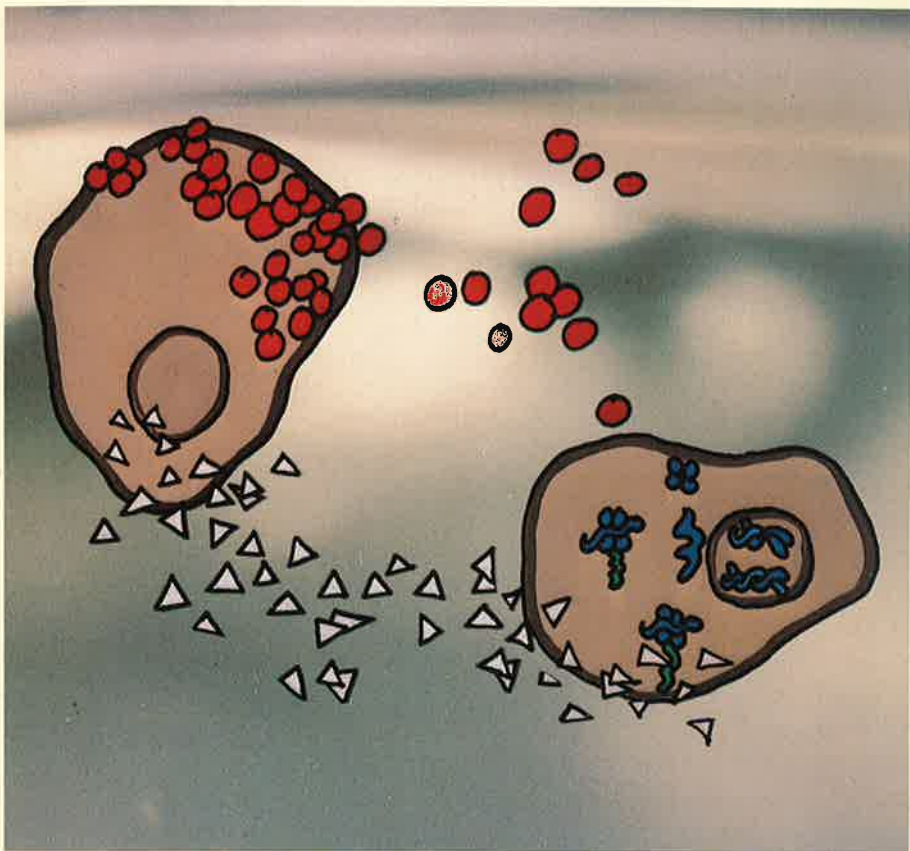


Interferon

Ontdekking, werking, toepassing

Huub Schellekens



Tegen de achtergrond van ontwikkelingen in de virologie en de biotechnologie worden de ontdekking, productie, werkingsmechanismen en toepassingen van interferon beschreven.

Aula-paperback 78

Huub Schellekens **Interferon**



Interferon

Ontdekking, werking, toepassing

Huub Schellekens



Uitgeverij Het Spectrum
Utrecht/Antwerpen

Uitgegeven door: Het Spectrum B.V.
Vormgeving: Studio Spectrum
Illustraties: Henk van Westbroek
Illustratie omslag: Toonder Studio's B.V.
Eerste druk 1982

©1982 TNO

No part of this book may be reproduced in any form, by print, photoprint, microfilm or any other means without written permission from the publisher.

Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotocopie, microfilm of op welke andere wijze ook zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

19-0078.01 D 1982/0265/250

CIP-gegevens

Schellekens, Huub

Interferon: ontdekking, werking, toepassing / Huub Schellekens. – Utrecht [etc.]: Spectrum. – (Aula-paperback; 78)

ISBN 90-274-6231-3

SISO 812.8 UDC 615.012 UGI 562

Trefw.: geneesmiddelen / virologie / microbiologie.

Inhoud

Voorwoord 7

I. Geschiedenis van de microbiologie 9

II. Enige wetenschappelijke achtergronden 22

III. De ontdekking van interferon 43

IV. De zuivering van interferon 51

V. Inductie van interferon 65

VI. Antivirale werkingsmechanismen van interferon 77

VII. Afweer van het lichaam 86

VIII. Niet-antivirale activiteiten van interferon 102

IX. Biologie van het interferonsysteem 113

X. Medische virologie 123

XI. De grootschalige produktie van interferon 143

XII. Het effect van interferon bij proefdieren 157

XIII. De toepassing van interferon bij de mens 169

XIV. Epiloog 194

Verklarende woordenlijst 202

Bronnen van het fotomateriaal 221

Register 223

Voor Tine

Voorwoord

Dit boek is geschreven uit frustratie. Interferon heeft in 1980–1981 nogal in de belangstelling van de publiciteitsmedia gestaan. Bij alle interviews in kranten of voor radio en televisie was steeds weer de enige vraag: 'Is interferon de oplossing voor het kankerprobleem?' Dat er aan interferon nog meer vastzit, daarin was men (behalve Ed Boer van de *NRC*) nauwelijks geïnteresseerd. Het verhaal over de beschermende rol die interferon in ons lichaam speelt, het boeiende probleem van het werkingsmechanisme, het verhaal over de zuivering, kortom de meer wetenschappelijke kanten van interferon, kwamen nauwelijks aan bod. Om die meer aandacht te geven en mijn frustratie te ondervangen, heb ik dit boek geschreven. Ik heb ook de hoop dat het boek wat meer begrip geeft voor de wetenschapper, wiens image de laatste tijd wel eens te lijden heeft. Misschien zal het antwoord op de vraag of interferon als geneesmiddel bruikbaar is, negatief zijn. Maar bij het beantwoorden van die vraag hebben de wetenschap en de wetenschapper zich op een aantal terreinen van hun sterkste zijde laten zien.

Aan dit boek heeft een aantal mensen een belangrijke bijdrage geleverd. Ditty van der Velden, die mijn onleesbare handschrift in leesbaar typewerk heeft omgezet; Gerard van de Schootbrugge, die de tekst van stijl- en drukfouten heeft ontdaan; en Henk van Westbroek, die het tekenwerk heeft verzorgd. Een aantal collega's dank ik voor het vaak prachtige en unieke fotomateriaal dat ik mocht gebruiken. Het eigen onderzoek, dat ik zo nu en dan in het boek inbreng, heb ik kunnen doen dank zij subsidies van de Nierstichting Nederland, het Praeventiefonds en het Koningin Wilhelmina Fonds, die ook al mijn onderzoek steunden toen interferon nog niet in de publiciteit stond. Zonder hun financiële bijdrage was het interferononderzoek in Nederland nooit van de grond gekomen en was dit boek nooit geschreven.

H. SCHELLEKENS

I. Geschiedenis van de microbiologie

Uit onderzoek van opgegraven skeletten, van Egyptische mummies en ook uit oude Chinese geschriften weten we dat ook onze verre voorouders geplaagd werden door besmettelijke ziekten als polio en pokken. Vanaf het moment dat de mens mens werd en zich zijn eigen bestaan bewust werd, heeft hij zich waarschijnlijk beziggehouden met de oorzaken van ziekte en dood. Het lag voor de hand besmettelijke ziekten met hun vaak verschrikkelijke gevolgen toe te schrijven aan het ingrijpen van ontstemde goden. Zo schreef de Griekse dichter Homerus in de 9e eeuw voor onze jaartelling over de pest als veroorzaakt door de pijlen van de god Apollo. Soms werden er wel verbanden gelegd die ons meer aanspreken. Zo merkten de Romeinen op dat malaria vooral voorkwam in moerasgebieden. Het zijn evenwel niet de kwalijke dampen die in dergelijke gebieden plegen op te borrelen, zoals de Romeinen dachten, maar de muskieten, die in moerasgebieden veel voorkomen, welke een hoofdrol spelen in het veroorzaken van malaria. Zij dragen de ziektekiemen bij zich die bij het steken het slachtoffer besmetten.

Het heeft tot de 19e eeuw geduurd voordat de eerste micro-organismen als oorzaak van besmettelijke ziekten werden ontdekt. De verdenking was er al eerder. In 1546 kwam Girolamo Fracastoro in zijn boek *De contagiare et contagiosis morbis* (Over besmetting en besmettelijkheid van ziekte) met de veronderstelling dat besmettelijke ziekten werden overgebracht met *seminaria contagiosa* (besmettelijke lichaampjes) door direct contact met een zieke, via de lucht of via de kleding. Hij baseerde zijn veronderstelling op de ideeën van de Romeinse arts Marco Varro, die een eeuw voor onze jaartelling leefde. Fracastoro moet in zijn tijd nogal invloed hebben gehad. Hij wist als lijfarts van paus Paulus III het concilie van Trente in 1545 verplaatst te krijgen naar Bologna vanwege een pestepidemie in Trente. Zijn ideeën raakten echter in de vergetelheid toen de ideeën van Paracelsus de geneeskunde gingen overheersen. Deze hechtte meer waarde aan magie dan aan gezond verstand. Het zou tot de 19e eeuw duren voordat de lijn van Fracastoro weer werd opgepakt en de eerste bacteriën als verwekkers van besmettelijke ziekten werden geïdentificeerd.

De eerste die ooit bacteriën gezien en beschreven heeft, is de Delftse lakenkeurder Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723) geweest. Van Leeuwenhoek had als hobby het slijpen van lenzen, waarin

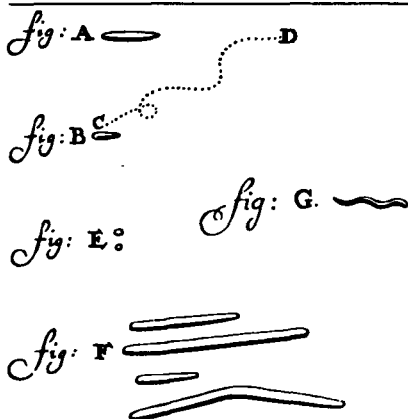


Fig. 1.1. Animalculi. De eerste die ooit bacteriën gezien heeft, is de Delftse lakenkeurder Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), die ze ontdekte met behulp van zelf geconstrueerde microscopen in tandschraapsel, slootwater, enz. Hij rapporteerde zijn bevindingen aan de Royal Academy of Sciences in Londen en dit is een reproductie van een tekening van de 'Animalculi' zoals hij ze noemde, in een van deze rapporten aan de Royal Academy.

hij zo bedreven was dat hij daarmee microscopen kon bouwen met een voor die tijd superieure kwaliteit. Met een teugelloze nieuwsgierigheid legde hij er alles onder dat hij tegenkwam. Hij zag in schraapsel van tanden, in de darminhoud van dieren en rottend materiaal kleine organismen die hij *animalculi* noemde (letterlijk: kleine diertjes). Zijn microscopische arbeid gaf hem overigens geen aanleiding te twifelen aan de heersende opvatting dat deze kleine wezentjes ontstonden ten gevolge van rotting in plaats van andersom, zoals wij nu weten. Het idee dat leven kon ontstaan uit dood materiaal was van Griekse oorsprong. De Grieken aanbaden de godin Gea, die levend materiaal uit rotsgesteente kon maken. De Griekse filosoof Aristoteles, die tot lang na de Middeleeuwen ons denken heeft beïnvloed, meende dat dieren uit dood materiaal konden ontstaan, de zgn. *generatio spontanea*. Nog op het einde van de 17e eeuw werd een recept gepubliceerd hoe men muizen kon maken door oude zakken met een handje graan ergens op een stil plekje te leggen!

Een van de eersten die op wetenschappelijke wijze heeft onderzocht of leven spontaan kon ontstaan was Francisco Redi, die leefde rond 1660. Door vlees in afgesloten flessen te doen toonde hij aan dat maden in rottend vlees niet vanzelf ontstaan maar door eitjes die er door vliegen in worden gelegd. Redi geloofde echter



Fig. 1.2. Louis Pasteur (1822-1895). De grondlegger van de microbiologie. Toonde aan dat bacteriën niet door rotting ontstaan maar door deling van bestaande bacteriën, ontwikkelde technieken om bacteriën te kweken en deed onderzoek naar de rol van bacteriën bij besmettelijke ziekten. Ontdekte ook het principe van attenuatie, d.w.z. het zodanig verzwakken van micro-organismen dat ze geen ziekten meer kunnen veroorzaken, maar wel immuniteit kunnen opwekken en als vaccin kunnen worden gebruikt. Een van de eerste vaccins die hij volgens deze methode ontwikkelde was een vaccin tegen hondsdolheid.

nog wel in de *generatio spontanea* van bacteriën.

Het was Louis Pasteur (1822-1895) die aantoonde dat bacteriën uit bacteriën ontstaan. Hij maakte gebruik van kolven met daarin bouillon dat door koken bacterievrij was gemaakt. De kolven hadden een opening in de vorm van een zwanehals. In de bouillon begonnen pas bacteriën te groeien, nadat de zwanehals was afgebroken, waardoor de lucht vrij toegang kreeg. Bacteriën kwamen dus 'uit de lucht vallen' en ontstonden niet zomaar in de bouillon. Pasteur publiceerde zijn experimenten in 1861 in een artikel met de titel: *Memorie sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère* (Verhandeling over georganiseerde lichaampjes die bestaan in de lucht).

Het is niet precies te zeggen wie voor het eerst bacteriën in verband heeft gebracht met besmettelijke ziekten: Henle, Brassi, Pollender, Davaine of toch Pasteur. In ieder geval was het de grote verdienste van Pasteur dat hij zich als eerste diepgaand en op een wetenschappelijk gefundeerde manier met bacteriën als de verwekkers van ziekte heeft beziggehouden en tevens de basistechnieken heeft ontwikkeld die dit soort onderzoek mogelijk maken. Hij geldt daarom terecht als de grondlegger van de bacteriologie.

Pasteur hield zich aanvankelijk bezig met de gistingsprocessen die worden gebruikt bij het maken van bier en wijn. Hij ontdekte dat

bepaalde micro-organismen voor de gisting verantwoordelijk waren. Door dit onderzoek werd Pasteur aangezet tot de genoemde studie naar de oorsprong van bacteriën. Tijdens deze onderzoeken verzamelde hij veel kennis over de wijze waarop bacteriën dienen te worden bestudeerd. Deze principes worden nog steeds toegepast. Zo stelde hij vast dat alle materialen die bij het onderzoek van micro-organismen zullen worden gebruikt eerst door verhitting van niet gewenste micro-organismen dienen te worden ontdaan (*sterilisatie*). Een van de methoden om uit voedingsmiddelen door verhitting de micro-organismen te verwijderen draagt nog steeds zijn naam: het *pasteuriseren*. Hij voerde ook de selectieve groeimedia in, d.w.z. media waarin door toevoegen van bepaalde voedingsstoffen of door het kiezen van bepaalde kweekomstandigheden (zuurgraad, temperatuur) de ene bacterie wel groeit en de andere niet.

Pasteur richtte zich definitief op de studie van besmettelijke ziekten toen hij besloot gehoor te geven aan het verzoek van de Franse schrijver Alexander Dumas, de oorzaak van de besmettelijke ziekte te gaan onderzoeken die de beroemde zijderupsen in het zuiden van Frankrijk dreigde uit te roeien. Hij ontdekte dat de oorzaak een bacteriële besmetting was. Later ontdekte Pasteur dat ook de verwekkers van miltvuur, cholera (bij de kip) en hondsdolheid, micro-organismen waren.

Pasteur heeft zich niet alleen met de oorzaak van besmettelijke ziekten beziggehouden, maar ook de entstoffen ontwikkeld die tegen deze ziekten bescherming konden bieden. De invloed van zijn onderzoek op de ontwikkeling van de microbiologie is enorm geweest. Joseph Lister (1827-1912), een Engels chirurg en persoonlijke vriend van Louis Pasteur, ging ertoe over instrumenten die bij operaties gebruikt werden te steriliseren en de chirurgen steriele handschoenen en jassen te laten dragen. Dit leidde tot een aanzienlijke vermindering van het aantal wondinfecties na operaties, die daarvoor een groot probleem vormden.

Men moet echter niet denken dat de ideeën van Pasteur en de zijnen voetstoots werden aanvaard.

Een beroemd voorbeeld van de moeite die het soms kost nieuwe ideeën geaccepteerd te krijgen is de geschiedenis van Ignaz Semmelweis (1818-1865). Semmelweis werkte als assistent in een kraamvrouwenklinik in Wenen. In die tijd bezweek een kwart van alle jonge moeders aan kraamvrouwenkoorts. Het viel Semmelweis op dat er viermaal zoveel vrouwen stierven op de afdelingen waar de medische studenten bij de bevalling assisteerden als op de afdelingen waar vroedvrouwen dit deden. Semmelweis vermoedde een verband tussen de lijkopeningen die de studenten op

de overleden moeders verrichtten en de hoge moedersterfte. De studenten liepen zonder meer uit een sectiekamer naar de verloskamer om bevallingen te doen. Semmelweis droeg de studenten op voortaan hun handen met chloorhoudende zeep te wassen alvorens bij een bevalling te assisteren. Het resultaat was een dramatische daling van het sterftcijfer van jonge moeders. Ondanks dit succes ondervond Semmelweis in Wenen van de gevestigde artsenstand alleen hoon. Het *Wiener Medizinischer Wochenschrift*, een van de leidende medische tijdschriften uit die tijd, publiceerde in 1857 zelfs een artikel waarin het handenwassen vóór bevallingen als volstrekt zinloos werd bestempeld. Semmelweis hoopte erkenning te krijgen door zijn ontdekking te publiceren. In 1861 schreef hij het artikel *Ätiologie der Begrifff und Prophylaxis des Kindbettfiebers* (Oorzaak, kennis en voorkomen van kraamvrouwenkoorts). Hij stuurde zijn artikel aan alle leidende artsen in Europa. Zijn resultaten werden echter ook door dit gezelschap slecht ontvangen. Semmelweis stierf drie jaar later ontgoocheld en miskend. De ironie van het lot wil dat hij overleed aan een wondbesmetting die hij tijdens een operatie had opgelopen door zich in zijn hand te snijden.

Uiteindelijk moest men het idee dat micro-organismen ziekten konden veroorzaken toch accepteren. De geleerde die na Pasteur daartoe het meest heeft bijgedragen is Robert Koch geweest, die leefde van 1843 tot 1910. Een van de professoren bij wie Koch medicijnen studeerde was Friedrich Henle, die in 1840 al had geoperd dat besmettelijke ziekten door kleine levende organismen

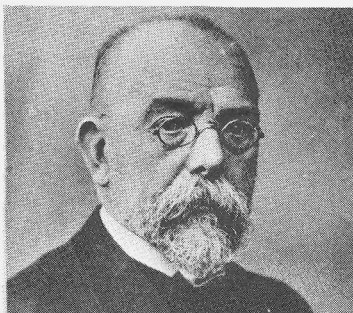


Fig. 1.3. Robert Koch (1843-1910). Een van de grondleggers van de medische microbiologie. Ontdekte de verwekkers van miltvuur, cholera, tuberculose en andere besmettelijke ziekten. Ontdekte het principe van sporenvorming en ontwikkelde methoden om bacteriën zonder verontreiniging met andere soorten bacteriën te kweken (de zgn. reinkweek).

werden overgebracht. Na zijn medische studie vestigde Koch zich als huisarts in Wollstein, een klein stadje in Duitsland. Zich de colleges van Henle herinnerend, begon hij een studie naar de oorzaak van miltvuur. Hij zette de studies voort van Casini Joseph Davaine, die had ontdekt dat miltvuur was over te brengen door bij gezonde dieren bloed van zieke in te spuiten. Koch wist de bacterie die *anthrax* (miltvuur) veroorzaakt op voedingsbodems te kweken en hij ontdekte aan deze bacterie het verschijnsel van de sporenvorming. Sporen van bacteriën kunnen vergeleken worden met het zaad van planten. Onder omstandigheden die ongunstig zijn voor een bacterie om te groeien, kunnen deze sporen jarenlang in 'slapende' toestand doorbrengen. Als de omstandigheden verbeteren groeien deze sporen weer uit tot bacteriën. Toen dit bekend werd, kon men ineens begrijpen waarom schapen met miltvuur besmet konden worden in weiden die jarenlang niet waren gebruikt.

Robert Koch ontwikkelde ook methoden om bacteriën gemakkelijk te kunnen isoleren en reïnculturen te maken, d.w.z. een cultuur van één bacteriesoort zonder verontreiniging met andere soorten. De belangrijkste ontdekking van Robert Koch is de tuberkelbacte-

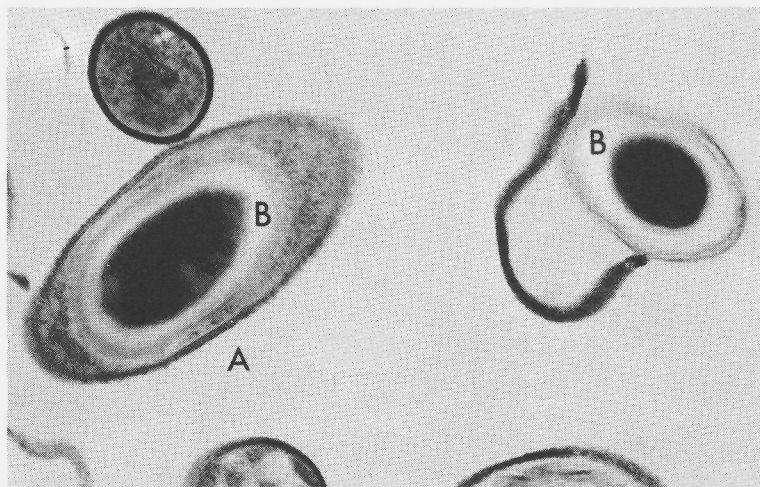


Fig. 1.4. Een sporenvormende bacterie (A). Als de omstandigheden voor verdere groei voor een bacterie te slecht worden, kunnen bepaalde bacteriën sporen (B) gaan vormen. Deze sporen zijn zeer resistent tegen invloeden van buiten en kunnen jaren onder de meest extreme toestand voortleven om als de omstandigheden weer beter worden weer tot bacteriën uit te groeien.

rie geweest, de veroorzaker van tuberculose. Na veel problemen wist hij deze moeilijk groeiende bacterie te kweken. Koch ontdekte ook de verwekkers van amoebendifterie en cholera bij de mens. Aan die laatste ontdekking zit weer een verhaal vast waaruit blijkt dat ook Kochs resultaten niet zomaar werden geaccepteerd.

Cholera werd tot het begin van de 19e eeuw beschouwd als een ziekte die alleen in de tropen voorkwam. Rond 1825 werd echter ook Europa getroffen door een epidemie, waarvan de haard in het huidige India lag. Deze epidemie teisterde heel Europa en eiste tienduizenden slachtoffers. Toen in 1883 in Egypte cholera uit-

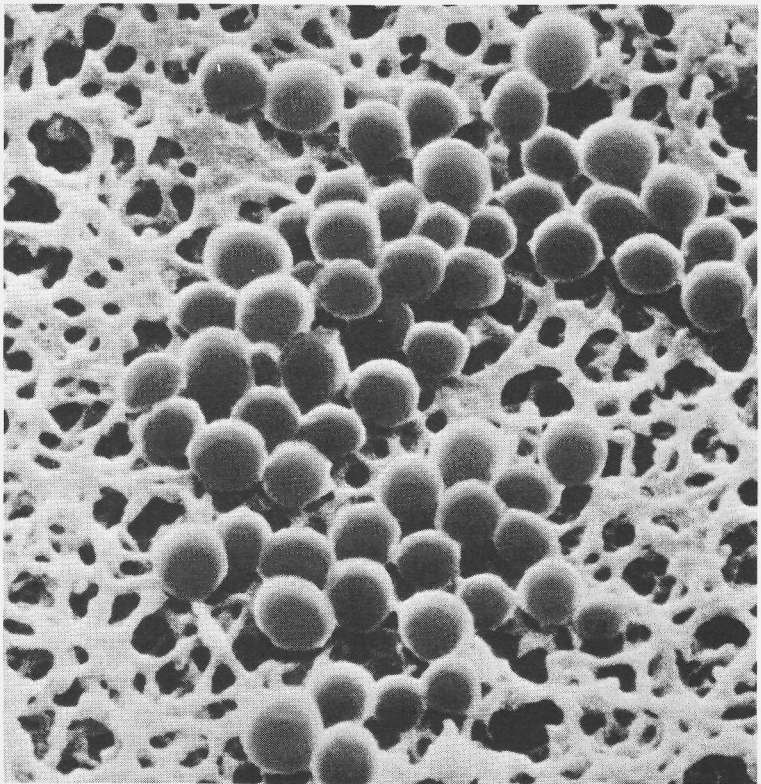


Fig. 1.5. Bacteriën op een modern bacteriefilter. Bacteriefilters worden nog steeds toegepast. Ze zijn niet meer van porselein maar van kunststof. Ze worden gebruikt om snel en gemakkelijk vloeistoffen te steriliseren. De vloeistof wordt door dit filter geperst. Bacteriën kunnen het filter niet passeren en de gefilterde vloeistof is bacterievrij.

brak, maakte men zich grote zorgen over een mogelijke uitbreiding naar Europa. Diverse regeringen besloten dan ook om onderzoeksteams naar Egypte te sturen. Zo zond Duitsland Robert Koch naar Alexandrië, die daar in de herfst van 1883 arriveerde. Deze trof in de ontlasting van een tiental patiënten een nieuwe bacterie aan, welke hij op voedingsbodems kon kweken. Het bewijs dat deze nieuwe bacterie de verwekker van de cholera was, kon hij evenwel niet leveren omdat hij er niet in slaagde bij proefdieren met deze bacterie cholera te verwekken. Inmiddels was de epidemie in Egypte in betekenis afgenomen en volgde Koch met zijn assistenten de epidemie naar India. Daar vond hij bij zoveel cholera-patiënten de nieuwe bacterie dat hij ervan overtuigd raakte dat dit de ziekteverwekker moest zijn. Hij stelde ook vast dat de ziekte werd overgebracht door drinkwater dat werd besmet met rioolwater. Kochs ideeën over de cholera stuitte op enorm verzet van Max von Pettenkofer, een Duitse professor in de chemie, wiens opvattingen over hygiëne overigens wel degelijk een positieve bijdrage hebben geleverd tot een betere volksgezondheid. Von Pettenkofer meende dat de oorzaak van cholera een te hoge grondwaterstand was. Hierdoor zou meer rotting aan het bodemoppervlak optreden en het waren volgens Von Pettenkofer de stoffen die tijdens de rotting vrijkwamen die de cholera veroorzaakten.

In 1892 brak in Europa opnieuw een verschrikkelijke cholera-epidemie uit, die in Hamburg en Parijs een groot aantal slachtoffers eiste. München, de woonplaats van Von Pettenkofer, waar op zijn last de grondwaterstand laag werd gehouden, bleef gespaard. Toen zelfs tijdens de oktoberfeesten, met zijn vele bezoekers van buiten de stad, geen cholera de stad werd binnengebracht, meende Von Pettenkofer dat zijn theorie was bewezen. Om Koch de genadeslag toe te brengen liet Von Pettenkofer een kweek van die zogenaamde cholerbacterie uit Hamburg komen, die hij op 7 oktober 1892 in aanwezigheid van een aantal getuigen tot zich nam. En inderdaad kreeg Von Pettenkofer enige diarree maar geen cholera en ook zijn assistent, die even later hetzelfde staaltje uithaalde, bleef gezond.

In deze op het scherpst van de snede uitgevochten wetenschappelijke strijd kreeg Koch uiteindelijk toch gelijk. De proef van Von Pettenkofer bleek in feite een bewijs dat ook de persoonlijke consistentie een rol speelt bij het ontstaan van een ziekte en dat besmetting met een bacterie alleen niet voldoende is. We weten uit Von Pettenkofers geschriften dat hij in 1854 cholera gehad heeft en waarschijnlijk toen immuun is geworden.

Ondanks het verzet dat Pasteur, Semmelweis, Koch en anderen ondervonden, verwierf de bacteriologie een vaste plaats in de me-

dische wetenschap. Eind 19e en begin 20e eeuw werden de verwekkers ontdekt van een groot aantal besmettelijke ziekten. Toen bovendien na de Tweede Wereldoorlog tegen de meeste bacteriën antibiotica werden ontwikkeld, werd de bacteriologie een volwaardig medisch specialisme met een eigen plaats in de behandeling van patiënten.

Geschiedenis van de virologie

Het is de Nederlander Beyerink geweest die heeft vastgesteld dat er behalve bacteriën nog een slag ziekteverwekkende micro-organismen moest zijn met veel geringere afmetingen. In een publikatie uit 1898 bericht hij dat de tabaksmozaïekziekte van plant naar plant kon worden overgebracht door gezonde planten met het sap van een zieke plant in te smeren. Het sap bleek zijn ziekmakend vermogen te behouden als het gefilterd werd door een filter dat bacteriën tegenhield. Beyerink noemde de verwekker van de plantenziekte *contagium vivax fluidum*. Vaak wordt de Russische bacterioloog Ivanowski genoemd als de ontdekker van de verwekker van de tabaksmozaïekziekte. Inderdaad schreef hij al in 1892 dat sap van een zieke plant na filtratie door een bacteriefilter de ziekte overbracht, maar hij twijfelde aan de consequenties van zijn ontdekking. Nog in 1899, een jaar na Beyerinks ontdekking, meende Ivanowski dat tabaksmozaïekziekte door een bacterie werd veroorzaakt.

In 1898 ontdekten Loeffler en Frosch dat lymfevocht, afgenomen van dieren die leden aan mond- en klauwzeer, ook na filtratie door een porseleinen filter waar bacteriën niet doorheen gaan, na inspuiting bij gezonde dieren mond- en klauwzeer teweegbracht. Deze ziekte werd dus ook veroorzaakt door een 'filtreerbaar agens' dat kleiner was dan bacteriën.

