

Inflammatory cytokines in obstructive jaundice

Citation for published version (APA):

Bemelmans, M. H. A. (1994). *Inflammatory cytokines in obstructive jaundice*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19940527mb>

Document status and date:

Published: 01/01/1994

DOI:

[10.26481/dis.19940527mb](https://doi.org/10.26481/dis.19940527mb)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Chapter 11

SUMMARY / SAMENVATTING

Summary

It has been recognized that surgery in patients with obstructive jaundice is associated with a high morbidity and mortality. Despite various preoperative therapeutic treatments, performed to reduce the increased risk of complications, the morbidity remains relatively high. Especially infectious complications are a major drawback for surgical procedures in these patients. Although various explanations for this phenomenon have been put forward, the definitive solution to the pathophysiological abnormalities has not yet been found. The aim of this thesis was to further unravel the pathophysiology underlying the complications observed in obstructive jaundice.

In Chapter 1, an introduction is given of inflammation in general and more specifically of inflammatory derangements during obstructive jaundice. The underlying mechanism of these derangements is still unclear and the discovery of cytokines has offered new tools to elucidate the pathophysiology of inflammation. Especially the inflammatory cytokines IL-6, TNF and the two soluble TNF receptors were considered to be important mediators of the inflammatory response. IL-6 is a cytokine that is normally not detectable in the circulation. However, during trauma or inflammation, a strong increase in IL-6 levels is observed. TNF is shown to be involved in several diseases, especially in the inflammatory diseases and the soluble TNF receptors are considered to be involved in regulation of these TNF levels. These cytokines were particularly of interest since one of the inducers of these inflammatory cytokines, endotoxin, was reported to be present in the circulation of jaundiced patients and animals.

The possible role of the cytokines IL-6, TNF and the soluble TNF receptors in inflammatory diseases and in obstructive jaundice is discussed.

An outline of the experiments which were performed to elucidate the problems put forward in the aim of the study and a discussion of these experiments is presented in Chapter 2. Moreover, recent techniques developed in the laboratory which enabled the studies reported are described. These include the TNF measurement in mice using an ELISA and a bio-assay, the sTNFR measurement in mice using an ELISA, and the studies with the ¹²⁵I-labelled TNF and sTNFR. The ELISA used was shown to recognize "total" TNF. This includes both biologically active TNF and TNF which is not biologically but immunologically detectable. Since the bio-assay measured only bioactive TNF, it was possible to compare biologically active as well as immunologically detectable TNF in the circulation during obstructive jaundice. In addition, the role

of both soluble TNF receptors is discussed and a detection method developed for these TNF receptors is presented.

Furthermore, the pitfalls of TNF measurements are discussed shortly. It is explained that TNF can be present in the circulation in a biologically active form and in a biologically inactive form, the latter being immunologically detectable. It is shown that some assays measure bioactive TNF, while others detect bioactive as well as bioinactive TNF ("total" TNF or immunologically detectable TNF). Since it is not always clear which assay is used, comparison of data from different research groups remains difficult.

In Chapter 3, experiments are reported that describe the presence of IL-6 and TNF in the sera of mice with an experimental biliary obstruction (BDL). Following the surgical trauma, a rapid increase in circulating IL-6 is observed. Thereafter, a slow decrease is observed. However, while IL-6 levels in sham operated mice decreased after the operation, IL-6 levels in BDL mice show a second increase after approximately 12 days. Further, the data demonstrate that TNF is present in the circulation of BDL mice. This in contrast to sham mice in which no circulating TNF could be detected. Cytokine production by macrophages of BDL mice in response to LPS was significantly higher compared to cytokine production by macrophages of sham mice, which is indicative for the inflammatory status present in these mice.

The results indicate that during biliary obstruction an inflammatory reaction is present which is reflected by the presence of circulating inflammatory cytokines IL-6 and TNF and by activated macrophages.

