleculair-biologische technieken	Utrecht
11	NVML-cursus SAFER in het laboratorium	Utrecht
12	start NVML-cursus Omgaan met uiteenlopende persoonlijkheden	Utrecht
13	Regiobijeenkomst preanalyse	Utrecht
17	NVML WHAMM-bijeenkomst 2020	Amersfoort
24	NVML-cursus Hemoglobinoopathiën	Utrecht

December

1	NVML-cursus Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk (nieuwe inhoud)A	Utrecht
3	start NVML-cursus Praktische bloedcelmorfologie: van difje tot diagnose	Utrecht
15	NVML-cursus Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk (nieuwe inhoud)B	Utrecht
17	NVML-cursus Morfologie voor kinderen en neonaten	Utrecht

In verband met Covid-19 worden alle NVML-nascholingsactiviteiten aangepast volgens de richtlijnen van de overheid/RIVM. De maatregelen hiervoor worden uitgewerkt. Zo nodig ontvangt u hierover na inschrijving nader bericht.

Raadpleeg altijd de website voor de actuele situatie.

Agenda VAP activiteiten

Deze activiteiten zijn alleen toegankelijk voor VAPleden

8 oktober 2020	WHT dag, Van der Valk Houten
18 en 19 mei 2021	Tweedaagscongres Huidpathologie, de Ernst Sillem Hoeve in Den Dolder

Agenda overige activiteiten

Deze activiteiten worden niet door de VAP georganiseerd

30 september tot 1 oktober 2021 Europees cytologie congres, Polen

Om de agenda up to date te houden moeten data en gegevens tijdig doorgegeven worden aan de redactie. De redactie is niet verantwoordelijk voor de juistheid van de aangeleverde data en gegevens.

Oproep: praat mee over arbeidsvoorwaarden

De Commissie Sociale Belangen van de NVML zoekt leden die interesse hebben in het meedenken en -praten over arbeidsvoorwaarden, zoals: wat moet er in de komende cao opgenomen worden? Wat is de uitwerking van bepaalde cao-artikelen op de werkvloer? Welke rechten en plichten hebben labmedewerkers?

Saai? Welnee... de NVML krijgt regelmatig brieven van leden met vragen of problemen over de cao-uitleg. De com-

missieleden adviseren de bureaumede-werker hierover vanuit hun werkpraktijk. Ook praat de NVML mee in de Advies-raden voor de cao-onderhandelaars van FNV Zorg & Welzijn. Je ontvangt altijd de laatste informatie daarover, zodat je helemaal op de hoogte bent.

De commissie vergadert tweemaal per jaar in Utrecht, en communiceert verder via de e-mail.

Je bent welkom om een tijdje mee te draaien, of een keer bij een vergade-

ring te komen kijken. Ervaring is niet nodig, het is wel een voordeel als je interesse hebt in arbeidsvoorwaarden en/of actief bent (geweest) in een ondernemingsraad. Zoals één van onze oud-commissieleden het verwoordde: 'Ik heb nog nooit bij vrijwilligerswerk zoveel geleerd als in deze commissie!'

Meer informatie: Jenny Schoemaker, bureaumede-werker NVML sociale belangen, nvml.csb@nvml.nl.

NVML

Wilhelminapark 52, 3581 NM Utrecht. Telefoon: 030-2523792.
Telefonisch bereikbaar: maandag tot en met donderdag van
9:00 tot 14:00. E-mail: nvml@nvml.nl. Website: www.nvml.nl

Bereikbaarheid bureaumedewerkers

- Ria Blom (organisatie nascholing): maandag, dinsdag en donderdag.
- Marja Pospiech (beroepsinhoudelijke belangenbehartiging en algemene zaken): maandag tot en met donderdag.
- Alice Gosselt-Imming (organisatie nascholing): maandag, dinsdag en donderdag.
- Jenny Schoemaker (voorlichting en sociale belangenbehartiging): dinsdag t/m donderdag.

Lidmaatschap

Voor informatie en ledenadministratie kunt u contact opnemen met het bureau van de NVML.

Contributie

Lees het aanmeldingsformulier op de website: www.nvml.nl.

Opzegging

Schriftelijk vóór 1 november van het lopende jaar per post of e-mail.
Actuele informatie vindt u op onze website: www.nvml.nl/lid-worden

Bestuur

Voorzitter

mw. E.M. Wester, opleidingsadviseur, afdeling Personeel & Organisatie Atalmedial Amsterdam

Penningmeester

dhr. H.P.C. Schippers, afdeling Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde, LUMC, Leiden

Secretaris/vicevoorzitter

mw. M. van Straten, afdeling bacteriologie, Streeklab voor de Volksgezondheid, Haarlem (kandidaats).