De eerste ziekte bij de mens waarvan werd vastgesteld dat de verwekker filtreerbaar was, is gele koorts. Deze tropische ziekte kwam oorspronkelijk alleen in Afrika voor. Met de slavenscheepen werd de gele koorts in de 17e eeuw naar Zuid-Amerika overgebracht. Hele scheepsbemanningen werden erdoor geveld en het is niet ondenkbaar dat ook de legende van de 'Vliegende Hollander', het spookschip zonder bemanning, gebaseerd is op een epidemie van gele koorts. Aan het begin van deze eeuw hield de ziekte zo huis in Midden-Amerika onder meer onder de arbeiders die werkten aan het Panamakanaal, dat de bouwplannen van het kanaal ernstig werden verstoord. Om de oorzaken van deze ziekte te onderzoeken zond de Amerikaanse regering een militaire commissie

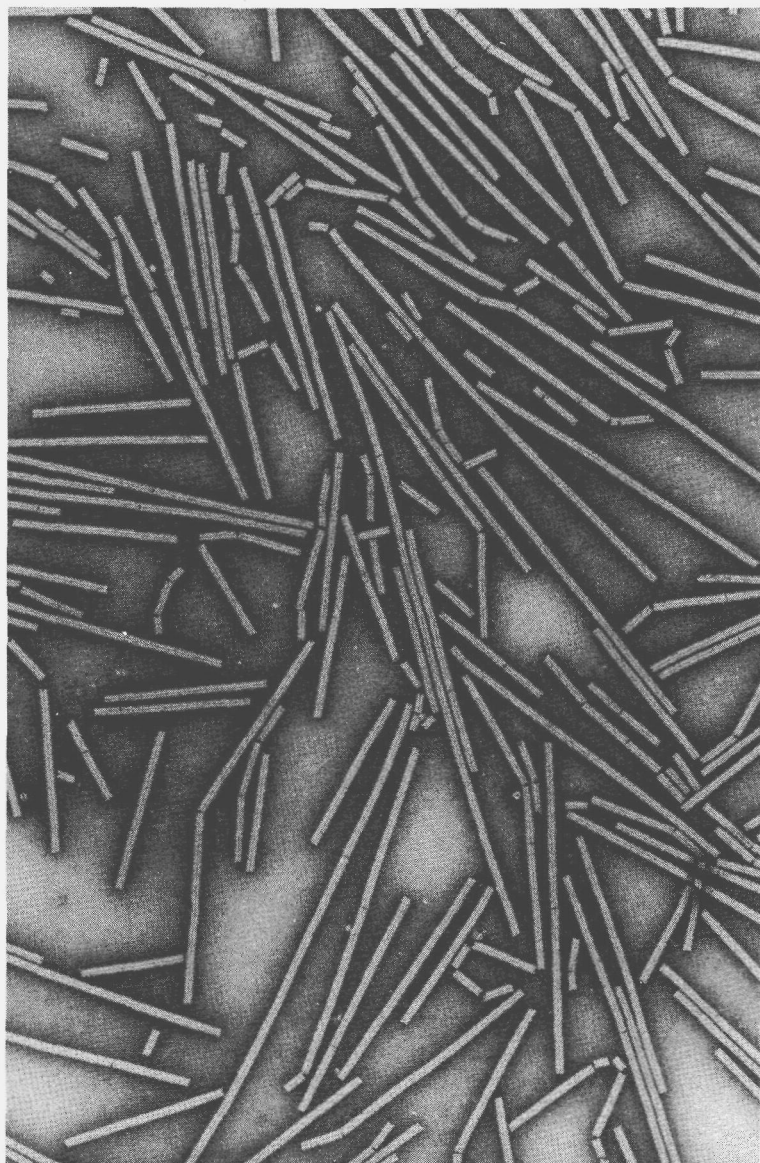


Fig. 1.6. Tabaksmozaïekvirus (TMV). Een elektronenmicroscopische opname van het tabaksmozaïekvirus (vergroting 80 000×). Dit is een langgerekt RNA-virus. Het is het eerste virus dat ontdekt is (door de Nederlander Beyerink in 1898).

onder leiding van Walter Reed naar Cuba waar de epidemie het ernstigst was. Behalve uit Walter Reed bestond deze commissie uit W. Lazear, J. Carroll en A. Agromonto. De enorme plichtsbe-trachting waarmee deze mannen hun werk hebben gedaan mag blijken uit het feit dat de commissieleden zelf als proefpersonen hebben gefungeerd. Het vermoeden bestond dat de ziekte werd overgebracht door een muskiet met de wetenschappelijke naam *Aedes Aegyptii*. Carroll was de eerste die zich liet steken door muskieten die in contact waren geweest met gele-koortspatiënten. Hij werd ziek, herstelde, maar overleed toch enige jaren later aan de gevolgen. Ook Lazear liet zich, terwijl hij in het ziekenhuis voor gele-koortspatiënten zorgde, met opzet steken door een muskiet. Hij overleed vijf dagen later aan gele koorts. Dank zij de zelfopof-fering van deze wetenschappers werd binnen vijf jaar de verwek-ker van gele koorts ontdekt, alsmede de wijze waarop de ziekte werd overgebracht, en wist men de ziekte onder controle te krijgen door bestrijding van bovengenoemde muskietesoort. Ook de ver-oorzaker van gele koorts was een 'filtreerbaar agens' en passeerde een filter dat bacteriën tegenhield. De term virus (letterlijk 'gif') kwam pas later in zwang.

De ontwikkeling van de virologie is om een aantal redenen niet zo snel gegaan als die van de bacteriologie. Virussen zijn in tegenstel-ling tot bacteriën niet zichtbaar onder een gewone lichtmicro-scoop. Pas met de komst van de elektronenmicroscoop, die in de jaren '30 werd ontwikkeld, werd deze handicap opgeheven. De grootste moeilijkheid was echter het feit dat virussen parasieten zijn en daarom alleen in levende cellen gedijen. Kweken op kunst-matige voedingsbodems, zoals bij bacteriën, is bij virussen onmo-gelijk.

Van zeer groot belang voor de ontwikkeling van de virologie is dan ook geweest de ontdekking rond 1915 van de bacteriofaag, een virus dat groeit op bacteriën. Bacteriën kweken kon men wel en op die bacteriën konden deze virussen groeien. De bacteriofa-gen zijn ontdekt door de Amerikaan William Twort en onafhan-kelijk van hem door de Frans-Canadees Felix d'Herelle. Zij ont-dekten dat in een bacteriecultuur (kweekbak van bacteriën) soms grote gaten vielen. De oorzaak van deze gaten was over te brengen naar andere bacterieculturen en bleek niet tegengehouden te wor-den door filters. Hier was dus kennelijk sprake van de activiteit van een virus. Van Felix d'Herelle is de naam bacteriofaag ('bac-terie-eter') afkomstig. D'Herelle toonde aan dat de bacteriedo-dende werking niet werd opgewekt door een giffige chemische stof, maar dat er iets aanwezig was dat zichzelf kon vermenigvul-digen. Hij deed dat als volgt. Zodra in een bacteriecultuur een gat

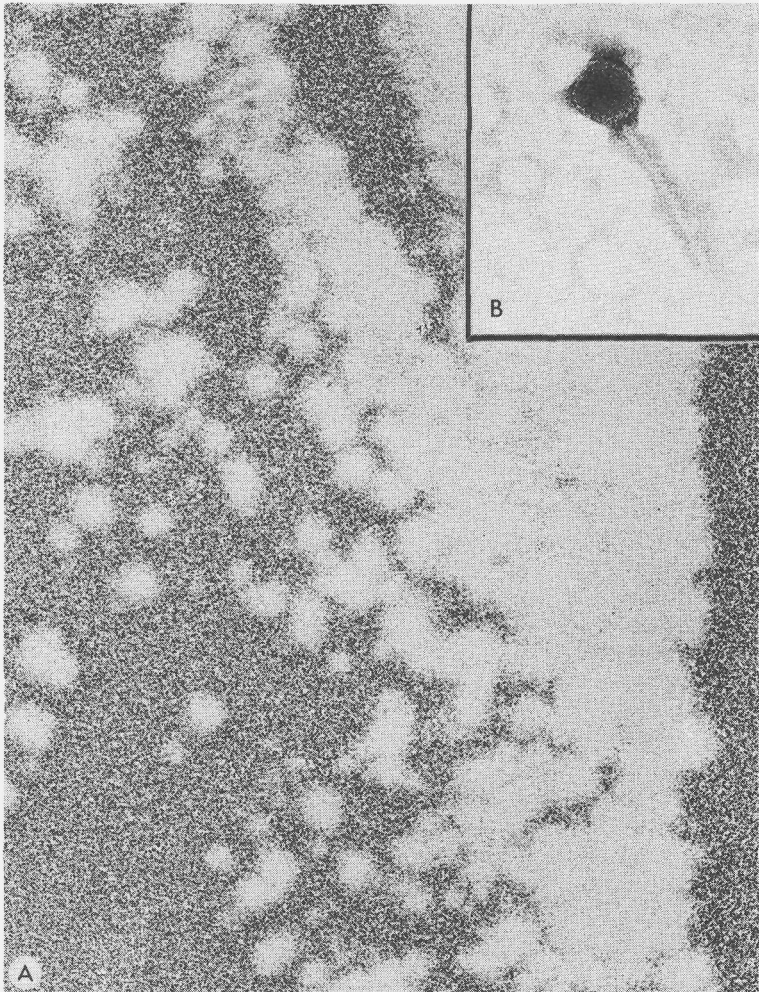


Fig. 1.7. Bacteriofaag. Een bacteriecultuur (A) waarin grote ronde gaten (plaques) zijn ontstaan door de groei van een bacteriofaag (B). Bacterio-fagen zijn virussen die groeien op bacteriën. Het waren de eerste virussen die gemakkelijk konden worden gekweekt. Bovendien groeien ze bijzonder snel. Waren en zijn daarom nog steeds populair bij het onderzoek op het gebied van de moleculaire biologie.

viel, bracht hij een gedeelte van de voedingsbodem uit de kale plek over naar een verse bacteriecultuur. Zodra in deze cultuur weer een gat viel werd het procédé herhaald. Hij rekende uit dat hij

vanuit het oorspronkelijk materiaal een verdunning van 1:103982 had gemaakt, d.w.z. een 1 met daarachter bijna 4000 nullen. Het verschijnsel was alleen te verklaren als men aannam dat in de oorspronkelijke cultuur iets had gezeten dat zichzelf kon vermenigvuldigen, maar wel ten koste van de gastheren, de bacteriën, die aan de besmetting ten prooi vielen, een groot aantal nieuwe ziektekiemen achterlatend. Vandaar de gaten in de bacteriecultuur. Men dacht met bacteriofagen een biologisch wapen in handen gekregen te hebben tegen ziekteverwekkende bacteriën. Als geneesmethode bleken de bacteriofagen echter onbruikbaar. Om andere redenen bleken zij daarentegen zeer belangrijk. Het waren de eerste virussen die gemakkelijk op bacterieculturen konden worden gekweekt. Daarmee werd het mogelijk om simpel hun aantal vast te stellen. Uitgangspunt is het feit dat een gat het gevolg is van de oorspronkelijke aanwezigheid van één bacteriofaag. Stel dat 1 ml van een bacteriofaag bevattende vloeistof, die een factor 10000 is verdund, uitgezet op een bacteriecultuur 5 gaten (of *plaques*) veroorzaakt. Dan bevat de oorspronkelijke oplossing $5 \times 10000 = 50000$ PFU (*plaque forming units*) of 50000 bacteriofagen per milliliter.

Bacteriofagen groeien enorm snel. Als een bacteriofaag een bacterie is binnengegaan, barst deze binnen 20 à 30 minuten uiteen waarbij honderden nieuwgevormde bacteriofagen vrijkomen. Door hun enorme groeisnelheid zijn deze organismen van grote waarde geworden voor een groot aantal wetenschappers die onderwerpen als erfelijkheid, levensprocessen, enz. bestuderen. De meeste fundamentele verschijnselen in de biologie zijn dan ook in de bacteriofagen voor het eerst waargenomen.

Natuurlijk heeft men zich van begin af aan beziggehouden met de vraag wat virussen nu eigenlijk waren. Hoe deze minieme vormen van leven zich voortplantten en hoe ze zulke verschrikkelijke ziekten konden veroorzaken. In 1935 lukte het Wendell Stanley als eerste een virus, te weten het tabaksmozaïekvirus, compleet te zuiveren. Van de vier basisbouwstoffen uit de levende natuur – lipiden, koolhydraten, eiwitten en kernzuur of nucleïnezuur – bleek het virus alleen de laatste twee te bevatten. In Stanleys tijd ontbrak de kennis om het bezit van eiwit en nucleïnezuur te verklaren uit de manier waarop virussen groeien. Het zou tot de jaren '50 en '60 duren voordat de fundamentele problemen betreffende de erfelijkheid werden opgelost. Deze episode uit de biologie vormt een van de hoogtepunten van de moderne wetenschapsbeoefening. De ontrefeling van het erfelijkheidsprobleem wordt in het volgende hoofdstuk behandeld.

II. Enige wetenschappelijke achtergronden

We zullen in dit hoofdstuk wat nader ingaan op de bouw en samenstelling van cellen. We beginnen in 1859 als Charles Darwin de wereld verbijstert met de publikatie van zijn boek *On the Origin of Species*. Hierin uit hij de veronderstelling dat de verschillende levensvormen zich in een proces van voortdurende verandering uit andere levensvormen hebben ontwikkeld. Een voorstelling die nogal afweek van de gangbare opinie in die tijd, volgens welke het leven op aarde in wezen onveranderlijk was en ooit in zeer korte tijd was geschapen. De ontwikkeling of evolutie zou volgens Darwin reeds vele honderden miljoenen jaren gaande zijn. Teruggaand in de tijd zou men gemeenschappelijke voorouders moeten aantreffen met aan het startpunt het eerste leven dat als basis voor alle bestaande levensvormen zou hebben gediend. (Of het leven met slechts één primitieve vorm is gestart, is niet meer te achterhalen, maar de fundamentele overeenkomst die men op moleculair niveau heeft aangetroffen, wijst wel in die richting.)

Volgens de evolutietheorie ontstaan er voortdurend planten en dieren met enigszins afwijkende, overerfbare eigenschappen: de zogenoemde *mutanten*, ontstaan door toevallige veranderingen in de erfelijke eigenschappen, die men ook wel *mutaties* noemt. Oorzaken daarvan kunnen zijn de inwerkingen van chemische stoffen of van ioniserende straling, waarvan de kosmische straling een voorbeeld is. De nieuwe eigenschappen kunnen voordelig zijn in de voortdurende strijd om het bestaan, ze kunnen ook een handicap betekenen, terwijl de uitwerking ook zonder directe gevolgen kan blijven. Onder de druk van de omstandigheden vindt een voortdurend selectieproces plaats, waarin de best aangepaste individuen gemiddeld aan het langste eind trekken.

Het idee van de fundamentele gelijkheid van al het leven werd in 1839 door Schleiden en Schwamm ondersteund met hun publikatie over de celtheorie. Zij hadden ontdekt dat alle planten en dieren waren opgebouwd uit elementaire bouwstenen, de cellen, die in wezen voor alle levensvormen gelijk waren: een wand, die het cellichaam omhult. Dit lichaam heeft een vloeibare samenstelling. De vloeibare massa wordt *cytoplasma* genoemd. In het cellichaam komen een aantal karakteristieke structuren voor, waarvan bij hogere organismen, de celkern of *nucleus*, een bijzondere betekenis heeft. Hoewel het bouwplan van alle cellen gelijk is, kunnen ze in verschijningsvorm onderling sterk verschillen afhankelijk van de

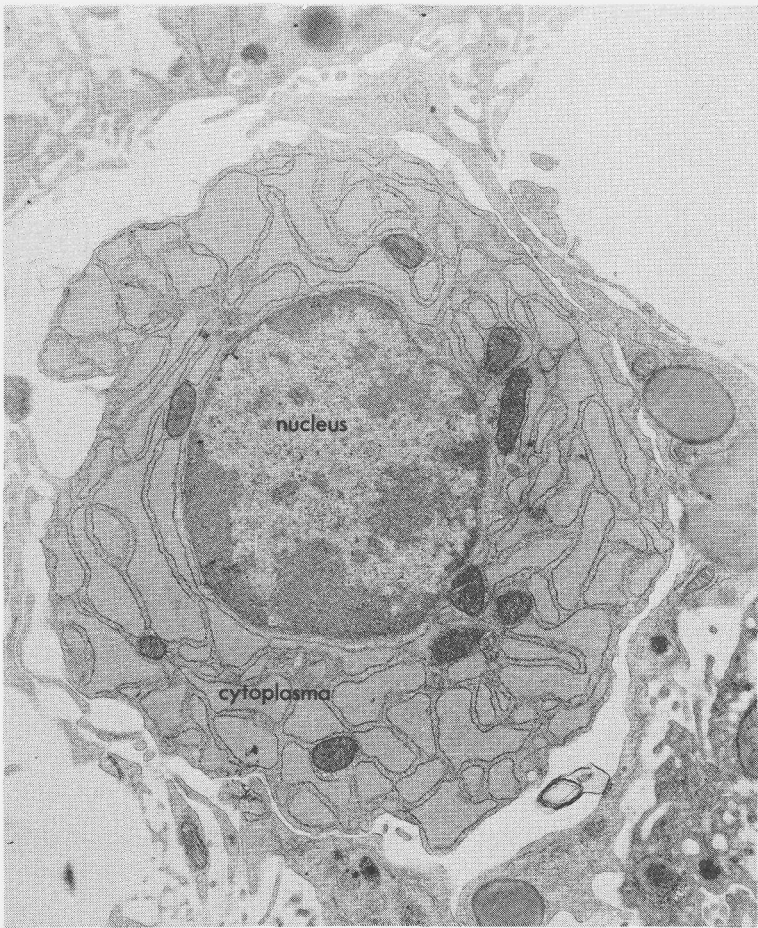
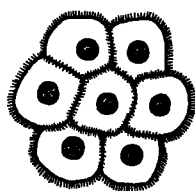
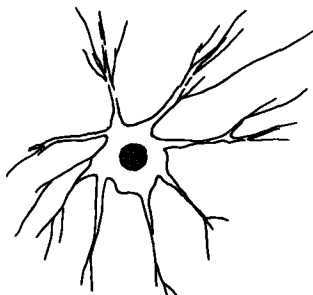


Fig. 2.1. De cel. Een elektronenmicroscopische opname van een menselijke witte bloedcel (lymfocyt) (vergroting 18 000×). Alle planten en dieren zijn opgebouwd uit elementaire bouwstenen of cellen. Cellen van hogere organismen hebben een celkern (nucleus) waarin zich de chromosomen bevinden. Het DNA in de chromosomen is de drager van de erfelijke eigenschappen.



epitheelcellen



zenuwcel



spiercellen

Fig. 2.2. Verschillende soorten cellen. *Hoewel alle cellen in een organisme uit één cel, de bevruchte eicel, ontstaan zijn, zijn ze niet allemaal gelijk. Gedurende de ontwikkeling van een organisme differentiëren ze in cellen met verschillende functies en verschijningsvormen, bijv. epitheelcellen of huidcellen met een beschermende functie; spiercellen die zich kunnen samentrekken en voor beweging zorgen; zenuwcellen, cellen die prikkels kunnen ontvangen en versturen en het organisme besturen.*

functie die ze in een organisme vervullen. Cellen ontstaan uit andere cellen doordat deze zich delen, daarbij een kopie van zichzelf producerend.

De celkern bevat de *chromosomen*, karakteristieke lichaampjes die, zoals hierna zal worden toegelicht, een zeer belangrijke functie vervullen. De vorm en het aantal van deze chromosomen in de kern zijn niet voor alle soorten gelijk. Zo heeft de erwtenplant er 7 en de mens 46. Aan de celdeling gaat een duplicering van het chromosomenbestand vooraf. Iedere dochtercel krijgt zodoende exact dezelfde chromosomen als de moedercel. De mens bestaat uit ca. vijf biljoen cellen. Grote groepen cellen verrichten speciale functies en zijn daartoe optimaal aangepast. Daarom zien huidcellen, zenuwcellen en spiercellen er op het eerste gezicht ook zeer verschillend uit. Al deze gedifferentieerde cellen zijn evenwel uit één bevruchte eicel ontstaan. Men neemt tegenwoordig aan dat alle informatie over deze speciale celfuncties in deze eerste cel reeds lagen opgeslagen. En gezien de betrouwbaarheid van het kopieer-

proces wordt deze informatie ook aan alle cellen van het lichaam doorgegeven. Hoe de cellen dit kunststuk leveren is de vraag waarmee de erfelijkheidsleer of *genetica* zich bezighoudt. Vooral deze tak van de biologie heeft de afgelopen tijd spectaculaire vooruitgang geboekt.

Waar de moderne biologie bijna op de voet kan volgen wat er op het meest elementaire niveau in de cellen gebeurt, moesten de onderzoekers in de vorige eeuw het meestal stellen met meer indirecte aanwijzingen. Zo concludeerde Haedel in 1868 uit zijn observatie dat zaadcellen bijna volledig uit kernmateriaal bestaan, dat de celkern weleens de drager van de erfelijke informatie zou zijn. Het vaderlijk deel van de eigenschappen van de nakomeling wordt immers via het zaad overgedragen. Dat die geheimzinnige kernlichaampjes, die men vanwege hun kleuringseigenschappen de naam chromosoom (*chromos* is het Griekse woord voor kleur) had gegeven, ermee te maken moesten hebben, lag voor de hand. In tegenstelling tot andere celementen bleken zij bij de celdeling nauwkeurig gekopieerd en eerlijk over de dochtercellen verdeeld te worden.

De chromosomen bezitten allerlei vormen. Steeds komen er van iedere vorm in de celkern een tweetal voor. Zo bevat iedere menscel 46 chromosomen, die 23 chromosoomparen vormen. Met dit gepaarde optreden heeft de natuur een hele speciale bedoeling gehad. Zoals gezegd gaat aan een celdeling een chromosomendeling vooraf. Op een bepaald moment bevat de zich delende cel dus 92 chromosomen. Uiteindelijk krijgen beide dochtercellen elk weer 23 paren. Bij de produktie van zaad- en eicellen, die direct verantwoordelijk zijn voor de eigenschappen van het nageslacht, gaat het fundamenteel anders toe. Deze cellen ontstaan ook door deling uit moedercellen, maar bij deze deling wordt het aantal chromosomen niet verdubbeld. Zowel zaad- als eicellen krijgen van elk paar chromosomen in de moedercel slechts één exemplaar mee. (Dit is een nogal vereenvoudigde weergave van het produktieproces van geslachtscellen.) De geslachtscellen bevatten dus beide maar 23 chromosomen, van elke chromosoomvorm slechts één exemplaar. Bij de bevruchting komt alles weer op zijn pootjes terecht en worden nieuwe paren gevormd, waarbij vader en moeder beiden hun gelijke aandeel leveren.

De volgende belangrijke historische stap op weg naar de ontrafeling van het erfelijkheidsmysterie werd gezet door de Oostenrijker Johann Mendel, die als monnik de naam Gregor aannam en als een min of meer mislukte leraar in een klooster in Brno terechtkwam, waar hij zich ging toeleggen op het kruisen en veredelen van planten. Mendel koos de erwtenplant als studie-object en

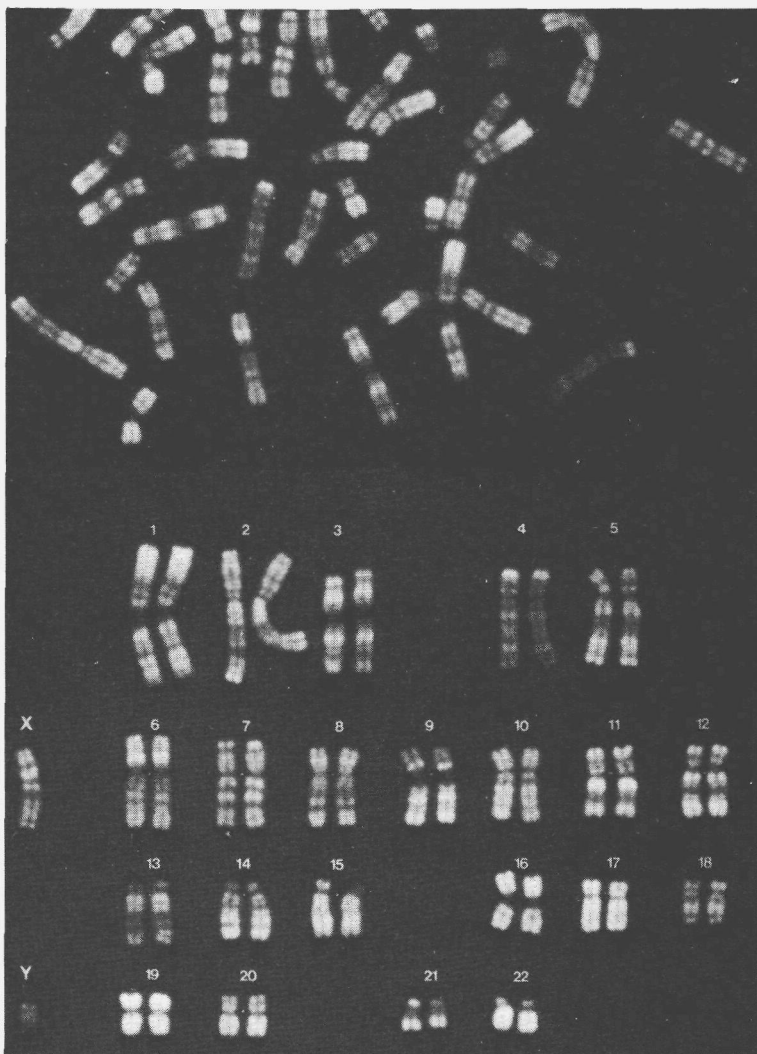


Fig. 2.3. De chromosomen van de mens. De mens heeft 23 paar chromosomen. Van ieder paar is één afkomstig van de vader en één van de moeder. De chromosomen bestaan uit eiwit en DNA. Het DNA bevat de erfelijke code. Alle erfelijke eigenschappen hebben bepaalde vaste plaatsen op de chromosomen. Het geslacht van het individu wordt bepaald door het X- en Y-chromosoom. Een vrouw heeft tweemaal chromosoom X. Een man heeft één chromosoom X en één chromosoom Y. Dit zijn dus de chromosomen van een man.

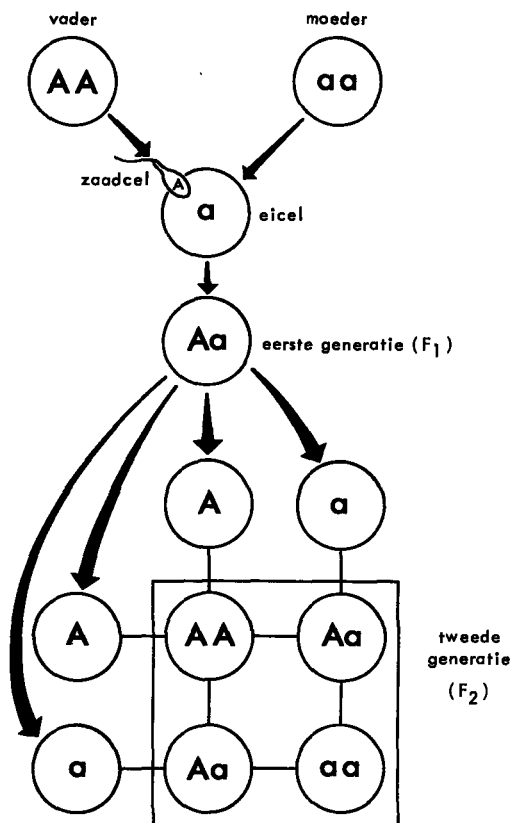


Fig. 2.4. Mendel. Mendel heeft zijn erfelijkheidsleer geformuleerd in een aantal wetten. De eerste is de Wet van de Onafhankelijke Segregatie, die beschrijft dat de dominante eigenschap onafhankelijk van de recessieve eigenschappen wordt doorgegeven naar de volgende generatie. In deze figuur is deze wet weergegeven. De vader heeft een paar van de dominante genen voor een bepaalde eigenschap, zeg rode bloemetjes bij een erwteplant (weergegeven met AA). De moeder heeft de recessieve genen aa , bijvoorbeeld witte bloemen. De kinderen van deze combinatie zijn Aa en dus rood want A is dominant over a . De witte eigenschap is echter niet verdwenen want als men de rode Aa met elkaar kruist, krijgt men 25% AA (rood), 50% Aa , ook rood, maar 25% aa (wit). De rode AA noemt men een homozygoot, omdat hij een identiek paar genen heeft. De rode Aa heterozygoot, omdat het paar niet identiek is. Of men met een homozygoot of heterozygoot voor een bepaalde eigenschap van doen heeft, bepaalt men door kruisingen. Immers bij kruisen van de homozygoot, is de F_1 rood; was de rode heterozygoot, dan wordt 25% wit in de F_1 .

richtte zijn aandacht op een zevental kenmerken, zoals de lengte van de plant, de grootte van het zaad, de grootte van de bloem e.d. Vervolgens ging hij na hoe deze eigenschappen na kruising weer te voorschijn kwamen. In zijn tijd ging men nog uit van het idee dat de kruising van een grote en een kleine plant een dochterplant met een middelmatige lengte opleverde. Mendel constateerde evenwel dat de nakomelingen allemaal lang waren. Hieruit concludeerde hij dat er twee *regulatoren* een rol moesten spelen: één afkomstig van de vader en één afkomstig van de moeder. Eén van beiden had blijkbaar een doorslaggevende invloed op de eigenschap van de dochter en Mendel noemde een dergelijke regulator *dominant*, de ander *recessief*. Een recessieve regulator kan zich alleen laten gelden wanneer zowel de vader als de moeder zo'n regulator inbrengen. De aanpak van Mendel was even geniaal als simpel. Wat hij namelijk deed was het kruisen van de nakomelingen, die elk een dominante en een recessieve regulator bevatten. Bij de kruising van twee van dergelijke nakomelingen zou elk één regulator leveren. In de volgende generatie zouden dan de volgende combinaties regulatoren moeten optreden: een dominante regulator van de vader met een recessieve van de moeder en omgekeerd, twee dominante regulatoren en twee recessieve regulatoren. Het resultaat is in drie van de vier gevallen een lange plant en dat was precies wat Mendel vond. Later is de benaming regulator vervangen door *gen*.