In Chapter 4, a model of temporary normothermic bilateral renal ischemia was used to evaluate mortality after surgery in obstructive jaundice. This trauma model was originally described by Zager and later also used by Maessen and Greve. Maessen et al. showed that ischemic injury to the kidneys was exacerbated by endotoxemia and showed that TNF played an important role in this mechanism. Since TNF and endotoxin are present in mice with biliary obstruction, this model was used to investigate whether surgery in obstructive jaundice was accompanied by an increased mortality. Moreover, this model was also used to investigate the effectiveness of several interventions before surgery in obstructive jaundice.

The data show that bilateral renal ischemia results in increased levels of circulating TNF and a mortality of approximately 50%. Since TNF is suggested to play an important role in the observed mortality, the effect of anti-TNF treatment was tested. Anti-TNF treatment by a monoclonal anti-TNF antibody reduced circulating TNF levels, but failed to reduce the mortality. This was also the case for pentoxifylline, a known TNF inhibitor. Only lactulose resulted in a significant reduction of mortality, although the reduction in TNF was not as impressive as after anti-TNF treatment.

Despite the fact that TNF is an important cytokine in several diseases, these results suggest that TNF is not the only mediator involved. Other still unknown factors, which are affected by lactulose, are supposedly also involved.

Experiments on the nature of TNF in obstructive jaundice are presented in Chapter 5. Moreover, the presence of soluble TNF receptors (sTNFR) in the circulation of these mice was studied with ELISA's developed for this purpose. The data reveal that TNF is predominantly present in the circulation of jaundiced mice in a biologically inactive form. This biological inactivity is probably achieved, at least partially, because the increased levels of TNF are accompanied by increased levels of both sTNFR, which are sufficient to prevent the presence of bioactive TNF in the circulation.

Surgical trauma in biliary obstructed mice was accompanied by a high mortality and high TNF levels as is shown in Chapter 4. In Chapter 5, it is shown that this TNF is not biologically active. Moreover, such a trauma is accompanied by a strong increase in the levels of both sTNFR. Comparison of the sTNFR after the operation between the survivors and non-survivors showed that the sTNFR levels in the survivors were significantly lower than those of non-survivors.

The results of these experiments indicate that obstructive jaundice is accompanied by inflammation reflected by the presence of circulating TNF. However, this TNF is not biologically active, probably because of inactivation by soluble TNF receptors. After a surgical trauma, circulating sTNFR rather than TNF are shown to correlate well with mortality in these mice.

The experiments of the previous Chapters reveal that TNF is present in bioactive as well as immunologically detectable form and it is suggested that sTNFR are important for inactivation of TNF. Moreover, previous reports suggest that TNF and sTNFR are removed from the circulation by the kidneys. Therefore, in Chapter 6, the role of the kidney in clearance of TNF is investigated. Moreover, the nature of TNF (biologically active or immunologically detectable) after LPS injection is evaluated. It is shown that the kidney is the most important organ for TNF clearance. Furthermore, the data reveal that circulating TNF is present in two forms, a biologically active form and an immunologically detectable form. While the removal of biologically active TNF in mice is independent of renal function, the data show that immunologically detectable TNF is removed more slowly from the circulation in nephrectomized mice. In addition, the studies using radiolabelled TNF strongly suggest that sTNFR-P75 rather than sTNFR-P55 is involved in inactivation and clearance of TNF from the circulation.

While in Chapter 6, the attention is focussed on TNF and its clearance, in Chapter 7, the clearance of sTNFR from the circulation is studied. The nephrectomy studies show that the kidney is also a very important organ for clearance of both soluble TNF receptors from the circulation. The data show that removal of the kidneys leads within minutes to increased sTNFR levels in the circulation. However, after several hours, despite absence of both kidneys, the body is capable of installing a new equilibrium leading to plateau levels of soluble TNF receptors, although these plateau levels are maintained at the expense of higher serum levels. These results suggest that sTNFR clearance is also regulated by other organs.

