

Schade aan de mucosale barrière: nieuwe parameters en de rol van microbiotica

Mucosal barrier injury: new parameters and the role of microbiota

Auteur M.J. van Vliet

Trefwoorden acute myeloïde leukemie, intestinale microbiota, kinderen, mucositis, plasma citrulline, *Streptococcus viridans*

Keywords acute myeloid leukemia, intestinal microbiota, mucositis, pediatric, plasma citrulline, viridans streptococci

Samenvatting

Op 7 april 2010 promoveerde dhr. drs. M.J. van Vliet aan de Rijksuniversiteit van Groningen op het promotieonderzoek getiteld 'Mucosal barrier injury - new parameters and the role of microbiota', onder begeleiding van promotor dhr. prof. dr. W.A. Kamps en copromotores mevr. dr. E.S.J.M. de Bont, dhr. dr. W.J.E. Tissing en dhr. dr. H.J.M. Harmsen. Het onderzoek richtte zich op klinische parameters van intestinale mucositis en de rol van de commensale intestinale microbiota op het ontstaan van deze chemotherapie-geïnduceerde mucositis. Dit is van belang gezien het feit dat het interveniëren in de samenstelling van de intestinale microbiota mogelijk een aangrijpingspunt is in de preventie en behandeling van mucositis.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2010;7:122-4)

Summary

This year, at April 7th, M.J. van Vliet defended his thesis at the university of Groningen. The title of his dissertation was 'Mucosal barrier injury - new parameters and the role of microbiota', his promotor was W.A. Kamps and his copromotors were E.S.J.M. de Bont, W.J.E. Tissing and H.J.M. Harmsen. The research described in his thesis was aimed at clinical parameters for mucosal barrier injury and at the role of the commensal intestinal microbiota in the pathogenesis of this chemotherapy-induced mucositis. This is important as intervening in the intestinal microbial composition might play a role in the prevention and treatment of mucositis.

Inleiding

Mucositis is één van de meest voorkomende bijwerkingen van zowel chemotherapeutische als radiotherapeutische behandelingen. Mucositis, ook bekend onder de term schade aan de mucosale barrière, is een beschadiging van de slijmvliezen van het intestinale systeem. Op cellulair niveau wordt mucositis gekenmerkt door inflammatie en celdood.¹ Klinisch kenmerkt mucositis zich door klachten als keelpijn, pijn bij het slikken, misselijkheid, braken en diarree. Daarnaast resulteert de beschadiging van de slijmvliezen in een afname van de barrièrefunctie van deze slijmvliezen, hetgeen betekent dat bacteriën gemakkelijker het men-

selijk lichaam kunnen binnendringen, alwaar zij infecties kunnen veroorzaken.² De beschadiging van de slijmvliezen van de mond en keel is bij inspectie zichtbaar als roodheid, zwelling en blaarvorming. Mucositis in de darm is tot op heden echter alleen vast te stellen met subjectieve en onnauwkeurige scoringssystemen. Deze scoringssystemen zijn niet gevalideerd voor gebruik bij kinderen en houden geen rekening met het ontwikkelingsniveau (zoals de zindelijkheid) van het kind.

De commensale intestinale microbiota spelen een rol van betekenis in (inflammatoire) aandoeningen als colitis ulcerosa, M. crohn, coloncarcinoom en

diabetes mellitus.³⁻⁵ De rol van de intestinale microbiota in de pathogenese van chemotherapie-geïnduceerde mucositis is tot op heden niet onderzocht.