In 1866 publiceerde Mendel zijn briljante resultaten in Brno, waar zijn publikatie volstrekt werd genegeerd. Om erkenning te krijgen stuurde hij zijn artikel naar een aantal wetenschappers in het buitenland. In 1868 werd Mendel echter tot abt van zijn klooster benoemd en had hij geen tijd meer voor zijn erfelijkheidsstudies. Men fluistert dat dit zelfs de reden van zijn benoeming is geweest. Evolutie en erfelijkheid zijn in de katholieke kerk altijd omstreden onderwerpen geweest.

In het begin van de 20e eeuw werden de wetten van Mendel door De Vries, Correns en Tsermach onafhankelijk van elkaar herontdekt en kreeg Mendel zijn welverdiende erkenning. In 1903 bracht Sutton de observaties van Mendel in verband met de chromosomen. Deze vormen immers paren waarvan de eicel en de zaadcel ieder slechts de helft ontvangt. Dat klopt inderdaad prachtig met de voorstelling die Mendel zich had gevormd van het optreden van de genen. Als de erfelijke informatie in de chromosomen ligt opgeslagen, dan moet het chromosoom zo zijn opgebouwd dat alle informatie die voor een cel van belang is, en dat is nogal wat, op een of andere manier vastgelegd is. Bovendien moet bij deling al die informatie in het chromosoom behouden blijven.

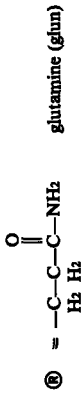
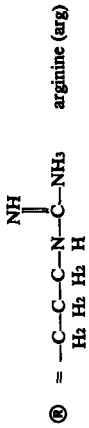
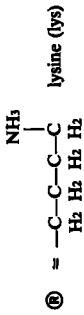
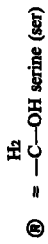
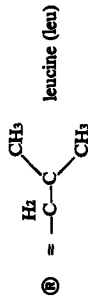
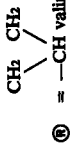
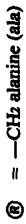
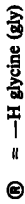
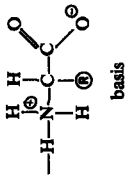


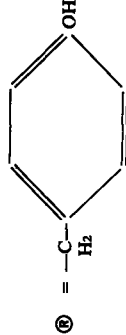
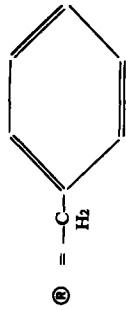
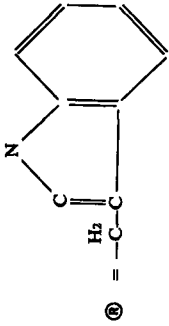
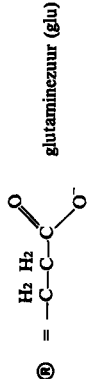
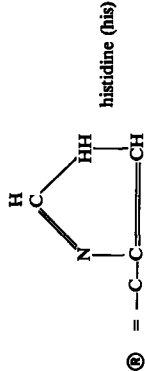
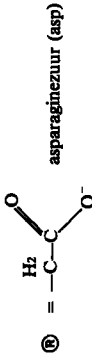
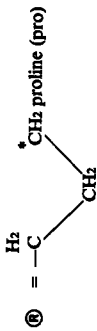
Fig. 2.5. Het centrale dogma. *Het centrale dogma geeft het principe aan van de nucleïnezuur- en eiwitproductie in een cel. Het DNA in de kern bevat alle erfelijke informatie van de cel. DNA kan zichzelf repliceren waarbij de erfelijke informatie aan dochtercellen kan worden doorgegeven. Het DNA fungeert ook als model voor de productie van boodschapper-RNA. Dit boodschapper-RNA wordt in het cytoplasma vertaald in eiwit. Virussen houden zich niet altijd aan dit centrale dogma. Bij RNA-virussen is de erfelijke informatie niet in DNA maar in RNA opgeslagen; en retrovirussen hebben een enzym, het reverse transcriptase, dat RNA kan omzetten in DNA.*

Deze informatie omvat niet alleen het bouwplan van de cel, maar bepaalt ook het gedrag van de levende cel. Zo vindt er een continue reeks processen plaats bij delende cellen. Verder verkeren cellen in voortdurende wisselwerking met hun omgeving, die hen tot allerlei acties prikkelt. Een belangrijke regelende rol is in de cel weggelegd voor een speciale klasse, meestal wat kleinere eiwitten, die met *enzymen* wordt aangeduid. Zij spelen een bemiddelende rol bij allerlei chemische reacties, die ze sterk kunnen versnellen of vertragen. Net als alle andere eiwitten zijn enzymen opgebouwd uit lange ketens *aminozuren*, waarvan we 20 verschillende soorten kennen. De opbouw en functie van een eiwit wordt bepaald door de precieze volgorde van de aminozuren. We waren reeds zover, dat we aannamen dat de erfelijke informatie in de chromosomen was verankerd, nu moeten we nog een stap verder. Als een chromosoom bepaalt hoe een eiwit in elkaar steekt, dan moet in het chromosoom ook de informatie aanwezig zijn over de volgorde van de aminozuren in het eiwit. Een logische vraag was dan ook hoe deze informatie gecodeerd was, hoe de drager ervan er precies uit zag, hoe deze code werd afgelezen en hoe tenslotte het syntheseproces van het eiwit plaatsvond. Daarom is het niet verbazingwekkend dat men erg geïnteresseerd was in de precieze opbouw van de chromosomen.

Sinds 1900 was bekend dat chromosomen voor het grootste deel bestonden uit eiwitten en uit een stof, die vanwege zijn zure eigenschappen, *kernzuur* of *nucleïnezuur* werd genoemd. Er werden twee typen nucleïnezuur ontdekt, het DNA (*desoxyribonucleïnezuur*) en het RNA (*ribonucleïnezuur*). DNA werd alleen in de kern gevonden, RNA ook daarbuiten. Beide stoffen zijn opgebouwd uit een zeer groot aantal basiselementen, de *nucleotiden*, waarvan

30 Tabel 2.1. De 20 aminozuren waaruit eiwitten zijn opgebouwd.





zowel DNA als RNA er vier verschillende heeft. Voor DNA zijn dit: adenine, guanosine, cytosine en thymidine (A, G, C en T). RNA heeft de eerste drie gemeen met DNA. In plaats van thymidine komt in RNA uridine voor (A, G, C, U). Deze vier basiselementen komen in de kernzuren in ongeveer gelijke proporties voor, hetgeen er aanvankelijk toe leidde dat men meende dat stoffen als DNA uit een zeer grote reeks nucleotiden bestond, die in een regelmatig patroon voorkwamen. Een dergelijke structuur bevat echter nauwelijks enige informatie en men dacht dan ook dat het DNA niet in aanmerking kwam als informatiedrager van de erfelijke eigenschappen.

Pas toen in 1947 de waarnemingsmethoden aanmerkelijk waren verbeterd, kon Chargaff aantonen dat de vier nucleotiden niet in gelijke hoeveelheden voorkwamen, hoewel dat wel gold voor het paar A-T en ook G-C. De onderlinge verhoudingen bleken voorts af te hangen van het organisme waar het DNA uit afkomstig was. Ondertussen had Avery in 1944 al laten zien dat de erfelijke eigenschappen van een bacterie gewijzigd konden worden door aan de bacterie DNA toe te voegen. De enorme complexiteit van de stof verhinderde een snelle oplossing van het raadsel. Uiteindelijk kwamen Watson en Crick in 1953 met de precieze structuur van het DNA, die ze hadden afgeleid uit röntgendiffractiepatronen. Met de röntgendiffractietechniek, die ontwikkeld werd voor het

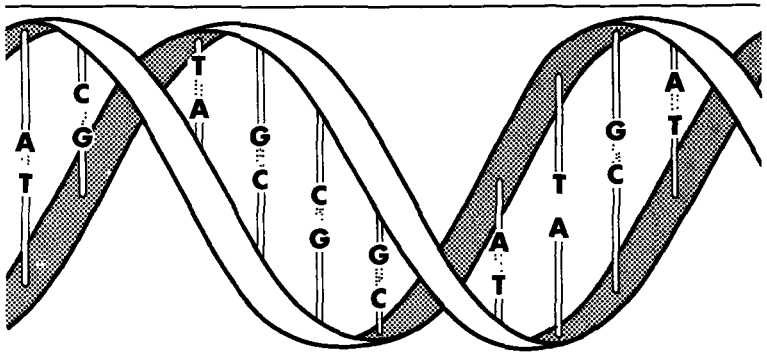


Fig. 2.6. Structuur van het DNA. DNA is opgebouwd uit 4 nucleotiden (of 'basen'): adenine, cytosine, thymidine en guanosine. Deze nucleotiden vormen twee strengen die een dubbele spiraal vormen, de zgn. dubbelhelix. De strengen hebben een complementaire structuur: tegenover adenine op een streng ligt altijd een thymidine op de andere en guanosine ligt altijd tegenover cytosine ('base-pairing'). Door deze complementaire structuur blijft de erfelijke informatie die bepaald wordt door de volgorde van nucleotiden in het DNA behouden bij de replicatie van het DNA.

onderzoek van kristallijne stoffen, is het mogelijk om uit het ruimtelijke intensiteitspatroon, van de door de kristalbouwstenen verstrooide straling, de structuur van het kristal af te leiden. Eiwitten en kernzuren bleken in een kristallijne toestand gebracht te kunnen worden en werden zodoende toegankelijk voor genoemde analysetechniek. Het model van Watson en Crick, waarmee ze een Nobelprijs verdienden, kwam erop neer dat DNA zou bestaan uit twee zeer lange lijnvormige strengen die een dubbele spiraal vormen. Daarbij zit A op de ene streng altijd tegenover T op de andere en is G altijd gepaard aan C. Daarmee kon een deel van de puzzel verklaard worden. Ook werd nu begrijpelijk hoe de chromosomen de erfelijke informatie doorgeven. Tijdens de celdeling gaan beide strengen van de zogenoemde dubbele *helix* uit elkaar. Tegen de losse strengen wordt een nieuwe streng gevormd, waarbij de informatie van de enkele streng samen met de eis dat alleen A en T en G en C combineren, voldoende is om een nieuwe streng op te bouwen, die identiek is aan de streng die zich heeft losgemaakt en een soort negatieve blauwdruk van de basisstreng is, waarna twee identieke dubbele strengen de beide dochtercellen gaan 'besturen'. Na de fundamentele bijdrage van Watson en Crick werd het onderzoek van de chromosomen met verheugde inspanning voortgezet. En er werden snelle vorderingen gemaakt in de tak van de biologie die met moleculaire biologie wordt aangeduid. Zo ontdekten men de wijze waarop de informatie in het DNA-molecuul gecodeerd is. De natuur blijkt een drielettercode te hanteren, waarbij iedere letter wordt voorgesteld door één van de vier nucleotiden. Op deze wijze kunnen 64 verschillende drieletterwoorden worden samengesteld. Combinaties van drie nucleotiden blijken de code te vormen voor aminozuren, die betrokken zijn bij de opbouw van een eiwit. De 64 combinaties zijn ruim voldoende om voor 20 verschillende aminozuren als code te fungeren.

De opbouw van een eiwit gaat globaal als volgt in zijn werk. Een gedeelte van het DNA bevat de informatie voor de synthese van het eiwit, bijv. in de vorm: AAT/CGA/TTG enz. Bij de vertaling van de code speelt het RNA een belangrijke rol. Het betreffende strenggedeelte gaat namelijk als blauwdruk dienen voor het zogenoemde boodschapper-RNA, op analoge wijze als de ene DNA-streng de vorming van het bijbehorende 'negatief' kan sturen. Een DNA-spiegelbeeld van bovengenoemde reeks zou er uitzien als: TTA/GCT/AAC (met behulp van de regel A en T paren evenals C en G). In RNA wordt de plaats van T ingenomen door U en de structuur van het RNA is dus: UUA/GCU/AAC. Dit boodschapper-RNA verlaat de kern en bindt zich in het cellichaam aan de ribosomen. Dit zijn onderdelen van de celfabriek, waar eiwitten in

elkaar worden gezet. De code wordt hier vertaald in een bepaald aminozuur (in dit voorbeeld leucine-alanine-asparagine). Het boodschapper-RNA schuift langs het ribosoom dat de achtereenvolgende aminozuren aan elkaar plakt, die door weer een ander kernzuur, het zogenoemde transport-RNA, worden aangevoerd. Het proces is aanzienlijk complexer dan hier is aangeduid. Zo zijn er biochemische mechanismen die ervoor zorgen dat alles feilloos verloopt, dat er van een bepaald eiwit juist voldoende wordt aangemaakt, dat de energie die bij de produktie wordt gebruikt, beschikbaar is enz. We hebben slechts de basisbegrippen willen aanstippen, die nodig zijn om het verschijnsel virus te kunnen begrijpen.

Tabel 2.2. *De genetische code.* Hoe een eiwit uit de verschillende aminozuren moet worden opgebouwd wordt geregeld door het DNA. De volgorde van de nucleotiden in het DNA is hiervoor bepalend. Een volgorde van 3 nucleotiden (een zgn. triplet) codeert voor één aminozuur. Er zijn 64 tripletten mogelijk. In de tabel is af te lezen welk aminozuur bij welk triplet hoort (voor verklaring afkortingen aminozuren, zie figuur 2e). Een aminozuur kan door meerdere tripletten worden gecodeerd. Zo zijn er 10 verschillende tripletten die leucine coderen. Er zijn ook tripletten, zoals TAA, die niet coderen voor een aminozuur, maar aangeven dat het eiwit klaar is (in de tabel aangegeven door stop).

	2 → T	C	A	G	
1 ↓ T	phe phe leu leu	ser ser ser ser	tyr tyr stop stop	cys cys stop tyr	T C A G 3
C	leu leu leu leu	pro pro pro pro	his his glu glu	arg arg arg arg	T C A G 3
A	leu leu leu leu	thr thr thr thr	aspn aspn lys lys	ser ser arg arg	T C A G 3
G	val val val val	ala ala ala ala	asp asp glu glu	gly gly gly gly	T C A G 3

De groei van virussen

Virussen zijn de kleinst bekende vormen van leven. Zij groeien alleen parasitair. Hun groei gaat ten koste van cellen die ze infecteren. Virussen worden wel ingedeeld naar het soort cellen dat zij infecteren. Zo spreekt men van *mycofagen*, virussen die groeien op schimmels, bacteriofagen, de virussen die bacteriën kunnen besmetten, de dierlijke virussen, de virussen die groeien op cellen van mensen en dieren enz.

Virussen bestaan uit nucleïnezuur met daaromheen een eiwitmantel. Het nucleïnezuur is of DNA of RNA. Deze nucleïnezuren komen in virussen, in tegenstelling tot cellen, nooit samen voor. Als voorbeeld van virusgroei mag dienen de manier waarop het Vesicular-Stomatitisvirus (VSV), een verwekker van mond- en klauwzeer, cellen besmet. VSV is een zgn. enkelstrengs-RNA-virus. De virusinfectie begint met de adsorptiefase, waarbij het eerste contact tussen het virus en de celmembraan tot stand komt. In de volgende, de zogenoemde penetratiefase, dringt het virus de cel binnen. Vervolgens gaat het kapsel open en komt het nucleïnezuur RNA vrij in de cel. Men spreekt van de ont kapseling of *uncoating*. Dan worden op de RNA-streng nieuwe RNA-strengen gemaakt die een dubbele functie hebben. Ze vormen als het ware de negatieve blauwdruk waarop weer RNA-strengen worden gemaakt die precies gelijk zijn aan het RNA zoals het in het virus voorkwam. En dit negatief RNA fungeert als boodschapper-RNA, waarop de code ligt waarmee op de *ribosomen*, de eiwitfabrieken van de cel, de viruseiwitten worden gemaakt. De virusei-

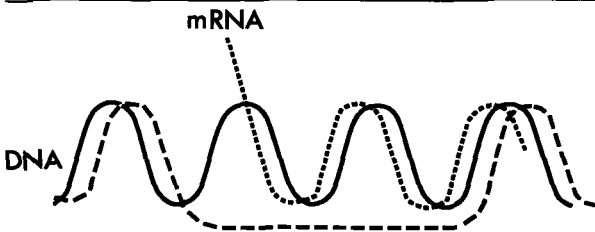


Fig. 2.7. Transcriptie. Bij de transcriptie wordt de code van het DNA overgeschreven in een boodschapper-RNA of messenger-RNA (m-RNA). Dit m-RNA wordt later vertaald in een eiwit. Bij de productie van m-RNA gaat de dubbelstreng van het DNA open en met een van de strengen als mal wordt een complementair m-RNA gemaakt d.m.v. base-pairing, waarbij een G in het DNA een C wordt in het RNA en andersom, en een A altijd een U of andersom (in RNA komt geen thymidine voor, maar in plaats daarvan uridine, aangeduid met U).

witten, plus de kopieën van het virus-RNA, vormen in de assemblagefase de nieuwe virussen. Door de virusgroei wordt het normale functioneren van de cel zo verstoord dat de cel sterft. De cel springt kapot, anders gezegd, de cel lyseert en de honderden nieuwe VSV-virussen komen naar buiten en kunnen weer nieuwe cellen gaan besmetten.

De groei van VSV zoals hier geschetst, is maar een van de vele manieren waarop de verschillende soorten virussen kunnen groeien. Ook hoeft de infectie niet altijd de celdood tot gevolg te hebben. Een virus kan, eenmaal in de cel, als het ware onderduiken en jarenlang onmerkbaar blijven om dan plotseling actief te worden en zijn gastheercel te vernietigen. Hij kan ook de cel in leven laten, maar wel de eigenschappen ervan veranderen. Zo hebben kanker-

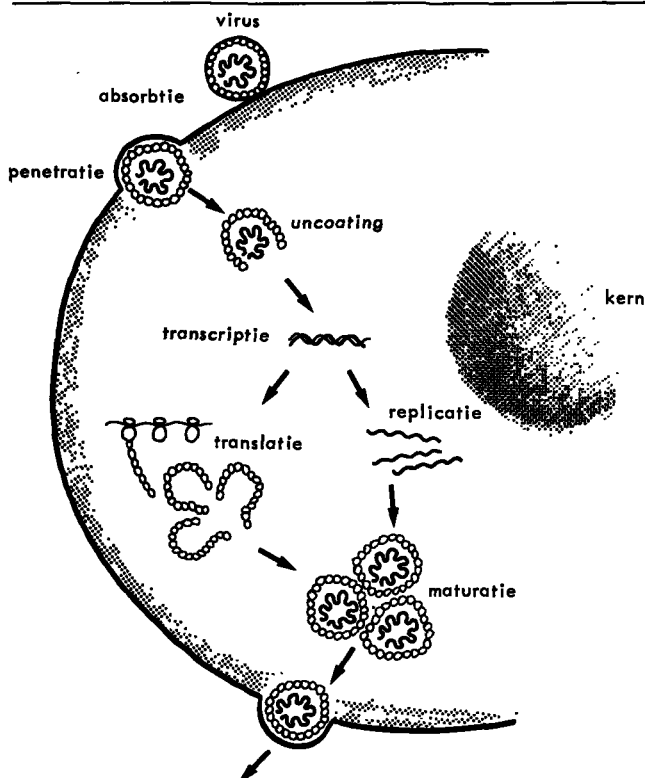


Fig. 2.8. Virusreproductie. De verschillende stadia van virusreproductie in een cel. In dit voorbeeld een RNA-virus waarbij de gehele virusreproductie plaatsvindt in het cytoplasma. Dit is maar een algemene beschrijving. Ieder virus heeft zo'n beetje zijn eigen manier van vermenigvuldiging.

virussen tot gevolg dat cellen zonder enige controle gaan delen en groeien, kortom een kankercel worden. Maar wat een virus ook doet, het is in ieder geval compleet afhankelijk van de cel. Laten we nog eens kijken naar het VSV-virus. Het maakt de aminozuren die zijn viruseiwitten moeten gaan vormen niet zelf. Ook de nucleotiden die zijn RNA nodig heeft worden door de cel gemaakt. Bijna alle enzymen die de virusgroei regelen, steelt het virus van de cel. Ook alle energie die de virusgroei onderhoudt, is van de cel afkomstig. Kortom de virusstofwisseling is eigenlijk celstofwisseling. En dat is de voornaamste reden waarom het zo moeilijk is om virusgroei te remmen en virusziekten te behandelen. Een middel gericht tegen een virus, moet in staat zijn om de virusgroei te remmen zonder de patiënt, de gastheer schade te doen. Selectief de virusstofwisseling remmen als dit in feite voor 99% de gastheerstofwisseling is, is zeer moeilijk. Een antiviraal middel heeft dan maar 1% stofwisseling waarop het gericht kan worden. Het is dus logisch dat er nog maar zo weinig antivirale middelen zijn.

De ontwikkeling van technieken om virussen te bestuderen

Zoals geschetst bij de ontrafeling van de opbouw van DNA, die pas mogelijk werd nadat de röntgendiffractiemethode was ontwikkeld, is de vooruitgang in de wetenschap vaak het gevolg van technologische vernieuwing die nieuwe methoden van onderzoek mogelijk maakt. Deze afhankelijkheid van technieken geldt ook voor de virologie. De snelle ontwikkelingen in de virologie na de Tweede Wereldoorlog zijn in gang gezet door de ontwikkeling van celkweektechnieken, die het mogelijk maken virussen op eenvoudige wijze onder gecontroleerde omstandigheden te kweken. Voor die tijd werd het onderzoek in dierlijke virussen ernstig belemmerd door het feit dat deze alleen wilden groeien in levende cellen. De wetenschappers die zich met de bacterievirussen, de bacteriofagen, bezighielden, hadden het een stuk gemakkelijker. Deze virussen kon men kweken op bacterieculturen. Bacteriën op hun beurt kunnen gemakkelijk op voedingsbodems van dood materiaal, zoals vleesextracten en serumproducten worden gekweekt met methoden die al door Pasteur en Koch werden ontwikkeld. Aanvankelijk konden virussen alleen in proefdieren als muizen, kippen en apen, worden gekweekt. Het gebruik van proefdieren is niet erg bevorderlijk voor gedetailleerde studies van de wisselwerking tussen virus en cel. Een grote stap vooruit was de ontwikkeling rond 1929 door Goodpasture van methoden om virussen te kweken in bevruchte en bebroede kippe-eieren. Door virussen op

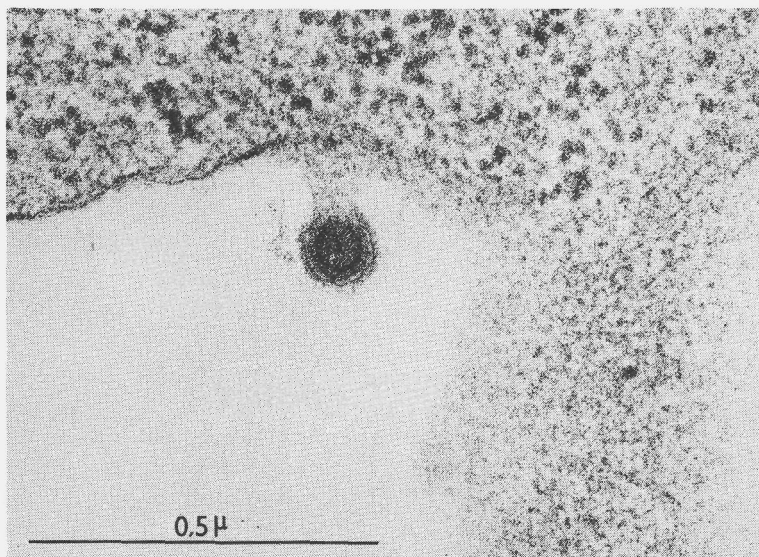


Fig. 2.9. Budding. Een elektronenmicroscopische opname (vergroting 80 000×) van een leukemievirus dat de cel verlaat door het proces van 'budding'. Een cel kan chronisch met deze virussen besmet zijn zonder dat hij eraan kapotgaat. Zo'n cel kan dan voortdurend deze virussen produceren, die via de celmembraan, die verder intact blijft, de cel verlaten.

deze manier in kippe-embryo's te laten groeien werd het mogelijk bepaalde virussen van elkaar te onderscheiden aan de hand van de verschillende effecten, die ze gaven in het bebroede kippe-ei. Ook konden nu een aantal virussen in grotere hoeveelheden worden gekweekt en daardoor beter bestudeerd. Bebroede kippe-eieren worden nog steeds in de virologie gebruikt o.a. voor het isoleren van bepaalde soorten griepvirus. Ook spelen ze een rol bij de productie van *interferon* zoals we later zullen zien.

Ook de ontwikkeling van de elektronenmicroscopie in de jaren '30 heeft grote invloed gehad op het virologisch onderzoek. Met dit instrument was het mogelijk om virussen zichtbaar te maken. Maar zoals al gezegd, de ontwikkeling van de virologie kwam vooral op gang door de ontwikkeling van weefselkweektechnieken waarbij cellen op glas (of tegenwoordig plastic) worden gekweekt. Wanneer deze cellen met virussen worden besmet, kunnen verschijnselen die virussen in cellen teweegbrengen direct worden bestudeerd.

De weefselkweek is ontstaan uit de orgaanweefselkweek. Bij de orgaanweefselkweek gebruikte men hele organen als ogen en lever of delen er-

van. Als men de juiste technieken toepaste, konden deze organen wel enige tijd in leven worden gehouden. Celkweken werden mogelijk door de invoering van het eiwit afbrekende enzym *trypsin*, dat organen die eraan worden blootgesteld in cellen uiteen doet vallen. Deze cellen nu kunnen op glas of plastic worden gekweekt. Ze moeten dan in een kweekmedium worden gebracht waarin zich voedingsstoffen, vitaminen en, heel belangrijk, groeifactoren bevinden. Als groefactor neemt men het liefst serum dat afkomstig is van ongeboren kalveren. Een essentieel onderdeel van het kweekmedium vormen de antibiotica die moeten voorkomen dat een celkweek wordt besmet met bacteriën. Een kweekmedium voor cellen is namelijk ook een ideale voedingsbodem voor bacteriën, gisten en schimmels. Om dit soort besmettingen te voorkomen worden cellen onder steriele omstandigheden gekweekt en worden aan het kweekmedium antibiotica toegevoegd.

Cellen die direct afkomstig zijn van met trypsin behandelde organen, vormen een zogenaamde primaire cultuur. De cellen in een dergelijke primaire cultuur zullen zich delen en blijven groeien tot het gehele oppervlak van de weefselkweekfles met een laag cellen is bedekt en een aaneengesloten laag vormen die met de Engelse benaming *monolayer* wordt aangeduid. Dat de cellen een mooie aaneengesloten laag vormen, komt door het verschijnsel van *contactinhibitie*. Met contactinhibitie bedoelt men het feit dat een cel ophoudt met delen als zij aan alle zijden in contact is met andere cellen. Men kan zo'n cellaag of monolayer weer met trypsin behandelen. De cellen laten dan los van het glas en van elkaar, waarna men de cellen over twee andere flessen kan verdelen. Daarin groeien de cellen weer tot een monolayer is gevormd. Men kan zo'n tweede passage van een celkweek weer met trypsin behandelen en evenzo volgende passages. Men kan dit zogenaamde doorpasseren echter niet eindeloos herhalen. Kippecellen verliezen na 20-40 delingen hun levenskracht. Mensencellen na zo'n 50 à 100 passages.