The studies using radioactive labelled sTNFR-P75 reveal that nephrectomy results in a strongly reduced clearance rate of sTNFR-P75 compared to the control mice and

support therefore the importance of the kidney for clearance. The distribution patterns after ^{125}I -sTNFR-P75 injection are also in line with the fact that the kidney is an important clearance organ since major amounts of radioactivity are found in the urine. Next to the kidney, other organs, such as liver, spleen and lungs are also involved in sTNFR clearance.

While the clearance and the function of both soluble TNF receptors was studied extensively in the previous Chapters, agents responsible for the release of soluble TNF receptors in several disease states remain unclear. Therefore, the release of sTNFR in a murine model was studied in Chapter 8 and 9 by triggering this release via different pathways. The results demonstrate that increased levels of sTNFR *in vivo* can be induced by endotoxin as well as by human or murine TNF. Nevertheless, pretreatment of the mice injected with endotoxin with anti-TNF antibodies still results in increased sTNFR levels while TNF is hardly measurable. Pretreating the mice with an anti-IFN γ antibody reveal that despite a clear TNF reducing effect, the effect on sTNFR levels is less pronounced. LIF treatment reduces only sTNFR-P55 levels together with TNF levels while sTNFR-P75 are unaffected. While IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) pretreatment can prevent mortality after a lethal endotoxin injection, treating the mice with an IL-1ra has no effect whatsoever on TNF or sTNFR levels. The conclusion of these experiments is that although TNF, IFN- γ , LIF and IL-1 are important cytokines especially in regulation of mortality after endotoxin injection, they do not seem to be of ultimate importance in regulation of sTNFR levels.

Since in diseases where T-cellular processes are involved such as in rheumatoid arthritis TNF is present in the circulation, it is studied in Chapter 9 whether T-cell activation in an experimental model also results in the release of sTNFR. To this end, mice were injected with a monoclonal antibody directed against the murine CD3 molecule. The data show that besides LPS and TNF also T-cell activation by anti-CD3 is capable of inducing the release of both sTNFR in the circulation. However, the kinetics of LPS induced sTNFR release and anti-CD3 induced sTNFR release are clearly different. After T-cell activation, peak levels of sTNFR-P55 are reached much later compared to the situation after LPS injection.

Investigation of the role of TNF and IFN- γ revealed that mAb's against these cytokines reduced TNF as well as sTNFR levels. In clinical situations pentoxifylline and steroids are used to prevent the anti-CD3 induced side effects. Therefore, the effect of these agents on sTNFR levels were studied. The data obtained show that both agents reduce TNF and sTNFR-P55 levels without affecting sTNFR-P75 levels.

These results suggest that also T-cellular activation by an anti-CD3 mAb is capable of inducing the release of both sTNFR. Although the cytokines tested seem to be involved in this mechanism, none of them seems to be exclusively responsible for the increase in sTNFR levels.

The results of the previous Chapters showed that inflammation is accompanied by TNF, sTNFR and IL-6 release. Moreover, the kidneys are shown to be of major

importance for clearance of TNF and sTNFR. Therefore, in the last Chapter, cytokine levels of IL-6, TNF, and sTNFR together with the renal function were monitored in septic patients with positive blood cultures. The data revealed that the amount of circulating IL-6 as well as levels of both sTNFR correlated with mortality. This was in contrast to circulating TNF which showed no correlation with mortality. A possible explanation for the fact that TNF reveals no correlation with mortality could be the short $t_{1/2}$ of TNF and the rapid inactivation of the TNF molecule when present in the circulation. Moreover, TNF production is not a continuous process.

However, sTNFR levels as expected correlated also strongly with creatinine. On its turn, creatinine showed a good correlation with mortality, a fact which is known for a period of time. These data show that increased cytokine levels are present in septic patients. Moreover, increased sTNFR levels are, at least partially, the result of a decreased renal function and are likewise correlated with mortality.

These results show that cytokine regulation in experimental animals and in septic patients is essentially the same. Moreover, as in mice, the kidney seems to be an important organ for sTNFR clearance in these patients. This leads to the suggestion that the pathophysiology underlying cytokine release in patients and experimental animals is similar.