Studie-uitkomsten

Om bij kinderen intestinale mucositis te kunnen onderzoeken, zijn objectieve parameters noodzakelijk. Wij onderzochten parameters die inflammatie (fecaal calprotectine, plasma interleukine 8) en parameters die celverval (plasma citrulline, fecaal humaan DNA) zouden kunnen reflecteren in een populatie kinderen met acute myeloïde leukemie (AML). Plasma citrulline bleek sterk te correleren met de mate van klachten bij patiënten en lijkt een veelbelovende parameter voor intestinale mucositis.⁶

Verstoring van het delicate milieu intérieur van de darm is geassocieerd met het ontstaan van diverse ziekten en aandoeningen. De verstoring van dit microbiële evenwicht van de darm door chemotherapeutica en/of antibiotica, alsmede de relatie met het ontstaan van mucositis was echter tot op heden nauwelijks onderzocht. Het feit dat een meerderheid van de intestinale microbiota niet te detecteren is met conventionele kweektechnieken is een belangrijke complicerende factor. Met behulp van moleculaire technieken als fluorescentie-in-situhybridisatieonderzoek en denaturerende gradiënt gelelektroforese (DGGE) werd het effect van zowel chemotherapeutica als antibiotica onderzocht op de samenstelling van de intestinale microbiota. Aangetoond werd dat in kinderen die behandeld worden voor AML, de commensale intestinale microbiota, die normaliter een belangrijke bron van bescherming biedt tegen inflammatie en infectie, grotendeels verdwijnen. Potentieel pathogene bacteriën als enterokokken krijgen hierdoor de kans zich te vermenigvuldigen. In-vitro experimenten maakten aannemelijk dat chemotherapeutica een belangrijke rol spelen in de verstoring van de intestinale microbiota.⁷

In een populatie volwassen patiënten die myeloablatieve behandeling ondergingen voorafgaand aan stamceltransplantatie, werd vervolgens aangetoond dat de chemotherapie-geïnduceerde veranderingen in het bacteriële equilibrium van de darm in de tijd samenvallen met het ontstaan van intestinale mucositis, gemeten aan de hand van plasma citrulline. Wij postuleerden vervolgens 5 mechanismen die van belang zijn bij de relatie tussen veranderingen in de commensale microbiota en de pathogenese van intestinale mucositis. De intestinale microbiota beïnvloeden de intestinale inflammatie, de permeabi-

liteit van de darm, de samenstelling van de darmmucus, de reparatiemechanismen in de darm en de activering van immuunefectormoleculen. Op deze wijzen zouden de microbiota een belangrijke factor kunnen zijn bij het tot stand komen en de ernst van intestinale mucositis. Nader onderzoek zal moeten uitwijzen of microbiota inderdaad een rol van betekenis spelen in de pathogenese van intestinale mucositis en of microbiota opgenomen moeten worden in het wijdverbreide mucositis-model van Sonis.¹

De microbiota van de darm bestaan niet alleen uit bacteriën, ook fungi zijn onderdeel van de microbiota. Het effect van profylaxe gericht tegen *Aspergillus* spp. op de samenstelling van de fungi in de darm werd onderzocht. Langdurig profylactisch gebruik van itraconazol en amfotericine B is geassocieerd met een toename van fungi in de darm. Itraconazol lijkt hierbij een belangrijker rol te spelen dan amfotericine B. De fungi bleken bovendien na verloop van enkele weken in hoge mate resistent te zijn tegen antifungale medicatie. Dit is van belang gezien het feit dat intestinale fungi een belangrijke verwekker zijn van sepsis in imuungecompromitteerde patiënten.⁸

De microbiota van het intestinale systeem spelen een belangrijke rol in het onderhouden van de mechanische barrièrefunctie van de darm (kolonisatieresistentie). Als deze barrière onverhoopt toch teloor gaat, dan vormen dezelfde bacteriën echter een serieuze bedreiging voor de gezondheid van de mens. Streptokokken van de viridans-groep (VGS) behoren tot de meest voorkomende verwekkers van sepsis bij imuungecompromitteerde patiënten.⁹ Tot op heden is het onduidelijk via welke route deze bacteriën de bloedbaan binnendringen. Wij ontwikkelden een nieuwe en tijdsbesparende moleculaire techniek, *glucose kinase (gki)*-gen-polymerasekettingreactie-DGGE, waarbij door middel van PCR gekeken wordt naar de sequentie van het *gki*-gen, die gebruikt kan worden bij het onderzoek naar de porte d'entrée van VGS wanneer zij het lichaam binnendringen. Een eerste pilotstudie lijkt erop te wijzen dat de orofarynx de porte d'entrée is voor VGS.¹⁰