In bepaalde gevallen kunnen er bij het doorkweken cellen ontstaan die niet na een aantal passages slechter gaan groeien of doodgaan, maar eindeloos kunnen worden doorgeweekt en die zelfs beter groeien dan de oorspronkelijke primaire cellen. De cellen vormen de continue cellijnen en er zijn in sommige laboratoria cellijnen waarbij de cellen al zo'n 5 000 maal zijn doorgespeerd. De cellen van de continue cellijnen hebben t.o.v. de oorspronkelijke cellen waaruit ze zijn ontstaan, een aantal andere eigenschappen gekregen, getransformeerd zoals men zegt. De cellen van continue cellijnen hebben eigenschappen die ze delen met kankercellen. Ze hebben geen groeiregeling meer als contactinhibitie, ze

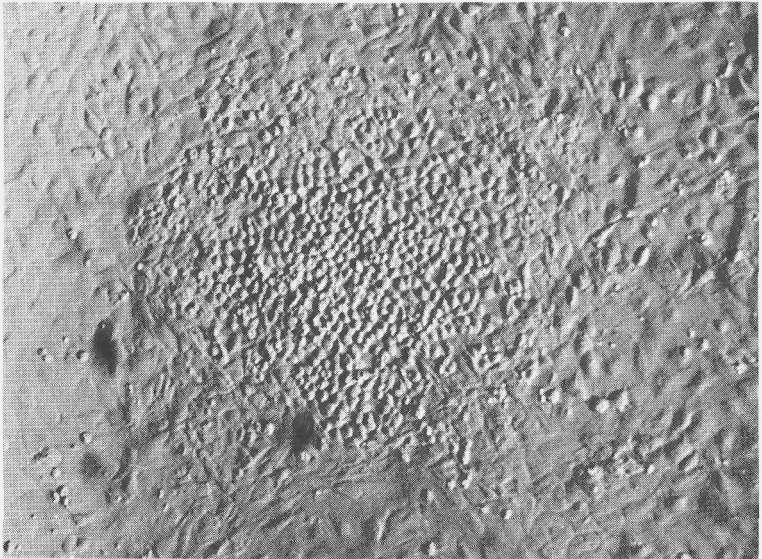
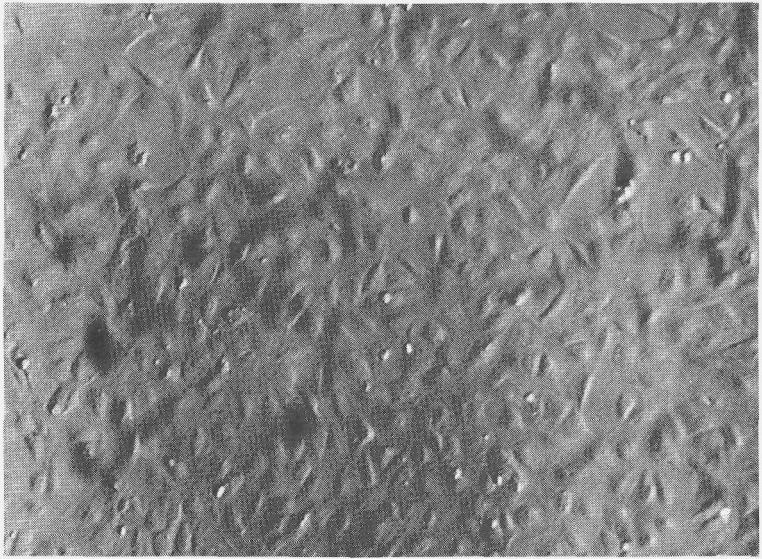


Fig. 2.10. Celtransformatie. Boven cellen in een normale celkweek. De cellen vertonen contactinhibitie: ze houden op met delen als ze elkaar raken. Beneden zijn de cellen behandeld met een bepaald DNA en getransformeerd. Ze groeien niet meer zo georganiseerd als normale cellen, maar hebben eigenschappen gekregen die ze doen lijken op kankercellen.

vormen geen mooie laag meer, maar ze groeien kriskras door elkaar in meerdere lagen. Wanneer deze cellen in proefdieren worden ingespoten vormen ze kankergezwellen. De verwantschap tussen kankercellen en cellen van continue cellijnen blijkt ook op andere wijze. Als men celkweken maakt uit kankergezwellen (tumoren), dan hebben deze cellen al onmiddellijk de eigenschappen van continue cellijnen. Men kan cellen in primaire kweken tot continue cellijnen maken (transformeren) door ze met kankervirussen of kankerverwekkende stoffen te behandelen. In de virologie worden allerlei celkweekmethoden toegepast. De voordelen van de techniek zijn talrijk. De verschijnselen die een bepaald virus in een

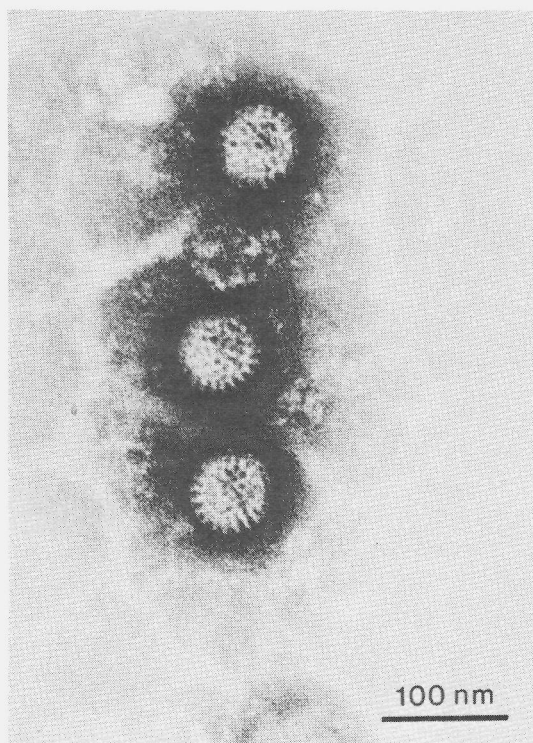


Fig. 2.11. Rotavirus. Ondanks de ontwikkeling van minder arbeidsintensieve methoden om virussen te herkennen is de elektronenmicroscop nog steeds belangrijk bij de diagnose van bepaalde virusziekten, zoals bij rotavirussen waarvan hier een elektronenmicroscopische foto. Rotavirussen kunnen epidemieën geven van maag-darminfecties bij kinderen en kalveren.

celkweek teweegbrengt, zijn vaak typisch, zodat men langs deze weg een virus kan herkennen. Cellen en daarmee virussen kunnen in grote hoeveelheden worden gekweekt voor de produktie van vaccins. Men kan direct de interactie tussen virussen en cellen bestuderen. Men kan de hoeveelheid virus in maat en getal meten, door bijvoorbeeld te testen tot welke verdunning een bepaald viruspreparaat in staat is om celkweken te infecteren. Kortom de celkweek is onmisbaar geworden in de virologie en verderop in dit boek zal dit nog wel duidelijk worden.

0

III. De ontdekking van interferon

In onze tijd bestaan er tegen elke ziekteverwekkende bacteriesoort wel enkele bestrijdingsmiddelen. De situatie voor virussen steekt daar heel schril tegen af. De belangrijkste reden voor dit verschil komt voort uit de fundamenteel verschillende bestaanswijzen, die beide levensvormen erop nahouden. Virussen zijn uitgesproken parasieten. Bacteriën daarentegen leiden een veel zelfstandiger bestaan en hun opbouw en stofwisseling wijkt af van die van cellen van hogere organismen. Dit maakt het speuren naar en het ontwikkelen van stoffen die bacteriën in hun groei kunnen remmen of ze kunnen doden, relatief eenvoudig. Zo remt penicilline, het eerste specifieke antibacteriële middel, de opbouw van de wand van een bacterie. Nu wijkt de opbouw van een bacteriewand in een aantal opzichten af van die van een cel van een hoger organisme (zoals de mens). Dit geldt ook voor het mechanisme dat werkzaam is bij die opbouw. Het is dan ook niet onbegrijpelijk dat penicilline geen remmende werking vertoont ten aanzien van de gastheercellen. Deze selectieve remmende werking laat toe dat men meestal zonder bezwaar penicilline kan toedienen aan iemand die te maken heeft met een bacterie-infectie. Het antibioticum zal immers alleen de bacterie treffen en niet de patiënt. Virussen hebben voor hun groei een gastheercel nodig, die ze onder meer voor hun karretje spannen door de stofwisseling van de gastheercel ten eigen bate te benutten. De stofwisseling van een virus is bijna identiek aan die van de gastheercel. Vandaar het probleem stoffen te vinden die de virusgroei beïnvloeden zonder dat de gastheercel er al te veel last van heeft. Gelukkig voor ons heeft de natuur ons waarschijnlijk al heel lang geleden zodanig uitgerust met verdedigingsmiddelen tegen alle mogelijke externe bedreigingen, dat wij de meeste virusaanvallen zonder veel moeite kunnen overleven. Nog niet zo lang geleden werden enkele interessante tippen van de sluier van deze verdedigingslijnes voorzichtig opgelicht.

In de jaren '30 werd voor het eerst melding gemaakt van de zogenaamde *virale interferentie*, waarmee het verschijnsel werd aangeduid dat een weefsel of organisme dat met één virussoort is besmet niet nog eens door een andere virussoort besmet kan worden. Zo beschreef Magrassi in 1935 het geval van konijnen die besmet waren met een onschuldig herpesvirus en daarmee beschermd bleken te zijn tegen een veel gevaarlijker herpesvirus dat verantwoordelijk is voor hersenvliesontsteking. In datzelfde jaar kwam Hoskins

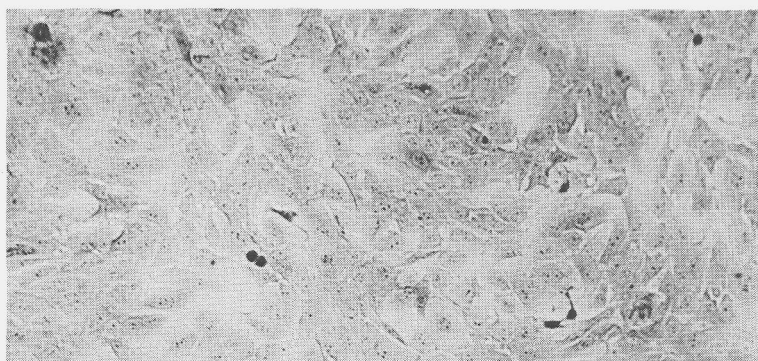
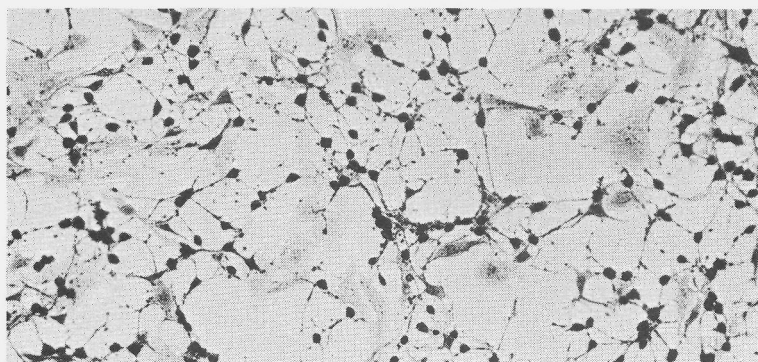
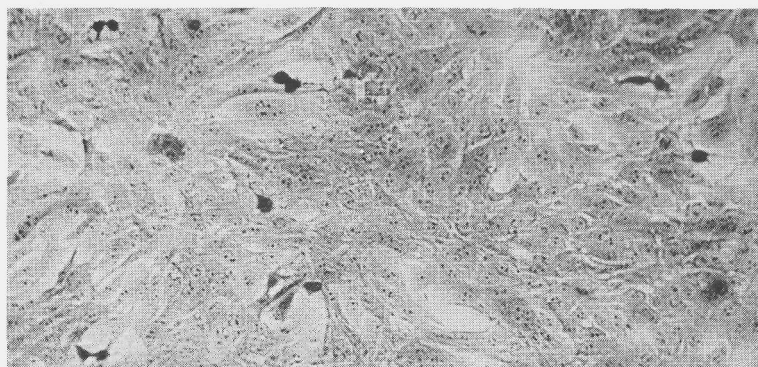


Fig. 3.1. Antivirale werking van interferon.

Foto 1: een kweek van rattecellen.

Foto 2: deze cellen 24 uur na besmetting met Vesicular Stomatitis Virus (VSV). Bijna alle cellen zijn vernietigd door het virus.

Foto 3: de rattecellen besmet met VSV maar voorbehandeld met interferon. De cellen zijn volledig beschermd tegen het virus.



Fig. 3.2. Jean Lindenmann. Jean Lindenmann, een van de twee ontdekkers van interferon. De Zwitser Lindenmann ging in 1956 naar Engeland voor een studiejaar in het laboratorium van Alick Isaacs in Mill Hill, waar zij samen in 1957 interferon ontdekten. Na dat succesvolle jaar ging Lindenmann terug naar Zwitserland, waar hij nu hoogleraar is in de immunologie aan de universiteit van Zürich.



Fig. 3.3. Alick Isaacs. De in 1967 overleden Engelse onderzoeker Alick Isaacs. Isaacs werkte al jaren aan het verschijnsel van virale interferentie toen hij in 1956 de Zwitser Jean Lindenmann als tijdelijke medewerker kreeg. Samen ontdekten zij in 1957 interferon.

met het bericht dat het ene soort gele-koortsvirus apen ongevoelig maakte voor een andere soort, die ook deze ziekte op zijn geweten kan hebben. In deze twee gevallen werden de proefdieren besmet met verwante virussen, zodat immuniteit een rol kan hebben gespeeld (voor verdere beschrijving van het begrip immuniteit, zie hoofdstuk VII).

De eerste ondubbelzinnige aanwijzing voor het bestaan van het fenomeen virale interferentie dateert uit 1937. In dat jaar rapporteerden Fintlay en MacCallen dat resusapen besmet met Rift-Valley-Feervirus beschermd waren tegen een gele-koortsvirus, dat in normale omstandigheden dodelijk is. Immuniteitseffecten waren nu uitgesloten. Rift-Valley-Feervirus en gele-koortsvirus zijn niet verwant en Rift-Valley-Feervirus kan geen immuniteit opwekken tegen gele koorts. Er moest een andere verklaring zijn voor dit verschijnsel. Theoretisch zijn er verschillende mogelijkheden. Virussen gaan vaak alleen op speciale plaatsen, de zogenaamde *receptoren*, de cel binnen. Men kan zich voorstellen dat het eerste virus de receptoren vernietigt die het andere virus nodig heeft om de cel binnen te kunnen gaan. Sommig virussen schakelen een deel van de gastheerstofwisseling uit. Het kan zijn dat een tweede virus voor zijn groei juist dit deel nodig heeft. Zo zijn er meer manieren te bedenken waarop het ene virus rechtstreeks een ander virus het leven zuur kan maken en deze zullen bij bepaalde vormen van virale interferentie zeker een rol spelen. De voornaamste oorzaak van virale interferentie werd in 1957 ontdekt door Isaacs en Lindenmann. De stof die zij vonden is niet afkomstig van het virus maar wordt door de geïnfecteerde cel gemaakt.

Isaacs en Lindenmann bestudeerden de interfererende eigenschappen van griepvirus (influenzavirus). Zij voegden dit virus toe aan cellen die afkomstig waren van een bevrucht kippe-ei. Zij verwachtten dat de interfererende activiteit van de celweeekvloei-stof zou afnemen omdat het griepvirus de kippecellen binnengaat en dus uit de celweeekvloei-stof verdwijnt. Het omgekeerde gebeurde: de interfererende capaciteit nam toe. Isaacs en Lindenmann ontdekten dat deze toename het gevolg was van de produktie door de kippecellen van een stof met interfererende activiteit. Ze noemden de stof *interferon*. Interferon bleek zeer verbreid in de natuur voor te komen. Kippecellen, apencellen, mensencellen, rattencellen, bijna alle dierlijke cellen bleken tot interferonproduktie in staat. Zelfs planten produceren een stof die veel lijkt op interferon. Men vond verder dat niet alleen griepvirus maar ook allerlei andere virussoorten cellen tot interferonproduktie konden aanzetten. Twee eigenschappen van interferon in het bijzonder veroorzaakten veel enthousiasme onder de virologen: cellen die met interferon in con-

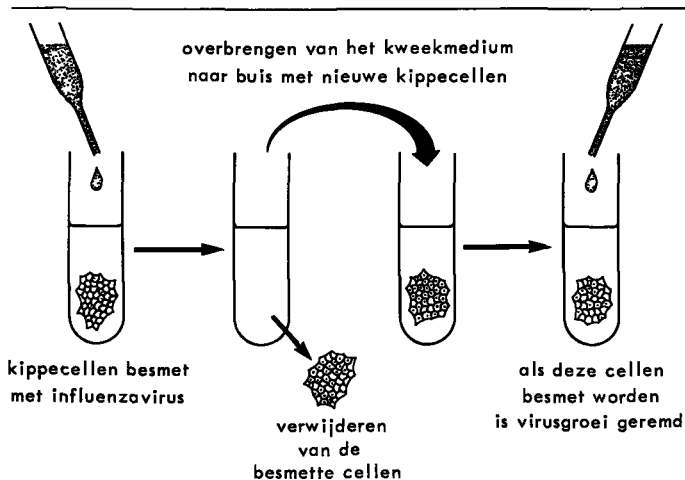


Fig. 3.4. Ontdekking van interferon. De ontdekking van interferon door Isaacs en Lindenmann schematisch weergegeven. De eerste kippecellen die werden besmet hebben in het weefselkweekmedium een stof achtergelaten die de virusgroei in de andere kippecellen remt. Isaacs en Lindenmann noemden de stof interferon.

tact waren geweest, waren beschermd tegen bijna alle soorten virussen en het interferon bracht in de cellen kennelijk geen schade teweeg. Door deze brede antivirale werking en de afwezigheid van schadelijke bijwerkingen leek interferon het ideale antivirale middel. Er was nog wel een beperking. De activiteit van interferon bleek soortgebonden. Interferon gemaakt door muizecellen is voornamelijk actief in muizecellen, enz. Interferon voor toepassing bij de mens diende dus gemaakt te worden door mensencellen.

Sinds 1957 is er veel onderzoek gedaan aan interferon met als voornaamste doel het toepasbaar te maken als geneesmiddel voor de mens. De weg naar dit doel bleek versperd door een onverwacht groot aantal obstakels. Het heeft tot het midden van de jaren '70 geduurd, voordat de eerste echte proefnemingen bij de mens op beperkte schaal konden beginnen. In de volgende hoofdstukken komen de problemen aan de orde die de interferononderzoekers tegenkwamen en zal worden geschetst hoe ze de moeilijkheden de baas werden. Daarmee zal de lezer hopelijk niet alleen een indruk krijgen van het interferononderzoek, maar zal hij ook aan de hand van deze specifieke episode uit het wetenschappelijk onderzoek een idee krijgen van het beslissingsmechanisme dat in de wetenschap werkzaam is.

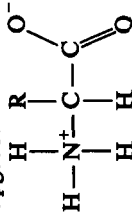
48 **Tabel 3.1. Voornaamste soorten biologische stoffen.**

Eiwitten

Meestal enzymen.

Ook voornaamste onderdeel van celwand, ribosoom, viruskapsel.

Opgebouwd uit aminozuren



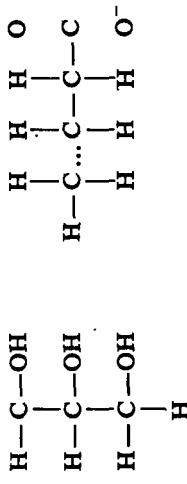
aminozuur (R afhankelijk type aminozuur)

Lipiden

Voorname energiebron.
In de vorm van fosfolipiden belangrijk onderdeel van celmembraan of virusenvelop.

Voornaamste bestanddelen glycerol en vetzuren.

H



glycerol

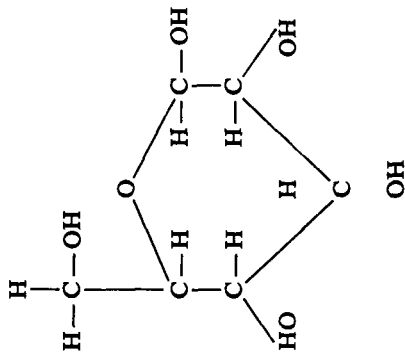
vetzuur

Suikers

Voorname energiebron.

In de vorm van pectine en lectinen belangrijk onderdeel van celwand.

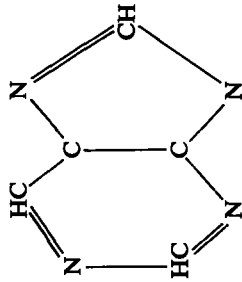
Van simpele suikers als glyucose en galactose (de monosacchariden) worden de polysacchariden opgebouwd.



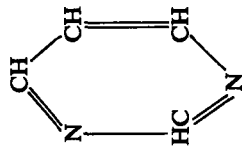
Nucleïnezuren

In de vorm van DNA de opslagplaats van de erfelijke informatie.
 Als RNA belangrijk voor productie van eiwit.

Opgebouwd uit nucleotiden die als basis een pyrine of pyrimidine hebben.



purine
 guanosine
 adenine



pyrimidine
 thymidine
 uridine
 cytosine

IV. De zuivering van interferon

Het eerste probleem dat om een oplossing vroeg was uiteraard de vraag wat interferon nu precies voor een stof was. Voor een analyse dient de stof in zuivere vorm aanwezig te zijn. Dat bleek evenwel een niet geringe opgave. Het is pas sinds kort mogelijk om bepaalde typen interferon helemaal te zuiveren. Daarvoor, en zeker in de beginjaren, konden de interferononderzoekers niet precies zeggen wat ze aan het onderzoeken waren behalve dan een biologisch verschijnsel. Dat bezorgde hun in hun eigen milieu een weinig benijdenswaardige positie. Collega-onderzoekers van Isaacs en Lindenmann in hetzelfde laboratorium noemden interferon dan ook gekscherend 'misinterpreton' (een combinatie van het Engelse woord 'misinterpretation', een verkeerde uitleg, en 'interferon').

Het zuiveren van interferon is om een aantal redenen moeilijk. Interferon is niet één enkele stof. Een cel produceert na besmetting met een virus een aantal interferonen met verschillende eigenschappen. Dat maakt het zuiveren al geen gemakkelijke zaak. Daar kwam evenwel een nog groter probleem bij: interferon wordt maar in uiterst geringe hoeveelheden gemaakt, zodat bij zuivering interferon gescheiden moest worden van relatief zeer grote hoeveelheden andere stoffen die door een besmette cel worden geproduceerd.

Heel lang is er geen zuiver interferon beschikbaar geweest. Het onderzoek is daardoor sterk beïnvloed. Niet alleen de precieze karakterisering werd erdoor belemmerd. Ook andere aspecten van het interferononderzoek werden erdoor bemoeilijkt. Zo konden allerlei effecten van interferon op cellen niet met zekerheid aan interferon worden toegeschreven. Ze konden net zo goed door de verontreinigingen in de interferonpreparaten zijn veroorzaakt.

Een probleem was ook, hoe interferon te kwantificeren. Immers, een aanduiding als x gram interferon heeft weinig betekenis, als meer dan 99% van de stof in het potje waar interferon op staat geen interferon is. Men heeft een uitweg gevonden door de hoeveelheid interferon niet vast te leggen naar gewicht maar naar antivirale activiteit. Men noemt een bepaling waarbij de hoeveelheid van een stof wordt gemeten aan de hand van de getoonde biologische activiteit een *bioassay*.

Ieder interferonlaboratorium heeft tot op zekere hoogte zijn eigen interferonbepalingsmethode, maar het principe van al deze me-

Tabel 4.1. Algemene kenmerken van interferon.

Het is een eiwit, soms met suikerstaart (glycoproteïne).

Molecuulgewicht 20 000-25 000 Dalton.

Met uitzondering van gamma-interferon is het stabiel in een zure omgeving.

Wordt in principe door elke cel gemaakt na inductie.

Binnen één soort kunnen verschillende typen worden geproduceerd.

Werking is soortspecifiek en het meest uitgesproken in cellen van eigen soort.

Werking niet-virusspecifiek. In met interferon behandelde cellen is de groei van de meeste typen virus geremd.

Uitgesproken biologisch actief, zelfs in een concentratie van 10^{-14} tot 10^{-15} molair.

thoden is gelijk. Van het preparaat met onbekende activiteit wordt een bepaalde verdunningsreeks gemaakt, bijv. 1/2, 1/4, 1/8, 1/16... 1/256. Deze verdunningen worden aan een aantal celkweken toegevoegd. De cellen worden de volgende dag besmet met een virus en er wordt bepaald tot welke verdunning het onbekende preparaat de cellen tegen het virus beschermt. Men stelt dan dat die verdunning die 50% van de cellen beschermt een eenheid interferon per milliliter bevat. Is dat in het gegeven voorbeeld de verdunning 1/128, dan bevat het onbekende preparaat 128 eenheden per ml.

Dit soort biologische testen of bioassays zijn zeer gevoelig voor invloeden van buiten. Testen van hetzelfde preparaat op verschillende dagen kunnen soms resultaten geven die wel een factor 4 van elkaar verschillen. Bovendien gebruikt ieder laboratorium zoals gezegd zijn eigen methode. Het gevolg is dat de resultaten van verschillende laboratoria niet direct vergelijkbaar zijn. Om deze redenen zijn internationale standaardpreparaten ingevoerd, die het mogelijk maken de eigen bepalingsmethode te ijken en de activiteit van een interferonpreparaat aan te geven t.o.v. de standaard in internationale referentie-eenheden.

De problemen met het zuiveren verhinderden overigens niet dat men toch het een en ander over de samenstelling van interferon te weten kwam. Dat ging dan wel via indirecte methoden, waarmee een aantal belangrijke vragen konden worden beantwoord. Bijna

alle stoffen in een levend organisme zijn onder te brengen in een van de volgende vier groepen van verbindingen: nucleïne-zuren (DNA of RNA), eiwitten, suikerverbindingen en vetten. Enzymen zijn eiwitten die een actieve, vaak katalyserende rol spelen bij biochemische reacties. Een speciale klasse enzymen bezit de eigenschap om van andere moleculen delen af te splitsen. Door dergelijke enzymen aan interferonpreparaten toe te voegen en vervolgens de antivirale activiteit te meten, is het mogelijk te achterhalen in welke van de vier genoemde groepen het thuishoort. De activiteit bleek vooral gevoelig voor een eiwitsplitsende behandeling en de veronderstelling lag voor de hand dat interferon een eiwit was. Door interferon aan diverse andere behandelingen te onderwerpen, kon de samenstelling verder worden gepreciseerd. De interferonactiviteit bleek na verwarming vrij stabiel tot 50°C en in sommige gevallen zelfs tot 100°C. Interferon bleek weinig gevoelig voor verandering in zuurgraad. In een pH-traject van 2,0 (zeer zuur milieu) tot 10 (zeer basisch milieu) bleek het actief.

Eiwitten (en dus interferon) zijn elektrisch geladen. Die elektrische lading is afhankelijk van de zuurgraad van het milieu waarin een eiwit zich bevindt. Is het milieu zuur, dan is een eiwit in het algemeen positief geladen; is het basisch, dan negatief. Voor ieder eiwit bestaat er een zuurgraad waarbij het eiwit noch positief noch negatief geladen is maar elektrisch neutraal. Men spreekt van het iso-elektrisch punt. Voor interferon ligt het iso-elektrisch punt rond pH 6,0, een matig zuur milieu dus.

Langs deze indirecte weg slaagde men erin om een redelijk inzicht te krijgen in de opbouw van interferon. Of beter gezegd interferonen. Niet alleen bleken er verschillen tussen de interferonen die worden geproduceerd door verschillende diersoorten als rat, muis, kat, mens, enz., maar ook binnen één soort bleken verschillende typen voor te komen. Bij de mens zijn tot nu toe drie typen interferon gevonden, het alfa-, beta- en gamma-interferon. Het onderscheid tussen deze drie soorten is gebaseerd op hun antigene eigenschappen d.w.z. de eigenschappen om in andere dan de eigen diersoort antilichamen op te wekken. Als men menselijk interferon bijv. inspuit bij een konijn, dan zal het konijn dit interferon als een vreemd eiwit identificeren en er antilichamen tegen produceren (zie voor verder uitleg, hoofdstuk VII). Als men alfa-interferon inspuit, zullen deze antilichamen alleen reageren met alfa- en niet met beta- en gamma-interferon; spuit men beta-interferon in, dan zullen de antilichamen alleen met beta-interferon en niet met de andere reageren en evenzo met gamma-interferon.

Men zegt dat de antigene eigenschappen van de drie interferontypen verschillen. Welk type interferon gemaakt wordt, is afhanke-

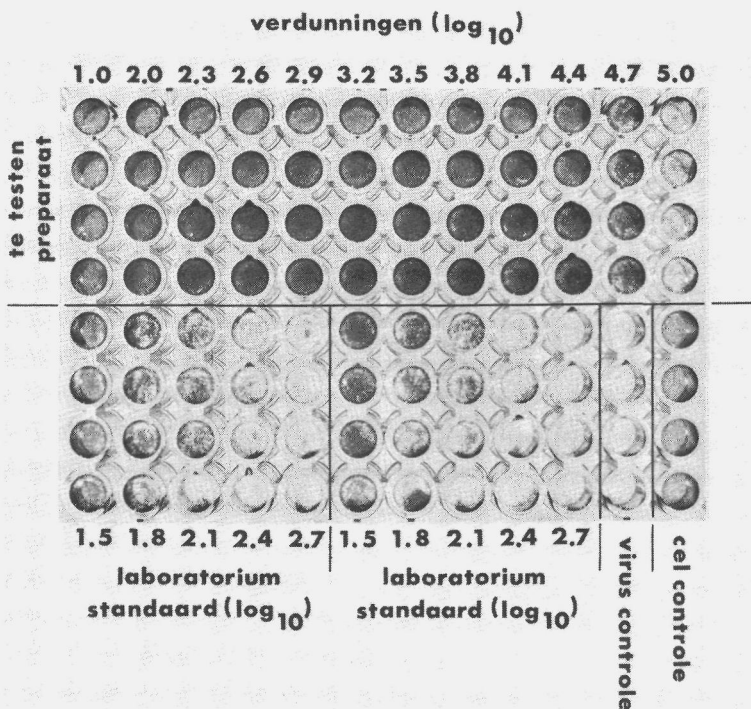


Fig. 4.1. Interferonassay. De kwantificering van een ratte-interferonpreparaat door middel van een bioassay op rattecellen. Dit is een schaalte met 96 kleine celkweken. De celcontrole rechtsonder laat zien hoe deze celkweek er na kleuring uitziet. Links daarvan het effect op deze cellen van een besmetting met een virus. Hier zijn de cellen kapot en is geen kleuring opgetreden. De rest van de celkweken zijn ook besmet, maar deze zijn eerst voorbehandeld met een verdunning van drie verschillende interferonpreparaten. In de bovenste vier horizontale rijen zijn de cellen voorbehandeld met verdunningen in viervoud van 1/10 tot 1/100 000 van een ratte-interferonpreparaat waarvan de hoeveelheid interferon werd getest. Tot de verdunning 1/50 000 is dit preparaat in staat de cellen tegen het virus te beschermen. Deze verdunning bevat per definitie 1 unit ratte-interferon/ml. Het preparaat bevat 50 000 units interferon/ml. Omdat dit soort testen aan nogal wat variaties onderhevig is, worden steeds controlepreparaten meegenomen. In de onderste vier horizontale rijen zijn twee laboratoriumstandaarden meegetest. Beide met een activiteit van 100 units/ml. Deze activiteiten zijn ook in deze test teruggevonden, wat aantoont dat de uitkomst van de test betrouwbaar is.

lijk van de celsoort. Witte bloedcellen produceren het alfa-interferon, bindweefselcellen maken het beta-interferon. Het laatst ontdekte type menselijk interferon, het gamma interferon, wordt onder bepaalde omstandigheden gemaakt door een bijzonder soort cellen, de T-lymfocyten (cellen die een belangrijke rol spelen bij de afweer). Dit gamma-interferon houdt de onderzoekers op dit moment nogal bezig, omdat het een veelbelovend middel tegen kanker lijkt.