Samenvatting

Het is bekend dat chirurgische procedures in patiënten met obstructie icterus gepaard gaan met een hoge morbiditeit en mortaliteit. Ondanks verschillende preoperatieve therapeutische voorzorgsmaatregelen gericht op verlaging van deze complicaties, blijft de morbiditeit relatief hoog. Met name de infectieuze complicaties zijn een oorzaak voor de terughoudendheid voor chirurgische procedures bij deze patiënten. Hoewel dit probleem reeds vele jaren bekend is, is de oplossing voor de pathofysiologische afwijkingen die hiermee verbonden zijn nog steeds niet gevonden. Het doel van dit proefschrift is de verschillende pathofysiologische mechanismen die ten grondslag liggen aan deze morbiditeit en mortaliteit, verder te ontrafelen.

In hoofdstuk 1 wordt een introductie gegeven over ontsteking in het algemeen en over de meer specifieke onstekingsafwijkingen die optreden tijdens afsluiting van de galwegen (obstructie icterus) in patiënten. De onderliggende oorzaken van deze afwijkingen zijn nog steeds niet duidelijk. De ontdekking van de cytokines, kleine hormoonachtige eiwitten die een belangrijke rol spelen bij ontstekingsreacties, bood een nieuwe mogelijkheid om deze afwijkingen verder te ontrafelen. Met name de inflammatoire cytokines Interleukine-6 (IL-6), Tumor Necrosis Factor (TNF) en de twee oplosbare TNF-receptoren werden beschouwd als zeer belangrijke cytokines in dit proces. IL-6 is een cytokine dat normaal niet of nauwelijks meetbaar is in de circulatie. Echter, tijdens trauma of gedurende ontstekingsprocessen wordt een sterke stijging gezien van dit cytokine in de circulatie.

TNF wordt aangetroffen in de circulatie tijdens verschillende ziektes, met name tijdens inflammatoire ziektes. De oplosbare TNF receptoren op hun beurt worden beschouwd als regulatoren van de hoeveelheden van TNF in de circulatie, omdat ze door binding aan het TNF molecuul, TNF kunnen inactiveren.

Onze interesse ging uit naar deze cytokines omdat endotoxine (LPS), een van de veroorzakers van deze inflammatoire cytokines, aanwezig is in de circulatie van patiënten met obstructie icterus en dieren met een experimentele afsluiting van de galwegen. In Hoofdstuk 1 wordt de mogelijke rol van de cytokines IL-6, TNF en de oplosbare TNF receptoren tijdens inflammatie en obstructie icterus besproken.

In hoofdstuk 2 wordt er een beschrijving gegeven van de experimenten die uitgevoerd zijn om de in de inleiding besproken vragen te beantwoorden. Aansluitend hieraan worden de resultaten van de proeven besproken. Bovendien worden de technieken die bij deze experimenten in het laboratorium gebruikt zijn beschreven. Hieronder vallen de TNF meting in de circulatie van de muizen met behulp van een Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) en een bioassay. Van de ELISA is aangetoond dat deze assay de "totale" hoeveelheid TNF meet. Hieronder vallen niet alleen het biologisch actieve TNF, maar ook het TNF dat alleen immunologisch detecteerbaar is. Gezien het feit dat de bioassay alleen vrij bioactief TNF kan meten, was het mogelijk met deze twee assays de spiegels van het immunologisch en het biologisch actieve TNF te

vergelijken tijdens obstructie icterus. Naast de TNF meting wordt ook de meting van de oplosbare TNF receptoren besproken.

Om de regulatie van TNF en de oplosbare TNF receptoren te onderzoeken, zijn deze eiwitten radioactief gelabeld en aansluitend geïnjecteerd.

Omdat de TNF assay een aantal problemen kent, zijn deze kort aangestipt in dit hoofdstuk. Sommige assays herkennen alleen biologisch actief TNF. Andere assays herkennen ook het TNF molecuul dat geïnactiveerd is en daarom immunologisch detecteerbaar wordt genoemd. Gezien het feit dat het niet altijd duidelijk is welke assays gebruikt zijn en dus welk TNF is onderzocht, is het moeilijk verschillende artikelen met elkaar te vergelijken.