Conclusie

Dit proefschrift bevat de resultaten van onderzoek naar de relatie tussen commensale microbiota en de mens in het licht van chemotherapie-geïnduceerde mucositis. Chemotherapeutica en (profylactisch gebruikte) antibiotica zijn geassocieerd met veranderingen in de commensale intestinale microbiota, die

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Plasma citrulline is een objectieve parameter voor intestinale chemotherapie-geïnduceerde mucositis bij kinderen.
2. Chemotherapeutische behandeling voor acute myeloïde leukemie bij kinderen en myeloablatieve behandeling bij volwassenen zijn geassocieerd met het verdwijnen van de protectieve darmmicrobiota en de uitgroei van potentieel pathogene enterokokken.
3. Chemotherapie-geïnduceerde veranderingen in de intestinale microbiota vallen in de tijd samen met het ontstaan van intestinale mucositis

normaliter beschermen tegen invasieve infecties. In de tijd hangen deze veranderingen samen met het ontstaan van intestinale mucositis. Nader onderzoek zal moeten laten zien of het hierbij gaat om een causaal verband en, of beïnvloeding van de intestinale microbiota de incidentie van mucositis kan reduceren.

Referenties

1. Sonis ST. *The pathobiology of mucositis*. *Nat Rev Cancer* 2004;4:277-84.
2. Blijlevens NM. *Implications of treatment-induced mucosal barrier injury*. *Curr Opin Oncol* 2005;17:605-10.
3. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. *Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice*. *Diabetes* 2008;57:1470-81.
4. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. *Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:13780-5.
5. Kanazawa K, Konishi F, Mitsuoka T, Terada A, Itoh K, Narushima S, et al. *Factors influencing the development of sigmoid colon cancer*. *Bacteriologic and biochemical studies*. *Cancer* 1996;77:1701-6.
6. Van Vliet MJ, Tissing WJ, Rings EH, Koetse HA, Stellaard F, Kamps WA, et al. *Citrulline as a marker for chemotherapy induced mucosal barrier injury in pediatric patients*. *Pediatr Blood Cancer* 2009;53:1188-94.
7. Van Vliet MJ, Tissing WJ, Dun CA, Meessen NE, Kamps WA, De Bont ES, et al. *Chemotherapy treatment in pediatric pa-*

tients with acute myeloid leukemia receiving antimicrobial prophylaxis leads to a relative increase of colonization with potentially pathogenic bacteria in the gut. *Clin Infect Dis* 2009;49:262-70.

8. Wisplinghoff H, Bisschoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. *Clin Infect Dis* 2004;39:309-17.
9. Bochud PY, Eggiman P, Calandra T, Venmelle G, Saghafi L, Francioli P. *Bacteremia due to viridans streptococcus in neutropenic patients with cancer: clinical spectrum and risk factors*. *Clin Infect Dis* 1994;18:25-31.
10. Van Vliet MJ, Tissing WJ, De Bont ES, Meessen NE, Kamps WA, Harmsen HJ. *Denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gki genes: a new technique for tracking streptococci*. *J Clin Microbiol* 2009;47:2181-6.

Ontvangen 19 maart 2010, geaccepteerd 19 maart 2010.

Correspondentieadres

Dhr. dr. M.J. van Vliet, kinderarts in opleiding

Beatrix kinderziekenhuis
Universitair Medisch Centrum Groningen
Hanzeplein 1
9713 GZ Groningen
Tel.: 050 361 42 13
E-mailadres: m.j.van.vliet@bkk.umcg.nl

Belangenconflict: geen gemeld.
Financiële ondersteuning: Stichting Kinderoncologie Groningen.