De complete zuivering en karakterisering van een aantal interferonen is op den duur wel gelukt, zij het pas vrij recent. Men moet veel respect hebben voor de onderzoekers, die dit soms pas na tien jaar ploeteren klaar hebben gespeeld. Op het gebied van de zuivering viel aanvankelijk weinig eer te behalen. Het is nogal frustrerend om elk jaar opnieuw op de verschillende interferoncongressen te moeten melden dat het nog niet is gelukt.

Interferon is een eiwit en de methoden die tot complete zuivering hebben geleid zijn min of meer de standaardtechnieken die ook worden gebruikt om andere eiwitten te zuiveren. Zuivering van interferon is mogelijk door de juiste volgorde van technieken te kiezen en uit te gaan van een enorme hoeveelheid basismateriaal. We zullen daar nu wat nader op ingaan.

De eerste stap bij de zuivering is de uitzouting of *precipitatie*. Aan het interferonpreparaat worden zouten als ammoniumsulfaat en zinkchloride en trichloorazijnzuur toegevoegd, waardoor een aantal eiwitten neerslaat en uit de vloeistof kan worden verwijderd. Men kan de concentraties van de toegevoegde stoffen zo kiezen dat interferon in oplossing blijft en een aantal ongewenste eiwitten neerslaat, of dat interferon neerslaat en een aantal verontreinigingen in oplossing blijft. Het interferon slaat helaas nooit alleen neer, maar doet dat samen met een aantal andere eiwitten ook. Precipitatie is dan ook geen erg efficiënte zuiveringstechniek. Meestal wordt het alleen toegepast om het interferon te concentreren in een kleiner volume, dat beter hanteerbaar is dan de tientallen liters uitgangsmateriaal. Om een toegevoegd zout als ammoniumsulfaat uit de oplossing te verwijderen, wordt veel gebruik gemaakt van *dialyse*. Het tussenprodukt wordt daarbij in een hulsje gedaan. Dit hulsje heeft een wand van halfdoorlatend materiaal dat de kleine zoutmoleculen wel laat passeren, maar de grotere interferonmoleculen niet. Door de vloeistof waarin het hulsje hangt steeds te verversen, wordt op die manier het ammoniumsulfaat weggespoeld.

Een verwant principe dat ook wordt toegepast bij de eiwitzuivering is de *membraanfiltratie*. Daarbij wordt het interferonpreparaat geperst door membranen met verschillende poriëngrootte.

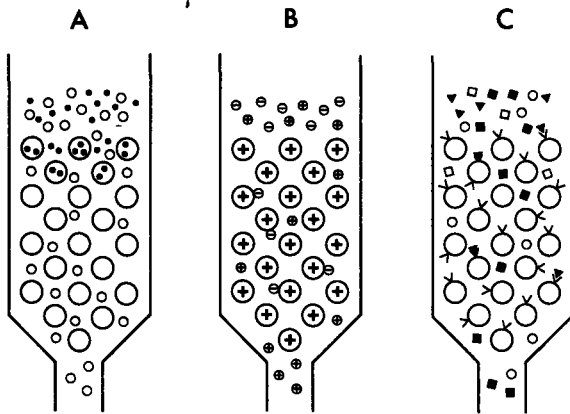
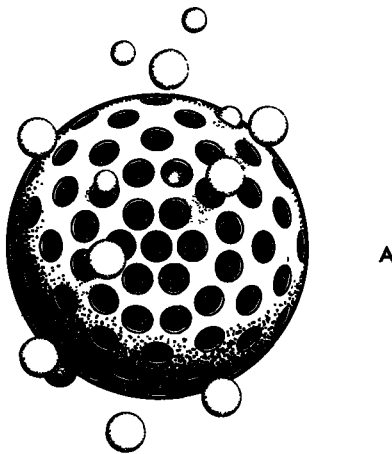
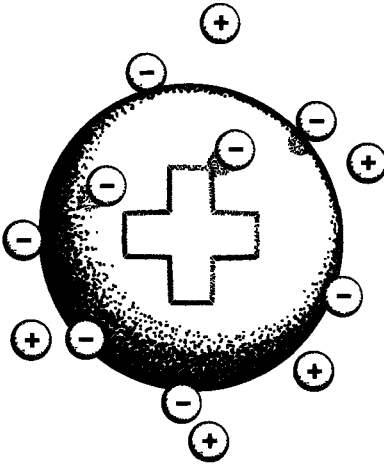


Fig. 4.2. Chromatografie. Een overzicht van de verschillende chromatografische technieken die gebruikt kunnen worden om eiwitten van elkaar te scheiden en te zuiveren. Daarbij wordt het mengsel geleid door een kolom met een gel van microscopisch kleine bolletjes die afhankelijk van de techniek verschillende eigenschappen hebben.

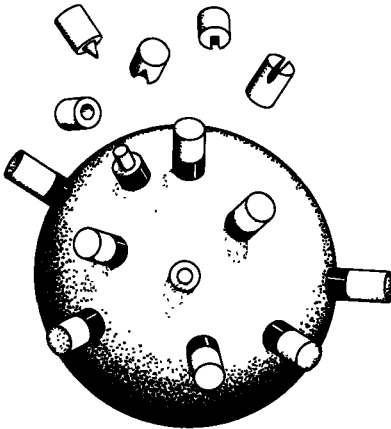


A. De moleculaire filtratie. Daarbij worden poreuze bolletjes gebruikt met een bepaalde poriëngrootte, waar kleine eiwitten wel doorheen kunnen maar grotere niet. Grotere eiwitten zullen daardoor minder worden vertraagd en sneller aan het eind van de kolom aankomen dan de kleinere eiwitten. Daardoor kan men verschillende eiwitten gescheiden op grootte van elkaar opvangen.



B

B. Bij de ionenwisselingschromatografie zijn de bolletjes elektrisch geladen en hechten bepaalde eiwitten aan de bolletjes afhankelijk van de zuurgraad. Eiwitten zijn elektrisch geladen en de lading is afhankelijk van de zuurgraad van het medium waarin het eiwit zich bevindt. Men kan de gebonden eiwitten vervolgens van de bolletjes losmaken door de zuurgraad in de kolom te veranderen.



C

C. Bij de affiniteitschromatografie worden aan de bolletjes agentia vastgemaakt waardoor de gewenste eiwitten specifiek kunnen binden. Veel gebruikt in een dergelijke kolom zijn antilichamen gericht tegen interferon. Wordt een interferonpreparaat door zo'n kolom geleid, dan zullen de antilichamen het interferon binden. Het gebonden interferon kan later uit de kolom worden gewonnen door de zuurgraad te verlagen.

58 Tabel 4.2. De drie typen menselijk interferon.

		<i>meest gebruikte produktiemethoden uit cellen</i>	
	<i>oude namen</i>	<i>structuur</i>	
Alfa-interferon	HuIFN α	type I*-interferon leukocyteninterferon lymfoblasteninterferon	witte bloedcellen en lymfoblast- lijnen, geïnduceerd met Sendai-virus of Newcastle-Diseasevirus
Beta-interferon	HuIFN β	fibroblasteninterferon type I*-interferon	secundaire fibroblastkwaken geïnduceerd met poly I-C
Gamma-interferon	HuIFN γ	type II*-interferon immuun interferon acidolabiel interferon	T-lymfocyten geïnduceerd door lectinen en antigenen

* Interferon stabiel bij pH 2,0 wordt wel met type I-interferon aangeduid. Interferon dat niet tegen die behandeling bestand is met type II-interferon.

Tabel 4.3. Een voorbeeld van een zuiveringsschema voor interferon volgens de klassieke zuiveringsmethoden (Iwakura e.a.). Het is een combinatie van een aantal methoden die in dit hoofdstuk beschreven zijn. De combinatie resulteert in een 2000-voudige zuivering en een zuiver muize-interferon. De zuivering is echter weinig efficiënt. Men begint met 5,5 l interferon en men houdt 1 ml over met nog maar 2,9% van de oorspronkelijke hoeveelheid interferon.

	zuiverheid ($10^6 \mu/\text{mg}$)	volume	over na zuiveringsstap
Weefselweekvloeistof	0,25 x 106 μ/mg	5,5 liter	100 %
Zinkacetaatprecipitatie	0,36		119 %
Ammoniumsulfaatprecipitatie	1,4		51 %
Antilichaamkolom ¹	22		45 %
Concentratie door membraanfiltratie	41		23 %
DEAE Sefadex ²	29		11 %
CM Sefadex ²	130		9,2%
Biogel P60 ³	480	1 ml	2,9%

1. affinititschromatografie

2. ionenwisselingschromatografie

3. moleculaire gelfiltratie

Het (gemiddelde) interferon heeft een moleculairgewicht van ongeveer 20 000 dalton. Perst men het preparaat eerst door een membraan dat alle moleculen met een gewicht kleiner dan 10 000 dalton doorlaat, dan zal interferon achterblijven. Perst men de overblijvende vloeistof vervolgens door een membraan dat alles lichter dan 30 000 dalton doorlaat, dan zal interferon in een oplossing blijven waaruit alle eiwitten lichter dan 10 000 dalton en zwaarder dan 30 000 dalton zijn verwijderd. De membraanfiltratie werkt eigenlijk als een muntensorteerder waarbij door het na elkaar toepassen van zeven met verschillende openingen de diverse munten van elkaar gescheiden kunnen worden.

Een veelgebruikt hulpmiddel bij de eiwitzuivering is de *centrifuge*. Met de moderne ultracentrifuges kunnen centrifugaalkrachten worden opgewekt van enige honderdduizenden keren de sterkte van de zwaartekracht. Deze krachten zijn weliswaar niet toereikend om moleculen met het gewicht van interferon uit een oplossing te centrifugeren, maar ze zijn wel sterk genoeg om zwaardere verontreinigingen te verwijderen. Ook de neerslagen die ontstaan bij precipitatie kunnen zo uit de vloeistof verwijderd worden.

Een routinemethode bij de zuivering van eiwitten is de moleculaire *gelfiltratie*. Daarbij wordt een eiwitmengsel door een bed van bolletjes geleid die meestal bestaan uit *agarose*. De bolletjes zijn poreus. Ze bezitten gaatjes van een bepaalde grootte. Grote moleculen die niet door die gaatjes kunnen, zullen ongehinderd langs de bolletjes passeren. Kleine moleculen die wel door de gaatjes passen, zullen vertraagd door het gelbed zakken. Hoe gemakkelijker ze in de bolletjes kunnen doordringen, hoe langer het duurt om het eind van het gelbed te bereiken. Op deze wijze kan men interferonmoleculen dus scheiden van stoffen met grotere en kleinere molecuulgewichten.

Zoals al eerder in dit hoofdstuk is gezegd bezitten eiwitmoleculen een elektrische lading die voor ieder type eiwit verschillend is en verder afhangt van de zuurgraad van het milieu waarin het eiwit zich bevindt. Een aantal zuiveringsmethoden maakt gebruik van deze ladingeigenschappen van eiwitten. De meest gebruikte methode uit deze categorie is de *elektroforese*. Daarbij wordt bijv. bij lage zuurtegraad waarbij nagenoeg alle eiwitten positief geladen zijn het te scheiden eiwitmengsel opgebracht op een gel waarover een elektrische spanning is aangelegd. Brengt het mengsel op de positieve pool van zo'n gel aan, dan zullen de eiwitten door de negatieve pool worden aangetrokken. Naarmate de positieve lading hoger is, zal het eiwit een grotere kracht ondervinden en sneller naar de negatieve pool bewegen. Op die wijze kan het mengsel 'uit elkaar worden getrokken' en kunnen de verschillende

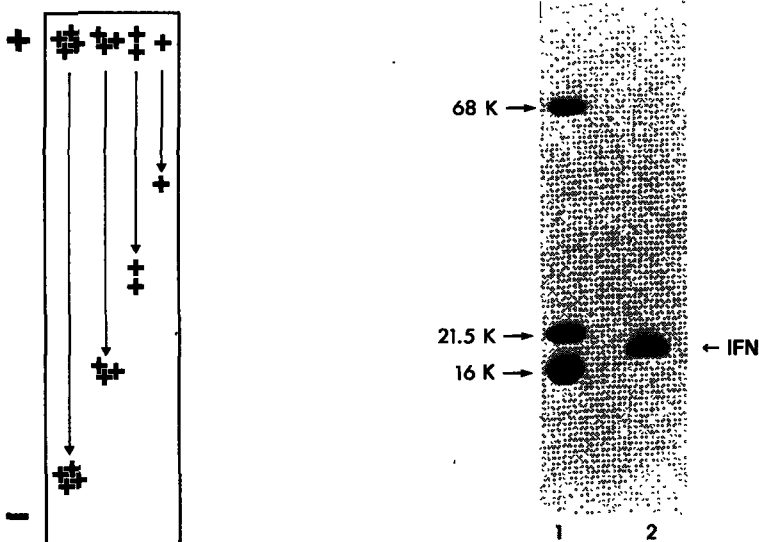


Fig. 4.3. Elektroforese. Een van de methoden om eiwitten van elkaar te scheiden is elektroforese. Deze methode maakt gebruik van het feit dat eiwitten een verschillende elektrische lading hebben. In de tekening links is een gesimplificeerd voorbeeld gegeven van vier eiwitten met verschillende positieve lading. Brengt men het mengsel in een elektrisch veld, dan zal het eiwit met de grootste positieve lading het snelst naar de negatieve pool getrokken worden. Na een tijd zullen de eiwitten dus uit elkaar getrokken zijn en kan men de eiwitten apart uit het medium waarin de elektroforese is uitgevoerd verwijderen. Met deze methode kan men ook bekijken of een bepaald eiwitpreparaat zuiver is en uit één enkel eiwit bestaat. Rechts een voorbeeld van een polyacrylamidegel elektroforese, een op hetzelfde principe berustende methode, waarbij echter de loopsnelheid door het elektrische veld bepaald wordt door het molecuulgewicht. Rechts een gezuiverd HuIFN-preparaat. Dit preparaat is inderdaad zuiver, er is maar een band te zien. Links drie suikereiwitten met een molecuulgewicht van 68 000, 21 500 en 16 000. Het interferonbandje ligt tussen 21 500 en 16 000 en heeft naar schatting een molecuulgewicht van 18 500.

eiwitten van elkaar worden gescheiden.

Een slimmere variant van dit principe is het *iso-elektrische focuseren*. Men kan in een gel een verval in zuurgraad ofwel pH aanbrengen, bijv. van laag naar hoog. Verplaatst een eiwit zich nu naar de negatieve pool, dan zal zijn lading afnemen, want die is immers afhankelijk van de zuurgraad en die neemt af. Op het eiwit zal een kracht werken tot het een plaats bereikt waar de zuurgraad een zodanige waarde heeft dat het eiwit ongeladen is, het

iso-elektrische punt. Op dat punt zal het eiwit blijven steken. Ook op deze wijze is het dus mogelijk eiwitten van elkaar te scheiden. Ook de *ionenwisselingschromatografie* maakt gebruik van de elektrische eigenschappen van eiwitten. Daarbij wordt een gel van bolletjes gebruikt waaraan *anionen* (negatief geladen ionen) of *kationen* (positief geladen ionen) zijn gebonden. Positief geladen eiwitten zullen zich aan de negatief geladen bolletjes binden. Deze binding is te verbreken door de zuurgraad van het medium te verlagen. Daardoor immers neemt de positieve lading van de eiwitten af en wordt dus ook de binding zwakker. Dit verschaft een alternatieve mogelijkheid om eiwitten van elkaar te scheiden. Men kan de binding tussen eiwit en bolletjes beïnvloeden door variëren van de hoeveelheid aanwezige ionen, omdat er een competitie bestaat

Tabel 4.4. *Aminozuursamenstelling van de verschillende typen interferon die volledig zijn gezuiverd.* Door het beschikbaar komen van een aantal typen zuiver interferon kon een begin worden gemaakt met het bepalen van de aminozuursamenstelling. De samenstelling van de verschillende soorten interferon is over het algemeen vergelijkbaar. Een meer gedetailleerde analyse van niet alleen de algemene samenstelling maar ook de precieze volgorde van de aminozuren in de verschillende subtypen is nu mogelijk, omdat een groot aantal interferongen door de recombinant-DNA-technieken bekend zijn.

	<i>menselijk alfa- interferon</i> ¹	<i>menselijk beta- interferon</i>	<i>muize- interferon</i> ²
asparagine/asparaginezuur	9,0	11,1	9,1
alanine	6,6	5,9	6,4
arginine	5,8	6,4	6,8
cystine	1,1	1,0	2,6
glutamine/glutaminezuur	16,5	15,9	14,5
glycine	6,5	4,6	4,8
histidine	2,6	2,9	2,2
isoleucine	4,2	5,3	3,3
leucine	10,8	12,0	11,7
lysine	6,3	6,8	8,1
methionine	0,7	1,7	2,8
fenylalanine	4,3	5,5	4,2
proline	6,6	1,6	5,4
serine	6,5	6,2	6,5
threonine	4,8	4,0	6,2
tyrosine	2,3	4,4	3,4
tryptofaan	0,4	0,6	— ³
valine	4,6	3,5	4,7

1. Mengsel van minstens 8 subtypen.

2. Mengsel van muize-interferon alfa en beta.

3. Niet gedaan.

tussen de geladen eiwitten en andere aanwezige geladen deeltjes die door de bolletjes gebonden kunnen worden. Verschillende eiwitten zullen zich onder verschillende ionenconcentraties anders gedragen en kunnen zo van elkaar worden gescheiden.

Affiniteitschromatografie is een mondvul voor een moderne en tegenwoordig zeer populaire techniek om moleculen van elkaar te scheiden. De unieke plaats die deze methode inneemt, berust op het feit dat deze voor elk molecuul op maat kan worden gemaakt. Bij deze techniek gaat men uit van een stuurmateriaal (de *matrix*) waarop een substantie (*ligand*) is aangebracht die in staat is om een molecuul specifiek en reversibel (omkeerbaar) te binden. Specifiek wil zeggen dat uit een aantal verschillende moleculen alleen het gewenste molecuul wordt gebonden en deze bewerking moet logischerwijs reversibel zijn. Na de binding moet immers de gewenste substantie weer uit de binding kunnen worden losgemaakt. In het geval van interferon worden als bindmiddelen gebruikt: poly I-C, lectinen, albumine, Cibacron-blauw en antilichamen. Poly I-C is een synthetisch RNA d.w.z. een vorm van RNA die niet in de natuur voorkomt, maar in het laboratorium is gemaakt. Op poly I-C zal in het volgende hoofdstuk nader worden ingegaan. Op deze plaats vermelden we slechts dat bepaalde interferonen zich binden aan deze stof. Lectinen zijn eiwitten die rode bloedcellen kunnen binden en die afkomstig zijn uit planten. Deze eiwitten kunnen ook een binding aangaan met interferon en kunnen derhalve worden ingezet in de affiniteitschromatografie. Dit geldt ook voor albumine, een eiwit uit het bloed. Cibacron-blauw is een relatief klein molecuul met een sterke bindingsneiging tot bepaalde interferonen zoals het menselijk beta-interferon. Voor de zuivering van dit type interferon is het een van de belangrijkste basismaterialen. Veel gebruikte 'bindmiddelen' in affiniteitskolommen zijn voor antilichamen gemaakt uit het bloed van met interferon ingespoten konijnen, schapen of geiten.

Door het toepassen van bovengenoemde technieken is het uiteindelijk gelukt om een aantal soorten interferon zoals het menselijk alfa- en beta-interferon en het muize-interferon te zuiveren. Tot voor kort begon men met tientallen liters van het ongezuiverde interferonpreparaat om na afloop enige milliliters over te houden. De klassieke methoden zijn duidelijk niet erg efficiënt. Men verliest nogal wat interferon onderweg. Vaak gaat 95% tijdens de zuivering verloren. Sinds enige tijd beschikt men over middelen om de efficiëntie sterk op te voeren en wel door toepassing van zogenaamde monoclonale antilichamen, antilichamen van een extreme zuiverheid. Hoe men deze antilichamen maakt, komt later in het boek aan de orde. Door dit soort antilichamen in een affini-

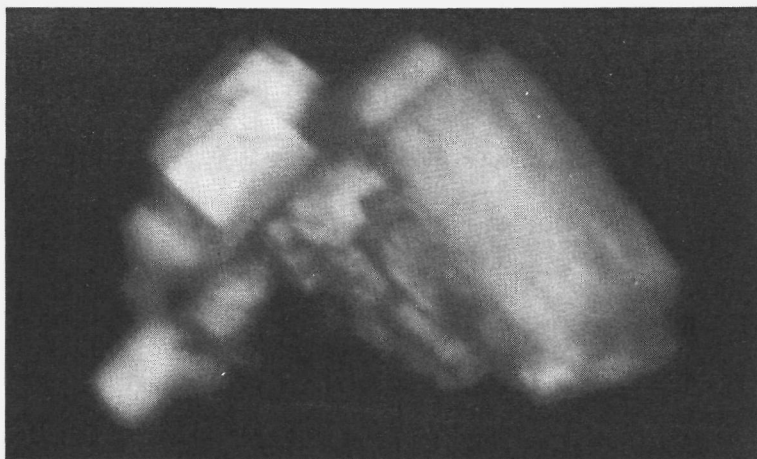


Fig. 4.4. Interferonkristal. Nu het mogelijk is om een aantal typen interferon compleet te zuiveren en dit door de toepassing van recombinant-DNA-technieken op grote schaal produceerbaar is, is het gelukt om interferon te kristalliseren. Dit zijn kristallen van HuIFN-alfa-2 geproduceerd door de onderzoeksgroep van Hoffmann-La Roche in de VS.

teitskolom te gebruiken, kan men niet alleen interferon in één stap zuiveren, maar benadert de opbrengst ook de 100%.

Van de gezuiverde typen interferon heeft men de precieze aminozuursamenstelling kunnen bepalen. Interferon is een vrij groot molecuul. Misschien is voor bepaalde toepassingen niet het hele molecuul nodig maar een gedeelte. Als men de samenstelling van dit gedeelte kent is het mogelijk het in het laboratorium na te bouwen, wat mogelijk een goedkoop productieproces kan opleveren. Bij de zuivering werd ook de heterogene samenstelling van interferon duidelijk. De verschillende typen interferon zijn ieder op zich weer mengsels van verschillende subtypen. Zo zijn er wel acht verschillende subtypen menselijk alfa-interferon die in aminozuuropbouw en in werking van elkaar verschillen. Als interferon ooit een bruikbaar medicijn wordt, dan zal elk subtype waarschijnlijk zijn eigen toepassingsgebied krijgen.

In zuivere vorm heeft interferon een specifieke activiteit van rond 10^8 - 10^9 units per mg eiwit. Dat wil zeggen dat een oplossing van 1/1000 gram interferon per milliliter nog eens 1 op 10000000 tot 100000000 kan worden verdund en dan nog actief is. Of in wetenschappelijke termen nog actief is in een verdunning van 10^{-14} tot 10^{-15} molair. Interferon is daarmee een van de biologisch meest actieve stoffen die ooit is gevonden.

V. Inductie van interferon

De eigenschap interferon te kunnen maken, komt in het hele dierenrijk voor. Zelfs in planten is een substantie aangetroffen die veel eigenschappen met interferon deelt. Allerlei soorten cellen, van witte bloedcellen tot huidcellen, afkomstig van mens tot vleermuis, blijken in staat interferon te maken. Interferonproductie lijkt een universele eigenschap van *eukaryotische* cellen. Eukaryotische cellen worden o.m. gekenmerkt door het bezit van een duidelijk van de rest van het cellichaam onderscheidbare celkern, die gevat is in een afzonderlijk membraan. Een dergelijke structuur ontbreekt bij de *prokaryoten*, waartoe o.m. bacteriën en blauwgroene algen behoren. Door enkele onderzoekers is zelfs iets als interferonwerking beschreven in bacterieculturen, maar of het hier om interferon gaat staat niet vast. Dat iedere cel in staat is om interferon te maken, is zo'n beetje de enige algemeen geldende uitspraak die over de interferonproductie te doen valt. Iedere viruscel-combinatie is uniek en heeft zijn eigen typische aspecten en omdat er nogal wat soorten virussen en cellen zijn, is het aantal combinaties praktisch ongelimiteerd.

Volgens sommige onderzoekers zou er een relatie bestaan tussen de *virulentie* (het ziekmakend vermogen) van een virus en zijn interferon-inducerende vermogen. Een virus zou virulenter zijn naarmate het minder prikkelt tot de productie van interferon, waardoor het lichaam dus minder adequaat op een besmetting reageert. Een virulent virus zou zó snel een cel besmetten en haar stofwisseling remmen, dat de cel niet meer in staat is om interferon te produceren. Inderdaad induceren virulente poliovirus- en rabiesvirusstammen geen interferon. Maar er zijn ook heel wat uitzonderingen. Er zijn heel wat virulente virussen die wel degelijk, vaak zelfs veel, interferon induceren en onder de slechte inductoren van interferon bevinden zich heel wat onschuldige virussen. Dat DNA-virussen slechte interferoninductoren zijn en dat virussen die aanleiding geven tot hoge interferonspiegels tot de groep van RNA-virussen behoren, is ook zo'n algemene uitspraak, die met talrijke tegenvoorbeelden kan worden weerlegd. Deze visie past evenwel goed in de hypothese dat cellen interferon gaan maken als reactie op de vreemde nucleïnezuursynthese. Bij DNA-virussen lijkt de nucleïnezuursynthese vaak sterk op de eigen nucleïnezuursynthese van de cel. De cel zou deze processen minder als wezensvreemd herkennen dan de overeenkomstige

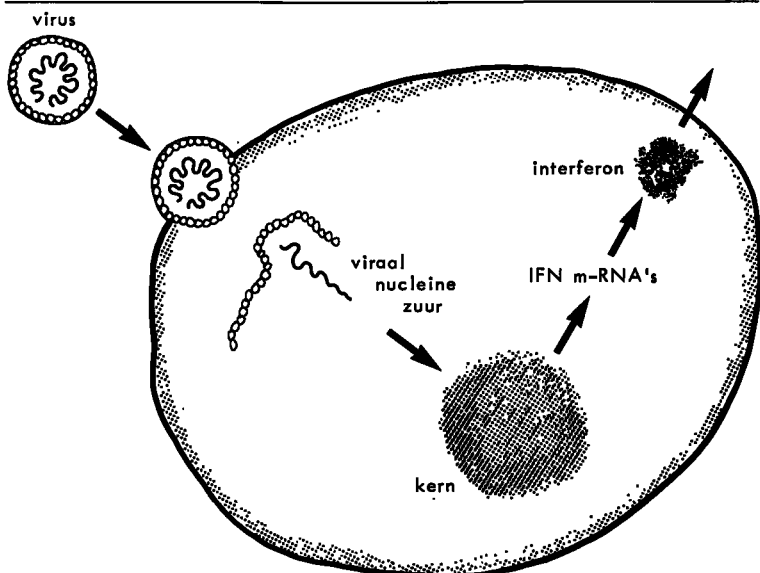


Fig. 5.1. De meest waarschijnlijke manier waarop een virus een cel tot interferonproductie aanzet. De cel herkent het nucleïnezuur van het virus als vreemd en als reactie daarop wordt interferon gemaakt, nadat eerst de interferon-boodschapper-RNA's van de interferongenen in het DNA in de celkern zijn afgeschreven.

RNA-virussen, die nogal afwijken van wat voor de cel normaal is. De hoeveelheid interferon die geproduceerd wordt, is erfelijk bepaald. Hoeveel interferon een muis maakt nadat virussen in de bloedbaan zijn gebracht, is afhankelijk van de muizestam waartoe het dier behoort. Door studies bij muizen van verschillende genetische afkomst bleek de hoeveelheid interferon die een muis produceert samen te hangen met een gen dat twee varianten kent. De één impliceert een hoge produktie (IF 1h), de ander (IF 1-1) een lage. Deze genen worden volgens de wetten van Mendel overgeërfd. Witte bloedcellen zijn de voornaamste inductoren van interferon. Als men muizen met een erfelijk bepaalde lage produktie bestraalt om hun eigen bloedvormende organen uit te schakelen, en men geeft ze vervolgens de bloedvormende cellen van een muizeesoort die gekenmerkt wordt door een hoge interferonproduktie, dan zijn deze muizen ook tot hoge interferonproduktie in staat. In bestralingschimeren, d.w.z. een diersoort die na bestraling de bloedvormende organen van een andere diersoort heeft gekregen, zoals een rat met bloedcellen van de muis, zal na inspuiting van

een virus, voornamelijk interferon maken dat overeenkomt met zijn bloedcellen. In een rat met muizebloedcellen zal vooral muize-interferon worden aangetroffen. Ook de verminderde interferonproductie in miltloze muizen duidt op een belangrijke rol van de witte bloedcel in de interferonproductie. Want de milt is voor de muis een belangrijk orgaan voor de bloedvorming.