Leden

dhr. B. Klein Brink, Manager Histopathologie, Gelre Ziekenhuizen, locatie Apeldoorn
dhr. M. Wouters, afdelingshoofd pré-analyse, Result Laboratorium Dordrecht

Adviseurs

Prof. dr. R. de Jonge, Amsterdam, klinisch chemicus
Eric C.J. Claas, Associate Professor, Molecular Medical Microbiologist, Leiden

NVML-Commissies en werkgroepen

Commissie Internationale Contacten

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Kwaliteit/Landelijk Kwaliteitsnetwerk (LKN)

Contactpersoon: Tjeerd Stevens

Commissie Nascholing

Contactpersoon: Alice Gosselt-Imming en Ria Blom, bureau NVML

Commissie/Platform Onderwijs

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML

Commissie Preanalyse

Contactpersoon: Marco Wouters

Commissie Sociale Belangen

Contactpersonen: Marja Pospiech en Jenny Schoemaker, bureau NVML

Landelijk fertiliteitsnetwerk (LFN)

Contactpersoon Wendy Hogervorst

POCT netwerkgroep

Contactpersoon: Gerdie Weijers

Redactiecommissie

Contactpersoon: Simone Priester-Vink

Werkgroep e-learning

Contactpersoon: Nelly IJzerman

Werkgroep Hoofdanalisten Klinische Chemie (WHAKC)

Contactpersoon: Eline Liesting

Werkgroep Hoofdanalisten Medische Microbiologie (WHAMM)

Contactpersoon: Marianne Egbers

Werkgroep Hoofdanalisten Pathologie (WHAPA)

Contactpersoon: Paul Rombout

Werkgroep Registratie

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML

Uitgave

Nederlandse vereniging van
bioMedisch laboratoriummedewerkers
NVML-leden ontvangen Analyse gratis.

Voor vragen over contributie, adreswijzigingen of andere administratieve zaken rond Analyse kunt u contact opnemen met het bureau van de NVML.

Redactiecoördinatie en eindredactie

Simone Priester-Vink

E-mail: nvml.redactie@nvml.nl

Redactie

mw. R. Blom, bureaumedewerker NVML

mw. L. Lauppe, Nova College, Beverwijk

dhr. I.C. Schut, Sanquin Plasmaproducts, Amsterdam

mw. P. Glasius, Laboratorium voor Medische Microbiologie, Noordwest Ziekenhuisgroep, Alkmaar

Mw. B. Nikolov, afdeling Laboratoriumtechniek, Nova College, Beverwijk

Mw. A.P.C. Barends-Kraak, Afdeling Klinische Chemie, ErasmusMC, Rotterdam

Druk

BDU

Advertentie-exploitatie

Business Service Centre

Mw. M. van der Vegt

Tel.: 0572 – 820995 / 0572-348200

e-mail: info@mi-communicatie.nl

Oplage

4100 exemplaren

Advertenties & kopij

Geldend advertentietarief: Tarievenlijst 2020

Sluitingsdatum advertenties

Voor nummer 4: 31 juli 2020

Inleverdata kopij

De redactie ziet korte berichten (bijvoorbeeld over opleidingen) voor Analyse 4 graag uiterlijk 10 juli 2020 tegemoet. Analyse 4 verschijnt op 11 augustus 2020.

Copyright

Het overnemen van artikelen is alleen toegestaan na toestemming van de redactiecoördinator.

De NVML aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor de gepubliceerde advertenties; evenmin houdt het opnemen van advertenties en industriële informatie een aanbeveling van de NVML in.

ISSN 0166-7688

DIAPATH

Constant Innovation in Anatomic Pathology



When Innovation meets proven Tissue Processing performance

Donatello™ Series 2 & Ottix, Een veilige oplossing voor u en uw laboratorium



Resultaten verkrijgen op een veilige manier, geschikt voor elke workflow / laboratorium:

Donatello™ Series 2, Tissue Processor

- Hoge nauwkeurigheid en reproduceerbaarheid
- De nieuwste generatie tissue processor voor histologische weefsels
- E.V.A. (Emergency eVolved Algorithm) is het eerste virtuele intelligente algoritme ooit geïmplementeerd op een tissue-processor ter wereld
- SelfCheck: Automatische, preventieve en diagnostische controle op de hardware van het instrument vóór het starten van het proces

Ottix, niet-toxische vervangers van alcohol en xyleen

- Betrouwbaarheid in resultaten
- Laboratorium workflow-verbeteringen
- Uitstekende snijbaarheid op de microtoom van o.a. vette weefsels
- Veilige verwerking
- Gepatenteerd product

Ontdek meer op www.diapath.com



Made in Italy



Watch the video