In hoofdstuk 3 zijn de metingen beschreven van de cytokines IL-6 en TNF in de circulatie van muizen met een experimentele afsluiting van de galwegen.

De data laten zien, dat er binnen 1-2 uur na de operatie een stijging te zien is van het circulerende IL-6. Na een piek na ongeveer 3 uur wordt er een snelle daling gezien. In tegenstelling tot sham geopereerde muizen waarin de IL-6 spiegels blijven dalen, wordt er in de groep met een galwegafsluiting een tweede stijging gezien na 12 dagen. Voorts laten de resultaten zien dat TNF wordt aangetroffen in de circulatie van muizen met een galwegafsluiting, terwijl in de sham geopereerde muizen geen TNF gemeten wordt. Om te onderzoeken of de macrofagen van galweggeobstrueerde muizen in een geactiveerde toestand waren is de cytokine productie gemeten, zowel spontaan als na stimulatie. De data laten zien dat de macrofagen van de galweggeobstrueerde muizen spontaan reeds veel meer cytokines (zowel IL-6 als TNF) produceren en dat dit verschil in cytokine spiegels ook na stimulatie met bijvoorbeeld endotoxine aanwezig blijft.

Deze resultaten suggereren dat er tijdens afsluiting van de galwegen een ontstekingsreactie aanwezig is hetgeen wordt bevestigd door de verhoogde cytokine spiegels in de circulatie en door de aanwezigheid van geactiveerde macrofagen.

In hoofdstuk 4 wordt een model van tijdelijke normotherme bilaterale nierischemie gebruikt om de mortaliteit na een chirurgisch trauma bij obstructe icterus te evalueren. Dit model was oorspronkelijk beschreven door Zager en later ook gebruikt door Maessen en Greve. Maessen toonde aan dat een ischemische beschadiging van de nier en mortaliteit werden verhoogd door toediening van endotoxine en dat TNF daarbij een rol speelde. Omdat galwegafsluiting gepaard gaat met de aanwezigheid van TNF en endotoxine in de circulatie, werd er in dit model bekeken of de bilaterale ischemie van de nier gepaard gaat met een hoge mortaliteit. Voorts werd dit model gebruikt om de effecten van interventies voor de chirurgische ingrepen te bestuderen. De data laten zien dat er na bovengenoemd trauma een mortaliteit optreedt van zo'n 50%. Voorts blijken de spiegels van TNF sterk te stijgen. Omdat TNF wordt gezien als een cytokine dat potentieel een belangrijke rol speelt in deze mortaliteit, is het effect van anti-TNF behandeling onderzocht. Behandeling met een monoclonaal antilichaam tegen TNF leidde tot een sterke daling van het circulerende TNF, maar resulteerde niet in een

daling van de mortaliteit. Dezelfde resultaten werden gezien na toediening van pentoxifylline, een andere bekende TNF remmer. Alleen de toediening van lactulose oraal leidde tot een daling van de mortaliteit en een kleine verlaging van de TNF spiegels. Ondanks het feit dat TNF een belangrijk cytokine is tijdens vele ziektes, suggereren deze data dat TNF zeker niet de enige mediator is in de mortaliteit na chirurgie in muizen met een experimentele afsluiting van de galwegen. Andere nog onbekende factoren die beïnvloed worden door lactulose lijken in deze ook een rol te spelen.

In hoofdstuk 5 worden de resultaten besproken van de experimenten die zijn verricht om te onderzoeken of het TNF dat aanwezig is in de circulatie tijdens obstructie icterus biologisch dan wel immunologisch actief is. Bovendien wordt de aanwezigheid van de oplosbare TNF receptoren bij dit ziektebeeld besproken. De data laten zien dat TNF in de circulatie van muizen met een experimentele galwegafsluiting voornamelijk in de biologisch niet actieve vorm aanwezig is. Deze inactivatie wordt waarschijnlijk deels bereikt door het feit dat verhoogde TNF spiegels gepaard gaan met hoge TNF receptor spiegels. Deze receptoren zijn op hun beurt in staat om het vrijgekomen TNF te inactiveren.