In normale omstandigheden produceert een cel geen interferon. Er zijn wel cellijnen beschreven waarbij een kleine hoeveelheid interferon in het kweekmedium wordt aangetroffen die schijnbaar spontaan ontstaat, maar die produktie kan verklaard worden door een chronische virusinfectie die de cellen voortdurend tot interferonproduktie prikkelt.

Er is veel onderzoek verricht naar het mechanisme achter deze prikkeling. Zoals verder in dit hoofdstuk wordt beschreven, zijn er op dit moment, behalve virussen, een groot aantal stoffen en agentia bekend die tot interferonproduktie aanleiding geven. Maar de natuurlijke prikkel voor een cel is toch een besmetting met een virus. Als we viruspartikels kunstmatig scheiden in nucleïnezuur en kapsel, en deze apart aan cellen toevoegen, dan blijkt alleen het nucleïnezuur interferon te induceren. Meestal is alleen nucleïnezuur niet voldoende. Er moet met dat nucleïnezuur in de cel nog iets gebeuren, wil de interferonproduktie op gang komen. Het Semliki-Forestvirus bevat enkelstrengs-RNA. Dit virus beschikt over een enzym, het RNA-polymerase, dat zorgt dat op het enkelstrengs-RNA als mal een complementaire kopie wordt gemaakt als het virus een cel infecteert. Dit complementaire RNA kan als boodschapper-RNA fungeren dat in de cel de aanmaak van viruseiwitten stuurt en kan op zijn beurt als mal fungeren voor de produktie van RNA-strengen die deel gaan uitmaken van nieuwe virussen. Men heeft onderzocht in hoeverre inactivering van het virus door middel van ultravioletbestraling of bepaalde chemische stoffen invloed had op de interferon-inductie van het Semliki-Forestvirus. Het bleek dat deze zeer nauw samenhang met de activiteit van het RNA-polymerase. Was dit door de behandeling geïnactiveerd, dan werd geen interferon geïnduceerd.

Soortgelijke resultaten leverden experimenten met temperatuurgevoelige mutanten (*ts*-mutanten, waarin *ts* staat voor *temperature sensitive*) van Sindbis en reovirus, twee RNA-virussen. *Ts*-mutanten zijn virussen die door behandeling met bepaalde chemicaliën of door bestraling zodanig zijn veranderd dat ze bij 40°C (*permissive temperature*) groeien en niet meer bij 37°C (*non-permissive temperature*), zoals het oorspronkelijke virus. Op de non-permissive is de replicatie van het virus op een bepaald niveau geremd, afhankelijk van het type *ts*-mutant. Bij de proeven met *ts*-mutan-

Tabel 5.1. Een aantal virussen die menselijk interferon induceren.

	<i>in celkweek</i>	<i>in vivo</i>
influenza	+	+
para-influenza	+	
mazelen	+	+
rode hond	+	
RSV	+	+
rabies	+	
polio	+	+
rhino	+	+
adeno	+	
varicella-Zoster	+	+
CMV	+	
vaccinia	+	+
gele koorts	+	+
VSV	+	

ten van Sindbis en reovirus bleek RNA-replicatie een voorwaarde te zijn voor de inductie van interferon.

Op dergelijke waarnemingen is de hypothese gebaseerd dat het dubbelstrengs-RNA is dat de cel prikkelt om interferon te vormen. Het dubbelstrengs-RNA dat bij de RNA-replicatie van RNA-virussen gevormd wordt, komt in cellen nooit voor. De cel die dit materiaal in zijn stofwisseling 'aantreft', herkent het als vreemd en maakt als reactie interferon omdat er blijkbaar iets niet in orde is. Er zijn nog een aantal andere argumenten voor deze veronderstelling. RNA afkomstig van virussen zet ook zonder meer tot interferonproductie aan, mits in voldoende hoeveelheden toegevoegd. Synthetische dubbelstrengs-RNA's als poly I-C zijn buiten de virussen de meest krachtige interferoninductoren. RNA-virussen, waarbij tijdens de replicatie dubbelstrengs-RNA wordt gevormd, induceren meer interferon dan DNA-virussen. Tijdens de replicatie van DNA-virussen wordt geen dubbelstrengs-RNA gevormd. Er zijn echter ook wel argumenten tegen deze veronderstelling aan te voeren. Zo bestaan er wel degelijk DNA-virussen die interferon induceren. Er is bekend dat ook door een virus of synthetisch geproduceerd enkelstrengs-RNA in bepaalde cellen aanleiding geeft tot interferonproductie. Anders gezegd: de precieze aard van de processen die leiden tot interferonproductie is nog niet bekend.

Een andere hypothese over de inductie van interferon in cellen die ook wel opgang doet, is de *repressor-replacing-hypothese*. Deze hypothese is gebaseerd op de waarneming dat de werking van interferon vaak precies tegenovergesteld is aan wat bepaalde inductoren van interferon teweegbrengen in een cel. We lichten dit toe

Tabel 5.2. Diersoorten waarbij interferonproductie is vastgesteld.

<i>In vivo en in vitro</i>	<i>alleen in vivo</i>
hamster	vis
muis	hond
schaap	
aap	
kat	
rat	
varken	
konijn	
rund	
vleermuis	
kip	

met enkele voorbeelden. Virussen prikkelen de cel tot interferonproductie en het is juist interferon dat de groei van virussen remt. Bepaalde plantaardige eiwitten, lectinen genaamd, zetten bepaalde typen witte bloedcellen aan tot de productie van gamma-interferon, maar tegelijkertijd zetten deze lectinen witte bloedcellen aan tot deling en het is juist interferon, zoals we later in het boek zullen zien, dat de celdeling remt. En zo zijn er meer voorbeelden te geven. Op grond van dergelijke verschijnselen is gesuggereerd dat inductoren van interferon de eiwitsynthese in de cel blokkeren en dat het de primaire functie van interferon is om cellen tegen deze verstoring van hun stofwisseling te beschermen. Het mechanisme van de inductie zou volgens de aanhangers van deze hypothese als volgt zijn. Onder normale omstandigheden is de interferonproductie in de cel geremd. Er zou in de cel voortdurend een eiwit worden gemaakt dat interferonproductie tegenhoudt, een zgn. *repressor*. Wordt nu in de cel de eiwitaanmaak geremd, dan zou het repressoreiwit een van de slachtoffers van die remming kunnen zijn. En in een cel waar de repressor niet meer wordt gemaakt, wordt interferon geproduceerd. Vandaar de naam *repressor-replacing-hypothese*. Er zijn op dit moment weinig directe bewijzen aan te voeren die deze hypothese ondersteunen.

In een derde hypothese wordt ervan uitgegaan dat cellen voortdurend kleine hoeveelheden interferon produceren die op de een of andere manier de stofwisseling van de cellen reguleren. Deze hypothese is gebaseerd op de waarneming dat in een aantal gevallen in het interferonpreparaat de inductor van dit interferon is terug te vinden, en dat interferon zich over het algemeen graag bindt aan stoffen die cellen kunnen prikkelen tot interferonproductie. Zo blijkt interferon vrij selectief een binding aan te gaan met poly I-C en ook een zekere affiniteit van interferon voor lectinen is door een groot aantal onderzoekers beschreven. Een aantal onder-

zoekers denkt nu dat de interferonproductie in cellen wordt geregeld door een terugkoppelingsmechanisme (tegenkoppeling). Door de aanwezigheid van een kleine concentratie interferon blijft interferonproductie in de cel laag. Inductie betekent in dit kader dat het weinige interferon door de inductor wordt gebonden, waardoor de tegenkoppeling vermindert, met als gevolg dat cellen extra interferon gaan produceren. Ook voor deze laatste hypothese zijn weinig echt overtuigende bewijzen te vinden.

Het is in dit hoofdstuk al een aantal keren naar voren gebracht, dat niet alleen virussen in staat zijn om cellen tot interferonproductie te brengen. Er bestaat een groot aantal andere stoffen en agentia dat deze eigenschap bezit. Deze worden meestal met de algemene term niet-virale inductoren van interferon aangeduid. Een complete lijst van niet-virale inductoren van interferon zou enkele bladzijden beslaan. Een gedetailleerde bespreking zou een half boek vergen. We zullen een selectie wat nader onder de loep nemen.

Van *statolon*, een produkt van de schimmel *Penicillium stoloniferum*, werd in 1964 beschreven dat het interferon induceerde in weefselkweek en ook in proefdieren. Men dacht aanvankelijk dat de actieve component van het statolon een suikerverbinding was, maar later werd gevonden dat een viruspartikel voor de inductie aansprakelijk was en wel een virus dat specifiek was voor de schimmel *Penicillium stoloniferum* (een virus van een schimmel

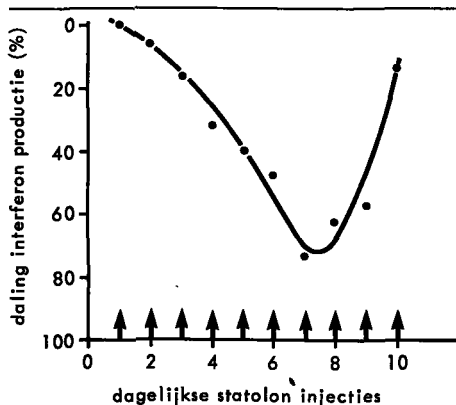


Fig. 5.2. Uitputting bij herhaalde inductie. Een voorbeeld van de uitputting die optreedt bij herhaald gebruik van interferoninductoren. De interferonproductie na herhaalde inductie wordt steeds lager. Dit is de belangrijkste beperking voor de toepassing van interferoninductoren bij de mens.

wordt met de naam *mycofaag* aangeduid). Later werd ontdekt dat dit virus dubbelstrengs-RNA bevatte. De later beschreven werking van de stof *helenine* van de *Penicillium funiculosum* bleek ook herleidbaar te zijn tot een mycofaag met dubbelstrengs-RNA. Overigens moet men ook bij de vele berichten over interferon-inductie door bacteriën steeds bedacht zijn op de mogelijkheid dat bacteriën kunnen zijn besmet met bacteriofagen, bacteriële virussen, die vaak dubbelstrengs-RNA bevatten. Dus ook in dat geval kan de benaming niet-virale inductor van interferon het resultaat zijn van onvolledige informatie.

Van de lectinen werd al in 1965 beschreven dat ze interferon konden induceren in menselijke witte bloedcellen. In die tijd werd echter niet onderkend dat hier sprake was van een nieuw type interferon, het gamma-interferon. De T-lymfocyten, die onder de witte bloedcellen de cellen zijn die het gamma-interferon produceren, doen dit overigens ook tijdens het proces van immunherkenning. Als we muizen bijv. immuniseren met tuberkelbacteriën en na 14 dagen witte bloedcellen aan zo'n muis onttrekken, dan gaan de T-lymfocyten gamma-interferon produceren, als ze in de reageerbuis in contact komen met tuberkelbacteriën. Witte bloedcellen afkomstig van muizen die niet tegen de tuberkelbacterie zijn gevaccineerd, produceren na confrontatie met deze bacterie geen gamma-interferon. Dus alleen als de T-lymfocyt een bepaald antigeen herkent, produceert deze het gamma-interferon.

Gamma-interferon heeft overigens, wanneer ingespoten in proefdieren, een uitgesproken effect op het immuunapparaat. Het effect van een virusinfectie speelt uiteraard geen rol. Dit zou erop kunnen wijzen dat het interferonsysteem in het lichaam ook nog andere functies heeft dan een verdediging tegen virussen. Deze veronderstelling wordt gesteund door de recente ontdekking dat ook tumorcellen in staat zijn interferon te induceren. Interferon ingespoten in proefdieren, zoals later in dit boek zal worden besproken, levert een anti-tumoreffect op dat in een aantal gevallen onafhankelijk is van het antivirale effect. Dit kan betekenen dat het interferonsysteem in het lichaam ook een rol speelt in de afweer tegen het ontstaan van tumoren.

De meest krachtige niet-virale inductor van interferon is het poly I-C, een synthetisch dubbelstrengs-RNA. Ingespoten in proefdieren geeft het vaak hele hoge concentraties aan interferon. Het poly I-C was het eerste synthetische dubbelstrengs-RNA waarvan werd beschreven dat het interferon induceerde. Men heeft ondertussen boeken vol geschreven met beschouwingen over het probleem wat poly I-C tot zo'n krachtige inductor maakt. Een groot aantal onderzoekers is van mening dat het samenhangt met het

Tabel 5.3. Hypothesen over het mechanisme van interferoninductie.

<i>Dubbelsirengs-RNA-theorie</i>	Gedurende virusinfectie wordt dubbelsirengs-RNA gevormd. Dit komt normaal in de cel niet voor. Als reactie op dit vreemde RNA wordt interferon gemaakt.	<i>Voor</i> : Ook vreemd RNA, niet van virus afkomstig induceert interferon en bij RNA-virussen relatie met produktie dsRNA. <i>Tegen</i> : Ook virussen waarbij geen dsRNA wordt gevormd induceren interferon.
<i>Repressor-replacings-theorie</i>	Interferon werkt vaak het effect van de inductor tegen. Interferon heeft een algemeen remmende werking op de cel en iedere remmer van de cel induceert interferon.	<i>Voor</i> : Veel interferoninductoren sterke remmers van celmetabolisme. <i>Tegen</i> : Omgekeerd zijn niet alle remmers van celmetabolisme interferoninductoren.
<i>Inductorbindings-theorie</i>	De cel maakt voortdurend een beetje interferon. Dat beetje interferon zorgt ervoor dat de produktie laag blijft. De inductor bindt dat interferon en de cel gaat als reactie meer maken.	<i>Voor</i> : Interferon grote affiniteit voor bepaalde inductoren. <i>Tegen</i> : Echter niet voor alle inductoren.

hoge molecuulgewicht van poly I-C. Anderen zoeken het meer in de ongevoeligheid voor afbraak door nucleïnezuur afbrekende enzymen. Een derde groep beweert dat het dubbelstrengs karakter deze stof tot zo'n krachtige inductor maakt. Tegenover de aanhangers van deze criteria staan even grote groepen die beweren dat het tegenovergestelde het geval is. Zo bestaan er ook niet-virale inductoren met een laag moleculair gewicht, zoals tilorone en MW 25, waarbij kan worden aangetekend dat deze stoffen ook na orale toediening bij proefdieren werkzaam zijn. Er is tot nu toe geen afdoende verklaring voor het verschijnsel gegeven. Men is er evenmin in geslaagd om een nog betere synthetische RNA-interferon-inductor te maken dan het poly I-C.

De belangstelling voor niet-virale inductoren van interferon hangt uiteraard samen met de mogelijke toepassing van deze stoffen als antiviraal middel bij de mens. Als we interferon willen gebruiken bij de bestrijding van virusziekten, dan zijn er in principe twee mogelijkheden. Men kan ofwel het interferon uit het laboratorium toedienen, ofwel de patiënt zelf het interferon laten aanmaken door hem een inductor van interferon te geven. Tot nu toe heeft het onderzoek geen inductor opgeleverd die geschikt is voor toepassing bij de mens. Vaak blijken inductoren in muizen uitstekend te werken, zoals tilorone of poly I-C, maar blijken ze in de mens nauwelijks actief. Van poly I-C wordt wel aangenomen dat het niet actief is bij de mens, omdat in het menselijk serum een factor zou zitten die poly I-C afbreekt. Een aantal inductoren induceert alleen maar interferon in doseringen die voor proefdieren toxisch zijn. Geen zinnig mens zou dergelijke middelen zomaar op de mens willen loslaten. Lectinen zijn uitermate giftig en vallen daarom af. Een groot aantal inductoren zijn antigeen, d.w.z. dat ze in het lichaam aanleiding geven tot de aanmaak van antilichamen. Men kan zo'n inductor dan natuurlijk niet weken achtereen geven, omdat het na een bepaalde tijd door die antilichamen zal worden gebonden. Maar het grootste bezwaar tegen het gebruik van inductoren van interferon als geneesmiddel is het uitputtingsverschijnsel dat optreedt als men een inductor meermalen achter elkaar toedient. Meestal reeds na een paar injecties is het lichaam niet meer voldoende gevoelig voor de prikkel tot interferonproductie. Een inductor is maar enkele keren achter elkaar bruikbaar in tegenstelling tot interferon, dat maanden desnoods jaren achtereen kan worden toegediend.

Als cellen met een interferoninductor worden behandeld, beginnen ze na zes à zeven uur interferon uit te scheiden. Dit proces bereikt na ca. tien uur een maximum. Na 14 uur volgt een afname en meestal na 18 uur stopt de uitscheiding. De periode waarin het in-

Tabel 5.4. Niet-virale inductoren van interferon.

Polynucleotiden

synthetisch RNA (poly I-C)

synthetisch DNA

Mycofagen (helenine en statolon)

Bacteriofagen

Bacteriën en bacteriële produkten

intacte bacteriën

endotoxine

eiwitten

lipopolysacchariden

Andere micro-organismen

chlamydiae

rickettsiae

mycoplasmata

protozoën

Polymeren

pyran

polyacrylic acid

polyvinyl

Lectinen

fytohameagglutine

Concanavaline A

Laag moleculaire verbindingen

tilorone

acridine

Tumorcellen

terferon gemaakt wordt heet de produktiefase. Het tijdstip tussen het eerste contact met de inductor en het begin van de produktie heet de *inductiefase*. De lengte van beide fasen is sterk afhankelijk van het type cel en van het type inductor dat wordt gebruikt. In een aantal gevallen is de inductiefase uitermate kort. Er is dan ook een tijdlang gedacht dat er twee mechanismen bestonden die tot interferonuitscheiding aanleiding gaven. Een snel werkende, waarbij door de inductor een hoeveelheid reeds eerder gefabriceerd interferon wordt vrijgemaakt als aanvulling op een langzaam werkende, waarbij de inductor de hele machinerie voor interferonproduktie in gang zet. We weten nu dat er geen voorraad-

vorming van interferon optreedt en dat in alle gevallen bij inductie het productieproces in zijn geheel wordt uitgevoerd. Dit proces verschilt niet van dat wat plaatsvindt bij de aanmaak van andere eiwitten. Als de cel tot interferonproductie wordt geprikkeld, produceert het DNA het interferonmolecuul boodschapper-RNA. Dit boodschapper-RNA wordt vertaald in een eiwitmolecuul. Het is niet geheel zeker of interferon tijdens het translatieproces uit de cel wordt getransporteerd of dat het nog een aantal bewerkingen nodig heeft om het biologisch actief te maken.

Zoals gezegd komt in een cel onder normale omstandigheden geen interferon voor en het lijkt erop dat er een repressor wordt gefabriceerd die het DNA-deel, waar de interferoninformatie ligt opgeslagen onbereikbaar maakt voor de enzymen, die de aanmaak van boodschapper-RNA regelen.

Het is mogelijk door bepaalde remmers van de eiwit- en de RNA-synthese gedurende een bepaalde periode tijdens de inductie en de productiefase cellen toe te voegen die cellen tot abnormaal hoge interferonproductie te brengen. Men spreekt hier van *superinductie* van interferon. Van dit verschijnsel wordt dankbaar gebruik gemaakt bij het op grote schaal produceren van vooral menselijk beta-interferon. Het precieze mechanisme achter de superinductie is niet bekend. Ongeveer 14 uur na de inductie begint de productie van interferon af te nemen, en zou dus de aanmaak van de repressor die de aanmaak van boodschapper-RNA voor interferon onmogelijk gaat maken, op gang komen. Wellicht blokkeren de remmers op hun beurt de productie van deze repressor. Het is ook mogelijk dat de remmers voorkomen dat het boodschapper-RNA voor interferon wordt afgebroken. Op die manier wordt de periode waarin een cel interferon produceert verlengd. Het meest waarschijnlijk is dat een combinatie van een aantal effecten tot de superinductie leidt.

Het DNA, dat de genetische informatie voor de interferonen bevat, de interferongenen, liggen voor de mens op chromosoom 5 en mogelijk ook op chromosoom 2. Er zijn een aantal manieren om uit te maken op welke chromosomen bepaalde genen liggen. Een methode is fuseren van cellen van de mens met cellen van een andere soort, bijv. hamstercellen; de samengestelde cellen, die men *hybride* cellen noemt, ontstaan door fusie, zouden in principe de chromosomen van beide soorten moeten bevatten. Maar meestal blijkt een aantal ervan geëlimineerd te zijn. Welke chromosomen verdwijnen, is voor elke cel anders. Er ontstaat zo dus een grote verzameling cellen met elk een verschillende chromosomeninhoud. Men kan nu deze cellen besmetten met een virus en bestuderen welke soort interferon ze produceren, hamsterinterfe-

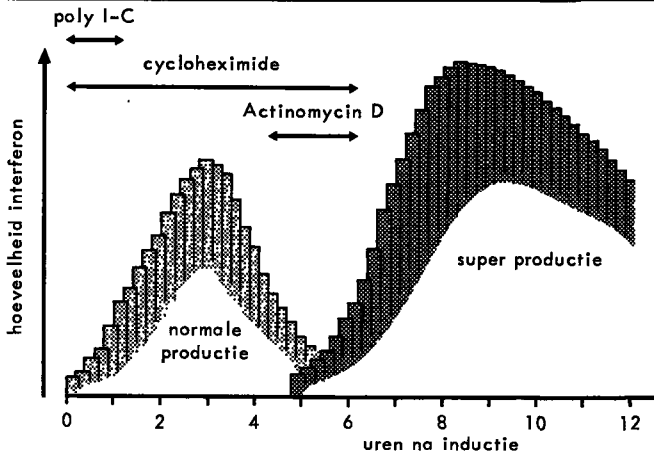


Fig. 5.3. Superinductie. Door cellen na inductie met verschillende remmers van eiwit- en RNA-synthese te behandelen, kan men de productie van interferon verhogen. Men noemt dit superinductie. Van dit verschijnsel wordt gebruik gemaakt bij de grootschalige productie van menselijk beta-interferon uit celkweken.

ron, menselijk interferon of beide. Het al dan niet produceren kan men relateren aan de aanwezigheid of afwezigheid van bepaalde chromosomen in die cel.

Het is gebleken dat alleen de hybriden met een menselijk chromosoom 5 en 2 in staat waren tot het produceren van menselijk interferon. Er bestaan ook cellen van een soort met een abnormaal chromosomenaantal, de zgn. *aneuploïde* cellen. Van deze cellen bleken alleen de bezitters van chromosoom 5 in staat om interferon te maken. Voorts bleken cellen die meerdere exemplaren van chromosoom 5 bezaten, meer interferon te produceren dan cellen met één chromosoom 5. Als men al die informatie overziet, lijkt de uitspraak gerechtigd dat chromosoom 5 bij de mens een sleutelrol speelt bij de interferonproductie.

VI. Antivirale werkingsmechanismen van interferon

In dit hoofdstuk willen we proberen een overzicht te geven van de huidige kennis van de manier waarop interferon zijn antivirale werking uitoefent. Waarschijnlijk is het dit aspect van het interferononderzoek waaraan tot nu toe de meeste publikaties zijn gewijd. Er bestaat nogal wat onenigheid binnen de groep onderzoekers die juist op dit terrein actief is. Er is zelfs een tijd geweest dat vrijwel ieder laboratorium zijn eigen theorie hanteerde over het werkingsmechanisme van interferon op dit punt. Er zijn twee belangrijke oorzaken van dit gebrek aan eenstemmigheid. Ieder laboratorium experimenteerde aanvankelijk met eigen virus- en celsoorten en zijn eigen soort cel, en zoals al eerder in dit boek werd beschreven is iedere cel-viruscombinatie uniek. Het effect van interferon hoeft niet in alle virus-celcombinaties dezelfde te zijn en is dat ook niet. Een andere bron van onderlinge verschillen was het ontbreken van gezuiverde interferonpreparaten. De gevonden effecten konden daarom lang niet altijd met voldoende zekerheid aan de invloed van interferon worden toegeschreven. Bepaalde effecten die in de cel werden waargenomen, konden evengoed veroorzaakt zijn door in de interferonpreparaten aanwezige verontreinigingen.

Ook bij het zoeken naar het chromosoom waarop erfelijke informatie ligt die noodzakelijk is voor de werking van interferon, heeft men dankbaar gebruik gemaakt van hybride cellen, d.w.z. cellen die tot stand zijn gekomen door cellen van de ene soort te laten samensmelten met cellen van de andere soort. In het hier beschouwde onderzoek was dat meestal een fusie van mensen- en muizecellen. In dit geval voornamelijk door muizecellen te fuseren met mensencellen. Deze muis-mens-hybriden missen bijna altijd een of meer menschromosomen, terwijl de verzameling muizechromosomen compleet is. Al deze cellen bleken gevoelig voor muize-interferon. Slechts een deel van de hybriden was gevoelig voor menselijk interferon. Dat deel beschikte bijna steeds over chromosoom 21. Was buiten de muizechromosomen alleen dit chromosoom 21 aanwezig, dan bleek de hybride weliswaar gevoelig voor menselijk interferon, maar in verzwakte mate. Om een niet helemaal begrepen reden nam de gevoeligheid voor menselijk interferon toe als er behalve chromosoom 21 ook andere menselijke chromosomen aanwezig waren. Ook in aneuploïde menselijke cellen (dat zijn cellen met een chromosomenbestand dat afwijkt

van de normale 23 paar) bleek het belang van chromosoom 21. In geval van trisomie-21, de genetische afwijking die verantwoordelijk is voor het Down-syndroom (mongoloïde idiotie), waarbij de cellen driemaal het chromosoom 21 bezitten, bleek dat de cellen meer gevoelig waren voor interferon. Monochromosoom-21-cellen, d.w.z. cellen met maar één chromosoom 21 daarentegen, bleken minder gevoelig voor menselijk interferon dan normale cellen. Zoals we verderop uitgebreid zullen zien, bezit interferon behalve antivirale eigenschappen ook zogenaamde niet-antivirale eigenschappen. De andere effecten die hierdoor worden opgewekt hangen eveneens sterk af van de aanwezigheid van chromosoom 21.

Naar het zich laat aanzien hangt de belangrijke rol van chromosoom 21 samen met de produktie van receptormoleculen op het celmembraan, die reageren op contact met interferon. Interferon oefent zijn antivirale activiteit uit via de cel. Het is niet, zoals antilichamen, in staat om virussen direct aan te pakken en uit te schakelen. Om zijn antivirale activiteit uit te oefenen hoeft interferon de cel evenwel niet binnen te gaan. Als men interferon bindt aan bolletjes die de celwand niet kunnen passeren, dan heeft dat geen nadelige invloed op de antivirale activiteit. Interferon hecht waarschijnlijk op speciale plaatsen, de zgn. *interferon receptors*, aan de cel. Als men cellen met trypsine, een eiwitsplitsend enzym, behandelt en daarna interferon toevoegt, blijkt de stof onwerkzaam. Men neemt aan dat trypsine de receptoren van de celmembraan vernietigt. Als men cellen voorbehandelt met choleratoxine of schildklier stimulerend hormoon, beide stoffen waarvan we weten dat ze een binding aangaan met speciale receptoren op de celmembraan, dan is interferon niet meer in staat om ten aanzien van deze voorbehandelde cellen zijn typische activiteit uit te oefenen. Er wordt aangenomen dat choleratoxine en schildklier stimulerend hormoon ofwel zelf de interferonreceptoren bezetten, ofwel dat hun receptoren zo dicht in de buurt van die van interferon liggen dat deze afgeschermd worden en daarmee voor interferonmoleculen onbereikbaar worden. Men heeft sterke vermoedens dat chromosoom 21 de genetische informatie bevat voor de receptor (in de membraan ingebouwd eiwit). Argumenten daarvoor zijn dat er meer binding tussen interferon en de celmembraan optreedt naarmate er meer exemplaren van chromosoom 21 in de cel aanwezig zijn en het onderzoek waarbij is aangetoond dat in de muismens-hybriden weliswaar chromosoom 21 de gevoeligheid voor menselijk interferon van de hybriden bepaalt, maar dat het hele mechanisme waarop de antivirale werking van interferon berust in dit soort cellen van muizenorsprong is.

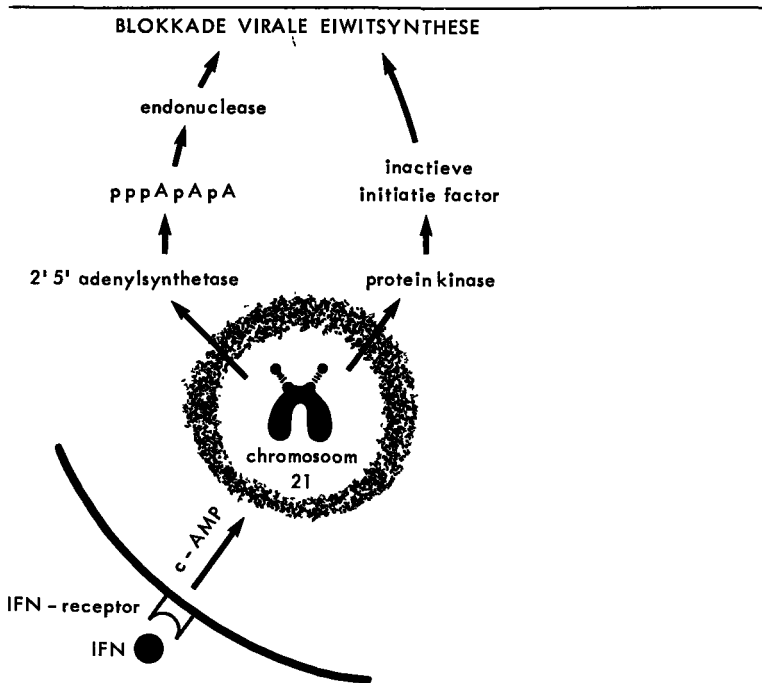
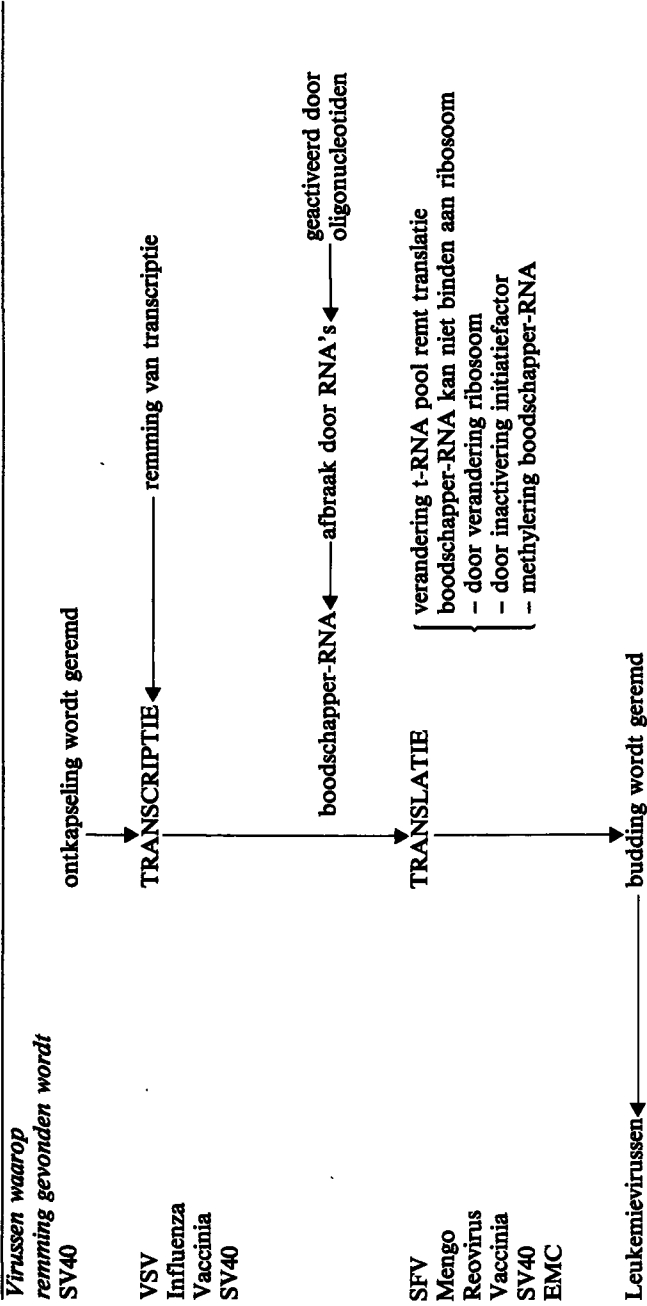


Fig. 6.1. Antiviraal werkingsmechanisme interferon. Een vereenvoudigde samenvatting van wat bekend is over de antivirale werking van interferon. Interferon reageert met een receptor op de celmembraan. Door deze interactie ontstaan twee enzymen in de cel; door het ene enzym, het adenylyl synthetase, wordt uiteindelijk het boodschapper-RNA van het virus afgebroken; door het andere enzym, het proteïn kinase, wordt verhinderd dat het boodschapper-RNA van het virus in viruseiwit wordt vertaald.

De studie naar de relatie tussen de binding van interferon aan de celwand en het effect daarvan op de rest van de cel wordt bemoeilijkt door het feit dat er maar zo weinig interferon nodig is om het antivirale effect in de cel op te wekken. Wil men na afloop van een experiment echter in staat zijn het interferon in de celmembraan aan te tonen, dan moet men cellen met hele grote concentraties interferon behandelen. Men heeft desalniettemin in een aantal gevallen kunnen vaststellen dat alleen binding optreedt aan *homologe* cellen, d.w.z. cellen van de soort waarin ook de activiteit wordt opgewekt. In *heterologe* cellen, d.w.z. cellen van een andere soort waarin een bepaald type interferon niet werkt, bleek ook geen binding aan de celmembraan op te treden. Voorts werd vastgesteld dat er binnen de soort een directe relatie is tussen de interferonbin-

Tabel 6.1. Niveaus waarop interferon zijn antivirale activiteit zou uitoefenen.



ding aan een cel en het optreden van een interferoneffect in zo'n cel. In L-1210-cellen, (muizeleukemiecellen), bleek interferon zich alleen te binden aan interferongevoelige cellen. L-1210-cellen die niet gevoelig waren voor interferon vertoonden ook geen interferonbinding aan de celmembraan. Binding tussen interferon en de cel komt binnen enkele minuten tot stand. Voegt men interferon aan een celcultuur toe en haalt men het medium na tien minuten weg, dan zal, na wassen, in de cellen toch de normale antivirale staat zich in deze cellen ontwikkelen. De binding tussen interferon en de cel kent waarschijnlijk twee toestanden. In de reversibele (omkeerbare) fase, kan het interferon nog van de membraan loslaten. Dit wordt gevolgd door een *irreversibel* (onomkeerbaar) proces, waarin de definitieve hechting plaatsvindt. Voegt men bij een temperatuur van 4°C interferon bij cellen, dan kan men interferon nog van de cellen afwassen en treedt er geen antivirale activiteit op. Bij 4°C treedt dus alleen de reversibele binding op tussen interferon en celmembraan.

Nadat de binding tussen de cel en interferon heeft plaatsgevonden, duurt het enige tijd voordat de antivirale toestand intreedt. Na een uur of twee, drie wordt remming van de virusgroei meetbaar. Na zes tot acht uur is de remming maximaal. Worden in de periode dat de antivirale toestand zich ontwikkelt eiwitten toegevoegd die de RNA-synthese remmen, dan treedt de antivirale toestand niet op. De reden is dat interferon niet zelf de antivirale activiteit in de cel uitoefent, maar in de cel aanleiding geeft tot de aanmaak van eiwitten die dat wel doen. Remt men de stofwisseling van de cel, dan is de cel niet in staat deze antivirale eiwitten te produceren.

Geënuceerde cellen, d.w.z. cellen waaruit de kernen zijn verwijderd, zijn niet gevoelig voor de antivirale werking van interferon. Op het DNA in de celkernen bevindt zich immers de genetische informatie voor de produktie van antivirale eiwitten die door interferon wordt gestimuleerd. Zolang interferon in de buurt van een cel aanwezig is, blijft de virusgroei geremd. Verwijdert men het interferon, dan is na enige tijd remming van virusgroei in de cellen niet meer aantoonbaar. De tijd die verstrijkt totdat de antivirale activiteit is verdwenen, wisselt nogal. Gerapporteerde tijden variëren van een half uur tot meer dan een week. De grote variatie wordt veroorzaakt door twee belangrijke factoren. Op de eerste plaats is de duur van de interferonwerking afhankelijk van de metabolische staat van de cellen. Hoe sneller de stofwisseling verloopt, hoe eerder de antivirale staat ongedaan is gemaakt. Een tweede belangrijke factor is de hoeveelheid interferon waarmee de celweek is behandeld. Hoe meer interferon eraan is toegevoegd,

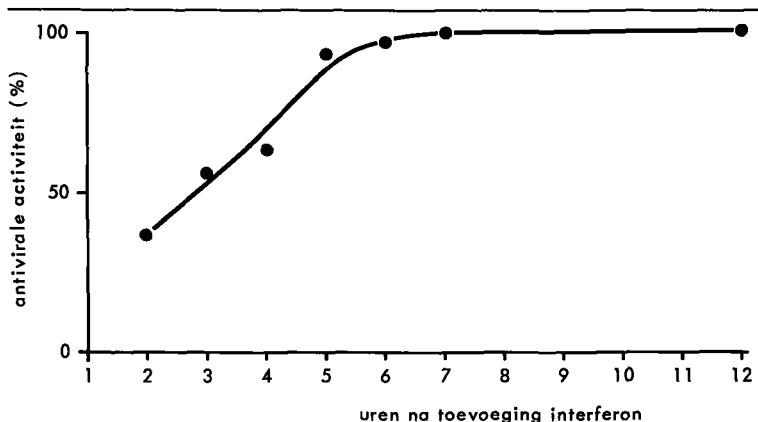


Fig. 6.2. Deze figuur toont aan dat het vijf tot zes uur na contact met interferon duurt, voordat de antivirale toestand in de cel zich maximaal heeft ontwikkeld. Het betreft hier rattecellen na behandeling met ratte-interferon, maar identieke resultaten worden gevonden bij andere interferon-celcombinaties.

hoe langer het duurt voor alles is verwijderd. Omdat interferon zo buitengewoon biologisch actief is, zal ook een reeds sterk gereduceerde hoeveelheid nog in staat zijn om antivirale activiteit uit te oefenen.

Karakteristiek voor de antivirale toestand waarin cellen zich bevinden na interferoncontact is het feit dat de groei van een uiteenlopend aantal verschillende virussen is geremd. Maar dat wil nog niet zeggen dat alle soorten even sterk in hun replicatie worden gehinderd. De mate waarin virussen worden geremd is afhankelijk van de celsoort en niet van het virus. Virus dat in met ratte-interferon behandelde rattecellen op geen enkele manier wordt gehinderd bij zijn replicatie, kan in muizecellen die met een fractie interferon zijn behandeld volstrekt worden geremd.

Het meest interessante aspect van het interferononderzoek is wel de vraag hoe interferon de groei van virussen in cellen remt. Welke stap in de virusreplicatie is in met interferon behandelde cellen niet meer mogelijk? En waarop berust de selectiviteit van antivirale activiteit. Immers, in met interferon behandelde cellen is de virusgroei geremd, terwijl kennelijk de normale stofwisseling van de cel niet gehinderd wordt. We hebben eerder gezien dat de stofwisseling van het virus nagenoeg identiek is aan de stofwisseling van de cel. Het is dus boeiend om uit te zoeken hoe de cel er toch in slaagt de virusgroei selectief uit te schakelen. De eerste fase van vi-

Tabel 6.2. *Verdwijnen van antivirale activiteit na wegspoelen interferon uit weefselweek*. Over hoelang de antivirale activiteit van interferon aanhoudt, heerst weinig overeenstemming. Het is duidelijk afhankelijk van de experimentele omstandigheden. Hier een resultaat van eigen onderzoek in rattecellen behandeld met ratte-interferon. 24 uur na het weghalen van het interferon wordt virusreproductie nog even hard geremd als tijdens de aanwezigheid van interferon. Na twee dagen is de virusproductie nog steeds maar 0,0001% van de controle. Pas na vijf dagen is de antivirale activiteit aanmerkelijk afgenomen.

<i>uren na weglaten van interferon</i>	<i>hoeveelheid virus dat minder wordt gemaakt</i>
0	$10^{7,9}$
24	$10^{8,1}$
48	$10^{5,9}$
120	$10^{0,5}$

rusgroei in met interferon behandelde cellen is niet aangetast. De virussen kunnen normaal penetreren en ook de fase van de uncoating, waarbij het virale nucleïnezuur in de cellen vrijkomt, verloopt ongestoord. De blokkade treedt op in de daarop volgende stadia. Er is jarenlang gediscussieerd over de vraag of de virale transcriptie, dat is de fase waarin het virale boodschapper-RNA wordt gemaakt, ofwel de virale-translatiefase, waarin het virale boodschapper-RNA wordt omgezet in virale eiwitten, geremd is in met interferon behandelde cellen. Deze twee processen zijn echter onderling vaak sterk afhankelijk van elkaar. Vaak is translatie van een bepaald viruseiwit noodzakelijk, wil de transcriptie van het virus op gang komen, maar uiteraard moet eerst transcriptie van het virale boodschapper-RNA plaatsvinden, voordat het in het translatiemechanisme kan worden vertaald. De remming op het ene niveau kan dus best veroorzaakt worden door remming op het andere niveau. De meeste experts geloven dat het moment van de blokkade ligt op het niveau van de translatie, d.w.z. dat in eerste instantie de aanmaak van viruseiwitten geremd is. Die remming ontstaat omdat interferon in de cellen twee enzymen induceert, *fosfokinase* en een *oligo(A)synthetase*. Door het fosfokinase wordt een initiatiefactor gefosforyleerd, d.w.z. door binding met fosfaatmoleculen onschadelijk gemaakt. Deze initiatiefactor heeft het virale boodschapper-RNA nodig om te kunnen worden vertaald in viruseiwitten. Het oligo(A)synthetase geeft aanleiding tot productie van kleine stukjes nucleïnezuur. Deze stukjes nucleïnezuur activeren een RNase, een enzym dat kennelijk in staat is selectief het boodschapper-RNA afkomstig van het virus, af te breken, terwijl het boodschapper-RNA van de cel zelf gespaard blijft. Men zegt wel dat, omdat het virus-RNA zich niet meer kan

verbinden met de initiatiefactoren, het kaal en onbeschermd tegen de RNase-activiteit blijft. Boodschapper-RNA van de cel kan zich wel normaal binden met de initiatiefactoren, mits bedekt door de initiatiefactor die het beschermt.

De manier waarop interferon de groei van RNA-tumorvirussen remt, is een ander verhaal. Deze virussen die o.a. in staat zijn leukemie te veroorzaken bij een groot aantal diersoorten, en misschien bij de mens, hebben een heel bijzonder mechanisme om zich voort te planten. Als deze virussen een cel infecteren wordt van RNA via een speciaal enzym, het *reverse transcriptase*, een DNA-kopie gemaakt. Dit DNA kan gewoon tussen het DNA van de cel in de celkern terechtkomen en zich precies zo gaan gedragen als dat gastheer-DNA. Het DNA kan bij de celdeling gewoon meedelen en op die manier aan een aantal dochtercellen worden doorgegeven. Op die manier kan dus iemand of van moeders of van vaderskant naast bepaalde goede eigenschappen ook een kankervirus krijgen. Het virus-DNA, verborgen in het cel-DNA, kan voortdurend boodschapper-RNA produceren die door de cel steeds in viruseiwitten worden vertaald. Ook kunnen voortdurend RNA's worden geproduceerd die dan samen met de viruseiwitten nieuwe tumorvirussen vormen die via een *buddingsmechanisme* aan de celwand kunnen uitknoppen en de cel verlaten, terwijl de cel verder normaal blijft functioneren en intact blijft. Als men bij deze chronische virusproducerende cellen interferon voegt, dan neemt in een aantal van de gevallen de virusproductie van die cellen af. Kijken we echter met een elektronenmicroscop naar deze met interferon behandelde cellen, dan blijkt het aantal virussen die aan het uitknoppen zijn op de celmembraan in de met interferon behandelde cellen, vele malen groter dan in onbehandelde cellen. Dit wijst erop dat de virusgroei van dit soort virussen door interferon in een zeer laat stadium wordt geremd, dus op het moment dat ze aan het uitknoppen zijn.

Duidelijk is in elk geval dat interferon in staat is op meerdere niveaus de virusgroei te remmen en dat dit niveau gerelateerd is aan het virus. De mate waarin interferon in staat is in cellen antivirale activiteit uit te oefenen is sterk afhankelijk van de leeftijd van die cellen. Cellen afkomstig uit embryo's zijn niet gevoelig voor interferon. Men weet niet precies hoe dit komt. Misschien dat zeer jonge cellen niet in staat zijn receptoren te maken voor interferon. Er zijn ook aanwijzingen dat jonge cellen in staat zijn interferon te inactiveren. Sommige onderzoekers beweren dat embryonale weefsels een eiwit produceren dat de werking van interferon tegenaan gaat. De celdichtheid is overigens ook van invloed op de interferonwerking. Hoe dichter de cellen bij elkaar zitten, des te gevoeli-

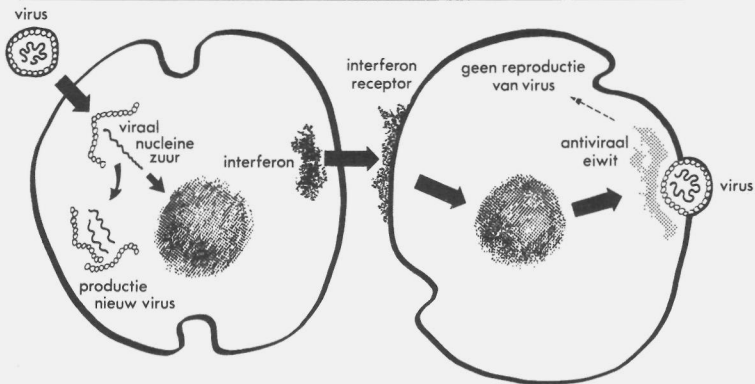


Fig. 6.3. Virale inductie en antivirale werking op celniveau. Een samenvatting van de inductie van interferon door virussen en het antiviraal werkingsmechanisme op celniveau. De linkercel wordt besmet met een virus. Door de aanwezigheid van het vreemde virale nucleïnezuur maakt deze cel interferon. Deze cel gaat wel aan de virusinfectie ten gronde. Het interferon gaat naar de niet besmette nabuurlcellen. Als interferon contact maakt met de celmembraan worden een aantal enzymen geproduceerd in deze cel, die zorgen dat als deze cel wordt besmet het virus niet kan repliceren.

ger zijn ze voor interferon. Dit zou samenhangen met het feit dat cellen in staat zijn om de door interferon geïnduceerde enzymen als fosfokinase en oligo(A)synthetase aan elkaar door te geven. Als dit zo is, dan kan men ook begrijpen dat de overdracht sterker wordt naarmate de cellen dichter bij elkaar zitten. Interferon zal zijn activiteit in het lichaam vaak moeten doen onder omstandigheden die afwijken van de normale toestand in gezond weefsel. Op de plaats van een virusinfectie daalt de zuurgraad van het weefsel omdat cellen worden afgebroken. Interferon blijft echter ook in een zuur milieu actief. Bij een virusinfectie is de temperatuur vaak verhoogd. Hierdoor wordt de interferonactiviteit nog versterkt. De afwijkende omstandigheden van infectiehaarden tasten de effectiviteit van interferon niet aan.

VII. Afweer van het lichaam

Immunologie is het onderdeel van de medische wetenschap dat zich bezighoudt met verschijnselen die samenhangen met de verdediging van een organisme tegen indringers van buiten. Aanvankelijk was de aandacht van de immunologie vrijwel beperkt tot het onderwerp immuniteit en hield de immunoloog zich eigenlijk alleen maar bezig met het voorkomen van infectieziekten door vaccinatie en immunisatie. De moderne immunologie richt zich echter niet alleen op het verschijnsel van immuniteit, maar betreft ook alle andere vormen van afweer in haar onderzoekpakket.

Het moet al vroeg zijn opgevallen dat men bepaalde ziekten maar éénmaal in zijn leven kreeg, waarna blijkbaar een bepaalde permanente vorm van bescherming tegen dezelfde ziekte was gecreëerd. De oude Chinezen pasten dit idee al toe door pus uit de wonden van pokpatiënten over te brengen in de huid van gezonden, in de hoop daar plaatselijk op de huid een infectie te veroorzaken die beperkt bleef maar wel levenslang zou beschermen tegen pokken. Dit gebruik wordt *variolatie* genoemd naar *variola*, dat pokken betekent. Deze variolatie is ook in Europa een tijdlang in zwang geweest. Variolatie was echter niet zonder gevaar, omdat men daarbij het echte pokkenvirus overbracht en vaak met het pokkenvirus ook de verwekkers van andere ziekten zoals syfilis. Door Jenner (1749-1823) werd een veel veiliger methode bedacht om mensen tegen pokken te beschermen. Daarmee werd hij de grondlegger van de moderne immunologie.

Als zoon van een dominee werd Jenner al op 13-jarige leeftijd leerjongen bij een medicus. Nadat hij in Londen uiteindelijk zijn opleiding tot arts had voltooid, ging hij terug naar het platteland. Naar men zegt zou zijn ontdekking vooral geïnspireerd zijn door de schoonheid van de melkmeisjes. In tegenstelling tot veel van hun tijdgenoten waren hun gezichten niet geschonden door de pokken. De meisjes zouden tegen pokken beschermd zijn, omdat zij tijdens het melken aan de handen besmet raakten met het koepokvirus, wat hen immuun maakte tegen het menselijke pokkenvirus. Het echte verhaal van Jenners ontdekking is wat minder prozaïsch. Jenner stelde inderdaad vast dat mensen die met koeien omgingen en eens (meestal aan de handen) met het koepokvirus besmet waren geweest, nooit pokken kregen. Het kostte echter wel 25 jaar studie en observatie voordat Jenner het aandurfde zijn vermoeden ook experimenteel te toetsen. Op 14 mei 1796 bracht hij

pus uit een koepoklesie op de hand van het melkmeisje Sarah Nelmes over in de huid van een jongen genaamd James Phipps. Zes weken later besmette hij het jongetje Phipps met het variolavirus, het gevaarlijke pokkenvirus. Het jongetje bleek tegen dit virus beschermd te zijn. In 1798 publiceerde Jenner zijn bevindingen en, zoals het wel vaker gaat in de wetenschap, trok hij weinig belangstelling. Maar na enige jaren werd zijn idee toch opgepikt en op dit moment is de hele wereld pokkenvrij gemaakt met de methode die aan het eind van de 18e eeuw door een Engelse plattelandsarts werd uitgedacht.

Na Jenner gebeurde er zo'n honderd jaar niets meer in de immunologie. Jenners idee had een uitgesproken empirische achtergrond. We weten nu dat de opwekking van pokkenimmunitet volgens de methode-Jenner een uitzondering vormt. Het is een van de weinige voorbeelden waarbij geïmmuniseerd kan worden door een uit dieren afkomstig verwant virus toe te dienen, dat bij mensen maar een onschuldige ziekte geeft. De immunologie kon zich pas verder ontwikkelen toen meer bekend werd over de wijze waarop besmettelijke ziekten worden overgebracht.

Voorals Pasteur heeft op dat punt een aantal belangrijke ontdekkingen op zijn naam staan. Over zijn bijdrage aan de microbiologie hebben we in het eerste hoofdstuk al geschreven. Louis Pasteur vond onder meer het principe van de *attenuering* uit, d.w.z. een ziekmakende bacterie of een ander micro-organisme zozeer verzwakken dat deze geen gevaar meer opleveren voor de gezondheid, maar wel de gwenste immunitet kunnen opwekken. Pasteur ontdekte dat een bacterie die bij kippen cholera veroorzaakt, zijn ziekmakend vermogen verloor wanneer deze een tijdlang in het laboratorium op voedingsbodems werd gekweekt, maar in kippen wel immunitet opwekte. Hij vond ook dat de *bacillus anthracis*, de verwekker van miltvuur, na kweken op 42°C niet meer schadelijk was voor schapen, maar wel beschermde tegen een volgende besmetting. Het principe van attenuering wordt nog steeds toegepast, bijv. bij de produktie van vaccins tegen mazelen en polio. Tegenwoordig creëert men de 'verzwakte' virussen óf door selectie uit een groot aantal ter beschikking staande stammen óf door bestraling. Pasteurs roem is vooral gebaseerd op de ontwikkeling van een vaccin tegen hondsdolheid. Terzijde zij opgemerkt dat het woord vaccinatie door Pasteur is ingevoerd als eerbewijs aan Jenner. Jenner gebruikte virus van de koe, in het Latijn *vacca*. Pasteur ontdekte dat als men ruggemerg afkomstig van dieren die aan hondsdolheid waren overleden een tijdlang bewaarde, hieruit geen zieke kiemen meer konden worden geëxtraheerd, maar dat het wel immuniseerde tegen hondsdolheid. Op 6

Tabel 7.1. Algemene eigenschappen van de verschillende typen antilichamen.

molecuul- gewicht	lichte keten	zware keten	aantal anti- genen dat		% totaal immuun- globulinen	comple- ment- binding	doorlaat- baarheid placenta	functie
			κ en λ	γ				
IgG 150 000	κ en λ	γ	2	2	80%	++	+	meest voorkomende anti- lichaam. In lichaamsvloeistoffen gericht tegen micro-organismen en hun toxines. Blijft jaren na contact antigeen aanwezig.
IgA 160 000	κ en λ	α	2	2	13%	±	-	komt vooral voor op lichaams- oppervlakte: in neusslijm, darm- slijmvlies, enz.
IgM 900 000	κ en λ	μ	10	10	6%	+++	-	eerste type dat na contact met antigeen gemaakt wordt. Is maar enkele maanden na het contact aanwezig.
IgD 185 000	κ en λ	δ	2	2	1%	--	-	zit op T-lymfocyt; hiermee her- kent deze cel het antigeen waar- tegen hij is gericht.
IgE 200 000	κ en λ	ϵ	2	2	0,002%	--	-	vooral bij infecties met parasie- ten als wormen enz.; is ook ver- antwoordelijk voor allergische reacties.

juli 1885 besloot hij Joseph Meister, die twee dagen daarvoor ettelijke malen was gebeten door een dolle hond, onder grote druk van zijn ouders te behandelen met zo'n ruggemergextract. Hij vaccineerde de jongen met dit preparaat gedurende twee weken, waarbij de dosis dagelijks werd verhoogd. Joseph Meister overleefde de aanval van de dolle hond en Pasteur meldde dit resultaat in een wetenschappelijke bijeenkomst. Het jaar daarop werden 350 slachtoffers van hondsdolle dieren behandeld volgens de methode van Pasteur. Bij geen van hen trad hondsdolheid op. Pasteurs faam was daarmee in de hele wereld gevestigd. In heel Europa werden Pasteur-instituten opgericht. Pasteur werd begraven in een crypte in het Pasteur Instituut in Parijs. Door een speling van het lot werd Joseph Meister daar portier. In 1940 pleegde hij zelfmoord, omdat hij de sleutels van de crypte niet aan de Duitsers wilde geven.

In de tijd van Pasteur ontstond het idee dat immuniteit samenhang met de activiteit van bepaalde cellen in het lichaam die met *fagocyten* worden aangeduid. Deze cellen zijn het eerst in 1882 beschreven door de Rus Elie Metchnikoff, die leefde van 1845 tot 1916. Metchnikoff nam waar dat als hij een doorn stak in de doorzichtige larve van een zeester, deze werd omgeven door beweeglijke cellen. Later ontdekte hij dat in watervlooien dezelfde soort cellen gistcellen konden opnemen en vernietigen. Deze fagocyten danken hun naam aan het feit dat ze materiaal kunnen absorberen op een wijze die veel weg heeft van eten (in het Grieks: *fagein*). De hypothese dat cellen verantwoordelijk waren voor de immuniteit kende nog al wat tegenstanders. In 1888 beschreef Nuttall dat onstolbaar gemaakt bloed bacteriën kon doden. Hij suggereerde dat de fagocyterende cellen in het bloed alleen maar zorgen voor de verwijdering van bacteriën die al door een in het bloedserum aanwezige substantie zijn gedood. In 1894 beschreef Pfeiffer dat de cholera-bacterie door een factor uit het serum kon worden gedood. In 1899 beschreef Emil von Behring, die leefde van 1854 tot 1917, dat de immuniteit voor difterie en tetanus zijn oorsprong vond in het celvrije gedeelte van het bloed. Behring was de grondlegger van de serumtherapie, waarbij serum met antidifterie- en antitetanusactiviteit als geneesmiddel werd gebruikt. In 1901 won Behring als eerste de Nobelprijs voor medicijnen en fysiologie. Hij werkte aanvankelijk in het laboratorium van Robert Koch (zie hoofdstuk I). De relatie met Koch verkoelde echter, omdat deze nogal jaloers was op het succes van Behring. Deze aanvaardde daarom een hoogleraarschap, maar al snel bleek dat doceren niet zijn sterkste kant was. Behring ging toen maar in zaken en de door hem opgerichte Behringwerke zijn nog steeds een vooraanstaand bedrijf op

het gebied van biologische produkten. Het was Wright, die leefde van 1861 tot 1947, die in 1903 aantoonde dat zowel zij die beweerden dat de immuniteit werd veroorzaakt door cellen, als zij die meenden dat de immuniteit zich in het serum bevond, gelijk hadden. Hij liet zien dat de serumfactoren inderdaad een belangrijke rol speelden bij de immuniteit en hielpen om het fagocyterend proces goed te laten verlopen. We weten nu dat de serumfactoren de antilichamen zijn.

Een andere belangrijke pionier uit de beginperiode van de immunologie is Paul Ehrlich geweest, die leefde van 1854 tot 1915. Hij ontdekte onder meer dat de immuniteit niet onmiddellijk ontstaat, maar dat er enige tijd verstrijkt tussen het contact met een bepaald agens en de produktie van antilichamen daartegen. Hij beschreef ook als eerste de *boosterreactie*, het verschijnsel dat bij een tweede contact met hetzelfde agens de produktie van antilichamen groter is en sneller verloopt. Hij ontdekte ook dat de immuniteit in de vorm van antilichamen van moeder op kind kan worden overgedragen, zodat het kind in de eerste maanden na de geboorte wordt beschermd door de antilichamen van de moeder. Na Ehrlich was het even rustig aan het onderzoeksfront.

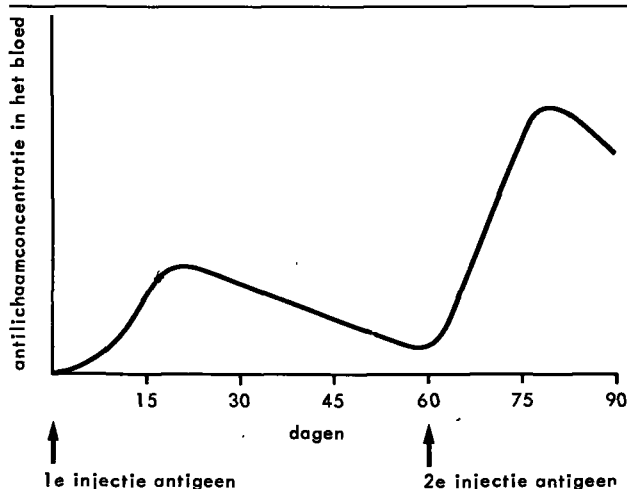


Fig. 7.1. Boosterreactie. Bij een tweede injectie van een antigeen treedt de immunreactie sneller op en is veel sterker dan bij de eerste injectie: de zgn. 'booster'reactie. De typen antilichamen die gemaakt worden zijn verschillend tijdens beide reacties. Bij het eerste contact wordt vooral IgM gemaakt, dat maar enige maanden aanwezig blijft. Bij hernieuwd contact wordt vooral IgG gemaakt, dat jarenlang aanwezig blijft.