Zoals in Hoofdstuk 4 is beschreven, leidt een chirurgisch trauma bij muizen met een galwegafsluiting tot een hoge mortaliteit en hoge TNF spiegels. In Hoofdstuk 5 wordt er aangetoond dat dit TNF niet biologisch actief is. Naast de TNF stijging wordt er ook een stijging van de spiegels van de oplosbare TNF receptoren gezien. Vergelijking van de spiegels van de oplosbare TNF receptoren tussen de muizen die het trauma overleven en de spiegels van hen die niet overleven, laat zien dat de spiegels in de niet overlevende dieren significant hoger zijn.

De resultaten laten zien dat trauma bij galweggeobstrueerde muizen leidt tot hoge spiegels van biologisch niet actief TNF, waarschijnlijk ten gevolge van inactivatie door oplosbare TNF receptoren. Daarnaast wordt aangetoond dat spiegels van oplosbare TNF receptoren een goede correlatie laten zien met de mortaliteit.

De resultaten van bovenstaande studies laten zien dat TNF aanwezig kan zijn in de circulatie in twee vormen, bioactief en immunologisch detecteerbaar, en dat oplosbare TNF receptoren belangrijk zijn voor inactivatie van TNF. Bovendien zijn er sterke aanwijzingen dat TNF en oplosbare TNF receptoren worden verwijderd uit de circulatie door de nier. Op grond van dit feit is in hoofdstuk 6 de klaring van TNF door de nieren onderzocht. Daarnaast werd er onderzocht of TNF aanwezig na LPS toediening, biologisch actief was.

De data laten zien dat de nier het belangrijkste orgaan is voor TNF klaring. Terwijl de klaring van bioactief TNF onafhankelijk van de nierfunctie verloopt, blijkt immunologisch detecteerbaar TNF veel trager te worden verwijderd na verwijdering van de nieren. Bovendien laten de resultaten met de studie met ¹²⁵I gelabeld TNF in de muis zien dat de 75 kDa receptor verantwoordelijk is voor inactivatie en klaring van TNF uit de circulatie.

Terwijl in Hoofdstuk 6 de nadruk ligt op de klaring van TNF, wordt er in Hoofdstuk 7 de klaring van de oplosbare TNF receptoren onderzocht. De resultaten laten zien dat ook de oplosbare TNF receptoren worden geklaard door de nier. Reeds enkele minuten na nefrectomie blijkt er een sterke stijging van de plasma spiegels op te treden van de TNF receptoren, die echter na enige tijd een nieuw plateau bereiken. Deze resultaten suggereren dat er ook andere organen verantwoordelijk zijn voor klaring van de oplosbare TNF receptoren. Dit hernieuwde evenwicht gaat echter gepaard met hogere plamaspiegels.

In aansluiting aan de voorgaande hypothese ondersteunen de resultaten van de labelingsproef het feit dat de 75 kDa receptor de belangrijkste inactivator is van TNF. Het distributie patroon van de gelabelde oplosbare TNF receptor laat zien dat de receptor naast in de nier, ook in de lever, milt en longen kan worden aangetoond.

Hoewel in de vorige Hoofdstukken de functie van de oplosbare TNF receptoren is besproken, blijven de stoffen die verantwoordelijk zijn voor de release van deze receptoren nog onduidelijk. Om deze vraag te beantwoorden is in hoofdstuk 8 en 9 de release van deze receptoren bestudeerd.

De resultaten laten zien dat niet alleen endotoxine (LPS) maar ook humaan of muizen TNF een stijging in de circulerende spiegels van oplosbare TNF receptoren veroorzaakt. Hoewel anti-TNF behandeling de stijging van de TNF spiegels na een LPS injectie kan voorkomen, blijkt deze behandeling de spiegels van de oplosbare TNF receptoren nauwelijks te beïnvloeden. Hetzelfde geldt eigenlijk voor anti-interferon- γ (anti-IFN- γ) behandeling na LPS injectie, hetgeen een daling van de TNF spiegels veroorzaakt, maar nauwelijks effect heeft op de spiegels van oplosbare TNF receptoren. Leukemia Inhibiting Factor (LIF) behandeling heeft alleen een kleine daling van de 55 kDa receptor tot gevolg zonder dat TNF of de zwaardere receptor worden beïnvloed. Behandeling met een IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) blijkt geen effect te hebben op circulerende TNF spiegels noch op spiegels van de oplosbare TNF receptoren.

Deze resultaten laten zien dat hoewel TNF, IFN- γ , LIF en IL-1 zijn betrokken bij de LPS geïnduceerde mortaliteit, ze op zich zelf niet cruciaal blijken te zijn.

Omdat in ziekten waarbij T-cellulaire processen zijn betrokken, zoals reumatoïde artritis, TNF in de circulatie aanwezig was, is er in Hoofdstuk 9 onderzocht of T-cel activatie ook leidt tot een release van de oplosbare receptoren. Daartoe werden muizen geïnjecteerd met een monoclonaal antilichaam (mAb) tegen het muizen CD3 molecuul. De resultaten laten zien dat naast LPS, ook T-cellulaire activatie leidt tot release van oplosbare receptoren, hoewel er duidelijke kinetiekverschillen aanwezig zijn. Antilichamen tegen TNF of IFN- γ , gegeven voor een injectie met anti-CD3 blijken zowel TNF als de spiegels van beide TNF receptoren te verlagen. Pentoxifylline en steroïden worden in de kliniek frequent gebruikt om de anti-CD3 geïnduceerde morbiditeit te voorkomen. Vanwege dit feit zijn beide stoffen ook getest in het anti-CD3 model. Beide stoffen verlagen TNF en de 55 kDa receptor zonder de 75 kDa receptor te beïnvloeden.

Deze data suggereren dat naast LPS ook T-cel activatie door anti CD3 leidt tot de release van oplosbare TNF receptoren. Hoewel de geteste cytokines een rol spelen in dit mechanisme, lijkt noch TNF, noch IFN- γ cruciaal te zijn.

De resultaten van voorgaande Hoofdstukken laten zien dat ontsteking gepaard gaat met verhoogde spiegels van IL-6, TNF en oplosbare TNF receptoren. Bovendien lijkt de nier een belangrijke rol te spelen in de klaring van TNF en de oplosbare TNF receptoren. Daarom zijn in dit laatste Hoofdstuk de spiegels van IL-6, TNF en de oplosbare TNF receptoren onderzocht tezamen met de nierfunctie in septische patiënten met een positieve bloedkweek. De data laten zien dat zowel IL-6 als de oplosbare TNF receptoren een goede correlatie vertonen met mortaliteit, dit in tegenstelling tot TNF. Een mogelijke verklaring voor het feit dat TNF niet correleert met de mortaliteit is de korte halfwaardetijd van TNF en de snelle inactivatie door onder andere de oplosbare TNF receptoren.

Echter, de oplosbare TNF receptoren correleren ook goed met de nierfunctie, die op zijn beurt ook een sterke correlatie heeft met mortaliteit. De data laten zien dat bewezen sepsis gepaard gaat met verhoogde cytokine spiegels. Voorts blijkt dat verhoogde spiegels van oplosbare TNF receptoren, tenminste gedeeltelijk, het gevolg zijn van de nierfunctie en derhalve als zodanig correleren met mortaliteit. Het andere deel van de stijging van de spiegels van de oplosbare TNF receptoren is waarschijnlijk het gevolg van de inflammatoire reactie.

Deze resultaten laten zien dat de cytokine regulatie in experimentele muizen en in septische patiënten in principe identiek is. Bovendien blijkt de nier bij deze patiënten, net als bij de muis een belangrijke functie te hebben in de klaring van de sTNFR. Deze gegevens leiden tot de suggestie dat de pathofysiologie die ten grondslag ligt aan de cytokine release in patiënten en experimentele dieren gelijk is.