In 1928 kan een nieuw wapenfeit worden gemeld. Ramon ontdekte dat het mogelijk was *toxinen*, dat zijn bepaalde giftige stoffen die door bacteriën kunnen worden uitgescheiden, te ontgiften door ze met *formaldehyde* te behandelen zonder de immunogene werking (d.w.z. het vermogen om in de mens beschermende antilichamen op te wekken) aan te tasten. Formaldehydebehandeling gaf bovendien het voordeel dat de toxinen veel stabiel(er) werden, dus langer houdbaar en bruikbaar(er) dan vaccin. Al vroeg in de geschiedenis van de immunologie had men ontdekt dat het immuunapparaat weliswaar een beschermende werking uitoefende, maar dat dit niet altijd zonder negatieve gevolgen bleef. Het was Koch die als eerste de *delayed type hypersensitivity* beschreef, letterlijk de uitgestelde overgevoeligheid. Hij ontdekte dat als bij mensen met tuberculose de tuberkelbacterie onder de huid werd ingespoten het lichaam daarop een overreactie vertoonde, met als gevolg dat op die plaats een grote zweer ontstond. Het waren Portier en Richet die bij pogingen om dieren te immuniseren tegen het bijzonder giftige toxine van zeeanemonen, ontdekten dat deze dieren als ze enige weken daarvoor met toxine waren voorbehandeld in een shocktoestand raakten en stierven, zelfs als maar een heel geringe dosis toxine werd ingespoten. Men noemde dit verschijnsel *anafylaxis*, hetgeen letterlijk betekent: zonder bescherming. In dit geval leidde dus de reactie tussen het toxine en de antilichamen tot een acute dood. In de tijd dat er nog geen antibiotica waren en men serum gebruikte bij de bestrijding van bepaalde infecties door micro-organismen werd door Smith de zogenaamde *serumziekte* beschreven, die eigenlijk een subtiele vorm is van anafylaxis. Daarbij worden antilichamen gevormd tegen de eiwitten die in het serum aanwezig zijn, waarbij de complexen die gevormd worden tussen de antilichamen en het serumproduct in de nieren en andere organen kunnen neerslaan met als gevolg stoornissen in de nierfunctie. Witebsky was de eerste die de *auto-immuunziekte* beschreef. Auto-immuunziekten zijn ziekten waarbij het immuunapparaat zich niet richt op vreemde indringers van buiten, maar op cellen van het eigen lichaam. Verderop in dit hoofdstuk komen we er uitgebreider op terug.

De belangrijkste functie van het immuunapparaat is de herkenning van wat lichaamseigen is en wat niet om vervolgens het vreemde materiaal op te ruimen. Immunologische processen kunnen grofweg worden onderverdeeld in specifieke en niet-specifieke processen. Specifieke immuniteit ontstaat pas na contact met een bepaald agens. Voor het eerste contact is het niet aanwezig. Specifieke antilichamen en immuuncellen die door een bepaald agens zijn opgewekt zijn alleen werkzaam tegen dat bepaalde agens. Tot

de niet-specifieke afweer rekent men die onderdelen van de afweer die aanwezig zijn op het moment van het eerste contact met een bepaald agens en niet uitsluitend op dat bepaalde agens zijn gericht. De factor die in staat is immuniteit op te wekken heet een *antigeen*. In complexe stoffen en ook micro-organismen zijn meerdere factoren aanwezig die immuniteit kunnen induceren. Men spreekt in dat geval van meerdere *antigene determinanten*. Antilichamen zijn eiwitten die tijdens de immuunreactie gemaakt worden en die in staat zijn zich specifiek met een antigeen te binden. Ze worden gemaakt door de B-lymfocyten en komen voor in het bloed en andere lichaamsvloeistoffen. Men spreekt daarom wel van de *humorale immuniteit*. Onder de *cellulaire immuniteit* rekenen we de cellen die zich specifiek met een bepaald antigeen kunnen verbinden. Men noemt deze cellen de *T-lymfocyten*. Wanneer een antigeen voor een tweede maal in het organisme wordt geïntroduceerd, treedt er een grotere en snellere reactie op, de *boosterreactie*. Deze duidt erop dat het immuunapparaat een geheugen heeft. Men spreekt van *immunologische tolerantie* als een immuunreactie eigenlijk had moeten optreden maar uitblijft. De meest uitgesproken vorm van immunologische tolerantie is de *zelftolerantie*, d.w.z. dat het lichaam tegen zijn eigen antigenen geen immunologische afweer opbouwt.

De niet-specifieke afweer is de eerste verdedigingslinie van het lichaam. Dit onderdeel van de afweer hoeft niet te worden geactiveerd. Het is voortdurend aanwezig en treedt ogenblikkelijk op tegen een vreemde indringer. Deze niet-specifieke afweer kan men onderverdelen in beschermende substanties, de *fagocyterende cellen*. Tot de beschermende substanties rekent men *spermidine*, dat zich aan de wand van bepaalde bacteriën kan hechten en op die manier het functioneren van de bacterie kan belemmeren, en *transferrine*, een stof die in het lichaam verantwoordelijk is voor het transport van ijzermoleculen en die in staat is bepaalde bacteriën van ijzer te ontdoen waardoor hun stofwisseling gestoord wordt. Onderdeel van de niet-specifieke afweer is ook het *lysozym*, dat in de lichaamssecretie voorkomt en in staat is om de wanden van bacteriën af te breken. Fagocyterende cellen zijn cellen die in staat zijn bepaalde indringers in zich op te nemen en te vernietigen. Men maakt onderscheid tussen *microfagen* en *macrofagen*. Bepaalde witte bloedcellen, de *granulocyten*, zijn cellen die in het bloed circuleren en die hun naam danken aan de korrels die in hun cellichaam voorkomen. Deze korrels bevatten de enzymen die noodzakelijk zijn om opgenomen stoffen te vernietigen. Granulocyten kunnen worden aangetrokken door stoffen die bacteriën in het weefsel produceren. Een belangrijke factor die de granulocy-

ten tot fagocytose aanzetten is *complement*, waarover verder in het hoofdstuk meer. Macrofagen circuleren ook wel in het lichaam, maar bevinden zich vooral in de lymfeklieren. De lymfeklieren zijn de filters van ons lichaam. Als in deze klieren iets wordt opgevangen wordt het daar vervolgens door de macrofagen opgeruimd. Macrofagen leven langer dan de granulocyten en kunnen zich, in tegenstelling tot de granulocyten, delen. Ze worden door antilichamen aangetrokken en ze vormen een belangrijke schakel in het mechanisme van de specifieke immuniteit. Bij de specifieke immuniteit wordt de herkenning van het antigeen en het opruimen daarvan door dezelfde cellen, de lymfocyten, uitgevoerd. Een volwassen mens bezit zo'n 10^{12} lymfocyten, afkomstig uit stamcellen in het beenmerg.

Men kan de lymfocyten onderverdelen in T-lymfocyten en B-lymfocyten. In de T-lymfocyt staat de T voor *thymus*, omdat deze lymfocyten vanuit de stamcel via de thymus in het lymfeklierweefsel terecht komen. Als de stamcellen in de thymus terecht zijn gekomen, vinden daar een onnoemelijk aantal delingen plaats, waarbij de T-lymfocyten ontstaan. De meeste gaan in de thymus ten gronde. Slechts een klein gedeelte verlaat de thymus om daar nooit meer terug te keren. De thymus is dan ook een orgaan dat alleen in de eerste tijd na de geboorte actief is en met de leeftijd kleiner wordt. Op volwassen leeftijd, wanneer het immuunapparaat volledig is uitgerijpt, is er nog nauwelijks thymusweefsel aanwezig.

De B-lymfocyt dankt zijn naam aan de *bursa*, een orgaan dat alleen bij vogels voorkomt. Bij vogels is vastgesteld dat dit soort lymfocyten eerst de bursa passeert voor deze in het lymfeklierstelsel terecht komen. De mens heeft geen bursa en men weet niet waar de B-lymfocyt bij ons eerst naar toe gaat. In ieder geval komen ze in de lymfeklieren terecht zonder eerst door de thymus te zijn gegaan. B-lymfocyten maken de antilichamen of *immuunglobulinen*.

Immuunglobulinen zijn de sleuteleiwitten van het immuunapparaat. Een immuunglobuline is opgebouwd uit twee lange en twee korte ketens. Het ene uiteinde van de immuunglobuline is constant van samenstelling, het andere eind variabel. Deze variabiliteit wordt veroorzaakt door het feit dat voor ieder antigeen eigen antilichamen worden gemaakt die precies op dat antigeen passen. Iedere immuunglobuline heeft twee plaatsen die zich met het antigeen kunnen verbinden, een eigenschap dat complexvorming mogelijk maakt tussen het antigeen en de immuunglobuline. De korte ketens van de immuunglobuline, ook wel de *L-chains* genoemd, komen in twee soorten voor, het *kappatype* en het *labda*

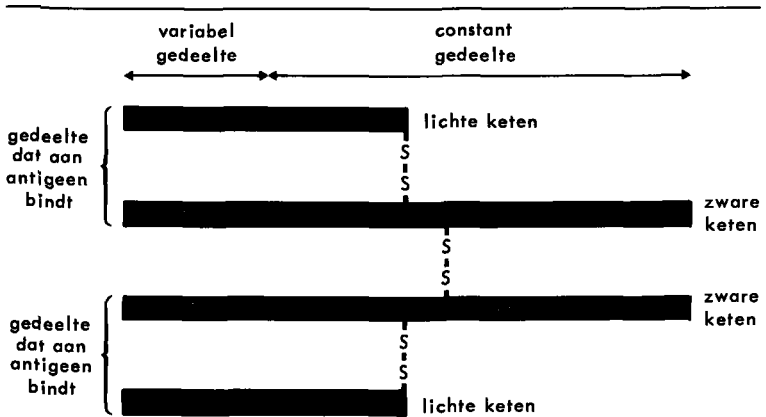


Fig. 7.2. Structuur immuunglobuline. Basisstructuur van een immuunglobuline of antilichaam. Het bestaat uit twee zware en twee lichte ketens verbonden door zwavelbruggen (S-S). De ketens bestaan uit een constant gedeelte en een variabel gedeelte aan de zijde van het molecuul dat het antigeen bindt. Dit gedeelte is variabel omdat het aan elk voorkomend antigeen moet worden aangepast. Er bestaan twee typen lichte ketens en vijf typen zware ketens (zie fig. 7.3.).

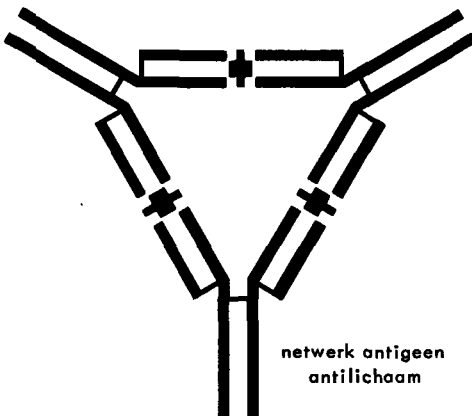
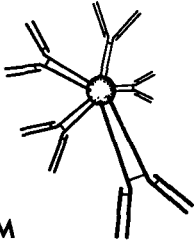


Fig. 7.3. Antigeen-antilichaamcomplex. Een immuunglobuline heeft minstens twee bindingsplaatsen voor een antigeen. Dat heeft tot gevolg dat complexvorming tussen antigenen en antilichamen kan optreden. Deze complexen kunnen gemakkelijker door o.a. macrofagen worden opgenomen en verwijderd.



IgM

Fig. 7.4. Structuur IgM. Het IgM-molecuul is een polymeer van vijf standaard immuunglobulinestructuren bijeengehouden door een J-keten ('joint'-keten). Dit zijn door hun 2 x 5 bindingsplaatsen voor antigeen per molecuul zeer sterke agglutinatoren. IgM is het eerste type antilichaam dat na contact met een antigeen wordt geproduceerd en is vooral actief in de bloedbaan.

type. Van de lange ketens of de *H-chains* kent men vijf soorten, *gamma*, *mu*, *alfa*, *delta* en *epsilon*.

Afhankelijk van de H-ketens onderscheidt men globulinen dan ook in vijf klassen. IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. Het IgG is het prototype van een immuunglobuline en komt het meest voor. Het kan onder meer de placenta passeren. Dit type antilichaam gaat over van moeder op kind, waardoor het kind de eerste maanden na de geboorte de nodige bescherming geniet. Dit antilichaamtype kan het complementsysteem activeren. IgM kan men beschouwen als vijf gekoppelde IgG-moleculen. Het bestaat uit tien korte L-ketens en tien lange H-ketens. Het is de eerste globuline die verschijnt na contact met een antigeen. Dit type immuunglobuline kan de placenta niet passeren en kan niet van moeder op kind overgaan. IgA is een type immuunglobuline dat vooral in allerlei lichaamssecreties wordt aangetroffen en dat zijn voornaamste activiteit uitoefent aan lichaamsoppervlakten, zoals in de neus en aan de darmwand. IgD bevindt zich op de buitenkant van de T-lymfocyten en zorgt dat de T-lymfocyten zijn antigeen kan herkennen. IgE is een type antilichaam dat vooral geproduceerd wordt tegen parasieten, zoals wormen en amoeben. Het speelt verder een belangrijke rol bij het ontstaan van allergieën. Het antilichaam kan zich binden aan *mastcellen*, dat zijn cellen die stoffen zoals *histamine* bevatten. Als zo'n mastcel met IgE in contact komt, dan geeft de mastcel histamine af; daaruit ontstaat vaatverwijding of vernauwing van de kleinste luchtwegen. Dit proces is verantwoordelijk voor de verschijnselen die optreden bij hoge koorts en astma. Antilichamen worden dus alleen gemaakt wanneer antigenen als vreemd worden herkend. Zoals gezegd kunnen

op bepaalde agentia en micro-organismen meerdere antigene determinanten aanwezig zijn. Bovendien worden tegen verschillende antigene determinanten verschillende typen antilichamen gemaakt, die alle op een verschillende manier op het antigeen reageren en kruisreacties met andere antigenen kunnen geven. Als men een dier dus met een bepaald antigeen immuniseert, dan zal, als men serum van zo'n dier afneemt, dit antiserum zeer heterogeen van samenstelling zijn.

Vaak is een binding tussen een antigeen en een antilichaam al voldoende om het antigeen in zijn functie te remmen. Bepaalde toxinen worden louter door binding met een antilichaam geïnactiveerd. Ook virussen worden door antilichamen aan hun buitenkant soms zó gehinderd, dat ze geen cellen meer kunnen infecteren. Maar de voornaamste manier waarop een antilichaam een antigeen uitschakelt verloopt door middel van activering van het *complementsysteem*.

Het zogenoemde complementsysteem bestaat uit negen componenten, C 1, 2, 3 t/m C 9. Het complementsysteem bevat zowel eiwitten die relatief vaak voorkomen, zoals C 3, als eiwitten die relatief zeldzaam zijn, zoals het C 2. Het complementsysteem wordt geactiveerd als de H-keten van de immuunglobuline reageert met C 1. Door deze binding wordt een enzym geactiveerd, zodat ook C 4 gebonden kan worden. Als dat gebeurd is, kunnen ook C 2 en C 3 aan de binding meedoen. Dit complex gevormd door antilichaam + C 1 t/m C 4 kan door macrofagen worden opgenomen. Het veroorzaakt ook de toename van de doorlaatbaarheid van bloedvaten, zodat allerlei componenten uit het bloed kunnen toestromen om de indringer die aan het andere einde van het antilichaam gevangen zit, aan te vallen. Dit complex kan ook andere componenten van het complementsysteem, nl. C 5, C 6 en C 7, binden. Hierdoor wordt de doorlaatbaarheid van bloedvaten nog eens extra versterkt en treedt ook *chemotaxis* op, d.w.z. door dit complex worden granulocyten aangetrokken die met de afweer mee gaan doen. Door een binding van C 8 en C 9 kan celdood optreden, omdat door deze binding de lipide laag, die in allerlei membranen (zoals bacteriemembranen) voorkomt, wordt gestoord. De functie van het complementsysteem is dus het richten van allerlei onderdelen van de afweer op bepaalde indringers die door het antilichaam zijn herkend.

De schijnbaar ingewikkelde manier waarop het lichaam het complementsysteem activeert heeft als voordeel dat de activiteit extra wordt versterkt, omdat verscheidene componenten elkaar activeren. Als een bepaald molecuul is geactiveerd, heeft het de mogelijkheid verschillende moleculen van de volgende component te

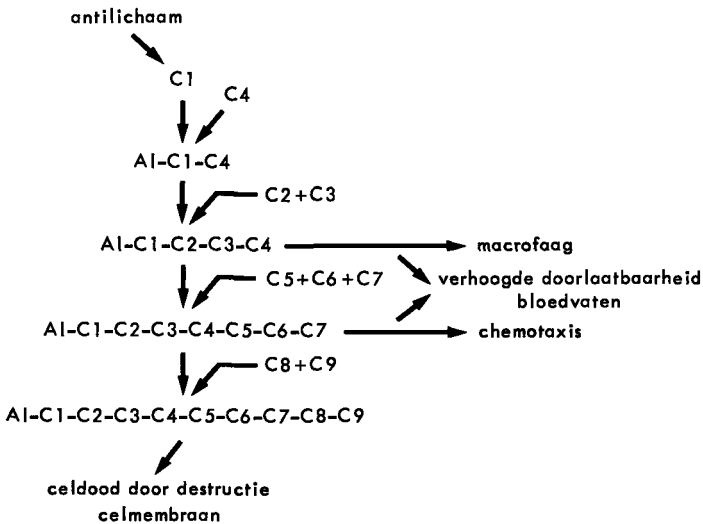


Fig. 7.5. Complementactivatie. *Het complementsysteem is een systeem van negen componenten, dat in gang gezet wordt door de binding tussen antilichaam en antigeen. Gedurende de activatie van de verschillende systemen worden allerlei onderdelen van de afweer ingeschakeld met als uiteindelijk doel de uitschakeling van het antigeen (virus, bacterie, enz.). Zie hoofdstuk 7 voor een gedetailleerde beschrijving van het complementsysteem.*

activeren. Zo kunnen dus door één molecuul C 1 uiteindelijk duizenden van de latere componenten worden geactiveerd. Zo kan men zich voorstellen dat door binding met één C 1-molecuul een complete bacterie wordt geïnactiveerd door de werking van duizenden moleculen C 8 en C 9. En bovendien hebben onderweg allerlei andere componenten van het complementsysteem aanleiding gegeven tot belangrijke biologische activiteiten, zoals verhoging van de doorlaatbaarheid van vaten en activering van macrofagen.

De cellulaire immuniteit. De cel die verantwoordelijk is voor de cellulaire immuniteit is de T-lymfocyt. Deze cellen kunnen reageren met antigenen, omdat zich op de buitenkant van de T-lymfocyten immuunglobulinen van het type D bevinden. T-cellen kunnen direct allerlei indringers inactiveren. Bij de interactie tussen antigeen en T-lymfocyt kan de lymfocyt echter ook een aantal stoffen vrijmaken die de *lymfokinen* worden genoemd. Deze lymfokinen kunnen allerlei effecten teweegbrengen zoals activering van macrofagen en het aantrekken van granulocyten. De schei-

ding tussen cellulaire immuniteit en de humorale immuniteit is vrij kunstmatig omdat beide nogal verweven zijn. Zo zijn T-lymfocyten verantwoordelijk voor een efficiënte produktie van antilichamen. Ze helpen de B-lymfocyten immuunglobulinen te produceren, want als in een organisme om de een of andere reden geen T-lymfocyten aanwezig zijn, dan verloopt de antilichaamproduktie duidelijk minder goed. De T-cellen spelen een belangrijke rol in processen als de *delayed type hypersensitivity*, dat optreedt bij een infectie met de tuberkelbacterie. De overgevoeligheid is hier vertraagd in vergelijking met de allergiereactie die ontstaat door een binding tussen antigeen en antilichaam, omdat de binding tussen antigeen en T-cel veel langzamer verloopt dan de binding tussen antigeen en antilichaam. De T-lymfocyten spelen ook een belangrijke rol bij de afstoting van getransplanteerde organen. Het voorkomen van afstoting kan bewerkstelligd worden door bepaalde T-lymfocyten uit te schakelen.

Een van de basisfenomenen in de immunologie is de *zelftolerantie*. Alleen lichaamsvreemde objecten roepen immuunreacties op. Het eigen organisme heeft er geen last van. Onder bepaalde omstandigheden kunnen er storingen optreden in de zelftolerantie, waardoor het immuunapparaat gaat reageren op lichaamseigen stoffen, de eerdergenoemde *auto-immuniteit*. Voor het optreden van auto-immuniteit zijn diverse oorzaken bekend. Zo kan het lichaam te maken krijgen met eigen antigenen waar het niet eerder mee in contact is geweest. Virussen kunnen bepaalde nieuwe antigenen in cellen veroorzaken. Ook door de kwaadaardige transformatie die optreedt bij de ontwikkeling van kanker kunnen in bepaalde organen nieuwe antigenen op het celoppervlak verschijnen. Door ongevallen kan het lichaam in contact komen met eigen antigenen die nieuw zijn voor het immuunapparaat en waartegen het geen tolerantie heeft opgebouwd. Er is bijv. bekend dat als de oogbol gekneusd raakt, antigenen van de ooglens waarmee het immuunsysteem nog nooit in contact is geweest in het lichaam kunnen komen. Het afweerapparaat reageert dan alsof het met vreemde antigenen te maken heeft. Er zal dan een immuunreactie tegen de ooglens in het beschadigde oog en ook in het andere oog optreden. Een andere oorzaak voor het optreden van auto-immuniteit, is het optreden van veranderingen in bestaande antigenen. Zo is het bekend dat onder bepaalde omstandigheden na binding van het antilichaam aan het antigeen, in het antilichaam structuren worden gevormd die er voorheen niet waren. Het vreemde verschijnsel doet zich dan voor dat het lichaam antilichamen gaat maken tegen zijn eigen antilichamen. De reumafactor, die optreedt bij reumatische artritis, is zo'n veranderd antilichaam dat

door het lichaam als vreemd wordt 'herkend'. Auto-immuniteit kan ook optreden wanneer antilichamen tegen bepaalde antigenen gevormd worden die kruisreageren met eigen antigenen. Zo kunnen antilichamen gevormd tegen bepaalde streptokokkenstammen reageren met antigenen op de hartklep. Een infectie met een streptokok kan op deze wijze hartklepstoornissen veroorzaken. Auto-immuniteit kan ook het gevolg zijn van de afbraak van de bestaande zelftolerantie. Zo zijn er virussen beschreven die zorgen dat het afweerapparaat van de muis zich gaat richten op zijn eigen nieren. Bij de mens wordt verondersteld dat bepaalde erfelijke schildklierafwijkingen het gevolg zijn van het ongedaan maken van de zelftolerantie die bestaat tegen schildklierweefsel.

Soms kan het om medische redenen nodig zijn de immunologische afweer te onderdrukken. *Immuunsuppressie* kan noodzakelijk zijn in die gevallen waarin de immuunafweer tot nadelige effecten leidt, zoals bij auto-immuunziekten en bij afstoting van getransplanteerde organen. Slechts in een minderheid van de gevallen is men in staat precies dat onderdeel van de afweer uit te schakelen dat ongewenst is. Zo kent men bij allergieën de techniek van het desensibiliseren tegen een bepaald antigeen waarvoor de patiënt overgevoelig is. Men tracht dit te bereiken door de patiënt maandenlang met het betreffende antigeen in te spuiten in de hoop dat hij tegen dit antigeen grote hoeveelheden immuunglobulinen van het type G gaat fabriceren. Dit IgG moet dan, als de patiënt met het antigeen in aanraking komt, alle antigenenplaatsen bezetten, zodat het IgE er niet meer bij kan. IgE is namelijk het type antilichaam dat de stoffen vrijmaakt die de verschijnselen van de allergie veroorzaken. Bij transplantaties is een zo gerichte uitschakeling van het afweerapparaat niet mogelijk. Men past hierbij middelen toe die op een breed front de afweer onderdrukken. Dit heeft tot gevolg dat niet alleen het getransplanteerde orgaan niet door het lichaam wordt afgestoten maar het lichaam ook minder goed in staat is om vreemde antigenen te elimineren. De patiënt is dan ook bijzonder vatbaar voor besmetting met bacteriën en virussen. Het ideale middel om afstoting te voorkomen is een middel dat selectief die T-lymfocyten uitschakelt die verantwoordelijk zijn voor de afstoting. De hoop daarbij is gericht op monoclonale antilichamen tegen bepaalde soorten T-lymfocyten.

Als een proefdier, bijv. een muis, een bepaald antigeen wordt ingespoten, zullen daartegen verschillende typen antilichamen worden geproduceerd. Deze kunnen worden onderscheiden in verschillende subtypen, die allemaal een verschillende affiniteit tot het bepaalde antigeen hebben. Het serum van een muis tegen een bepaald antigeen is dan ook heterogeen van samenstelling en zal

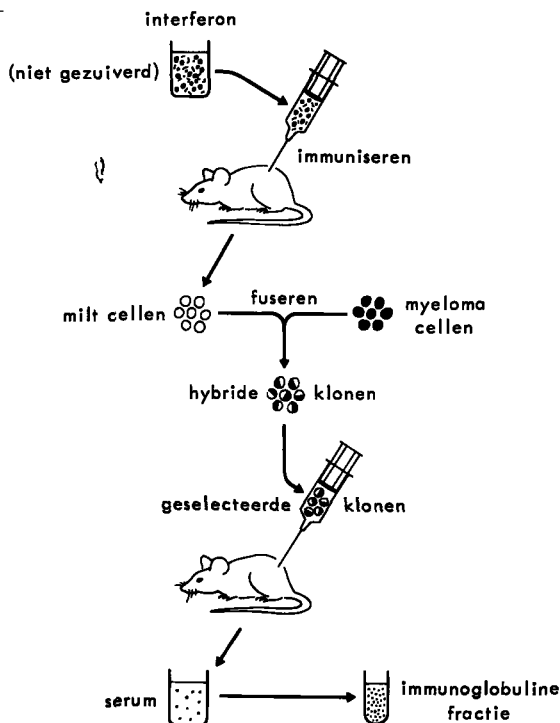


Fig. 7.6. Productie van monoclonale antilichamen tegen menselijk alfa-interferon. Menselijk alfa-interferon was het eerste type interferon waartegen monoclonale antilichamen zijn gemaakt. Hiertoe werden muizen geregeld ingespoten met een gedeeltelijk gezuiverd interferonpreparaat tot de muizen antilichamen produceerden tegen interferon. Hierna werd de milt van de muizen, waarin zich de cellen bevonden die de antilichamen produceerden verwijderd en de miltcellen gefuseerd met tumorcellen van een myeloom. Deze fusie werd uitgevoerd om de miltcellen oneindig te kunnen doorkweken. Daarna werden uit vele hybride cellen en klonen daarvan afgeleid, de cellen geselecteerd, die de gewenste antilichamen tegen interferon produceerden. Deze cellen werden ingespoten in muizen en de monoclonale antilichamen uit het serum van de muizen geïsoleerd. Met deze monoclonale antilichamen bleek het mogelijk met affiniteitschromatografie in één stap en zonder verlies aan activiteit menselijk alfa-interferon te zuiveren.

bijna nooit met alleen dat bepaalde antigeen reageren. Een subtype wordt geproduceerd door een overeenkomstig subtype B-lymfocyt. Men zou dus een zeer zuiver antiserum kunnen verkrijgen, als het mogelijk zou zijn de B-lymfocyt die een bepaald gewenst antilichaam produceert uit een organisme te halen en in een weefselkweek verder te laten groeien. B-lymfocyten in een reageerbuis zijn echter geen lang leven beschoren. Daar is nu een oplossing voor gevonden. Men fuseert de B-lymfocyten met tumorcellen, die zich wel onbeperkt kunnen delen in de hoop dat een samengestelde cel ontstaat die het produktievermogen van het bepaalde antilichaam paart aan de 'levenskracht' van de tumorcel. Deze techniek wordt nu met goed gevolg toegepast om zeer zuivere antilichaampreparaten te fabriceren. Omdat de antilichamen maar uit één enkele cel afkomstig zijn, noemt men deze techniek de *monoclonale antilichaamtechniek*. In de praktijk speelt zich het volgende af. Wil men bijv. monoclonale antilichamen gericht tegen het menselijk alfa-interferon, dan worden muizen ingespoten met menselijk alfa-interferon tot in het serum van de muizen antilichamen verschijnen tegen alfa-interferon. Dan verwijdert men de milt van deze muizen, maakt hiervan een celsuspensie en fuseert de miltcellen met muizetumorcellen. Via een truc kan men ervoor zorgen dat men na zo'n behandeling alleen die cellen overhoudt die zijn ontstaan door fusie van miltcellen, waaronder de B-lymfocyten die antilichamen tegen het alfa-interferon produceren, en de muizetumorcellen. Tussen de duizenden cellen die aldus ontstaan, moet men dan gaan zoeken naar cellen die antilichamen produceren tegen alfa-interferon. In principe kan dan iedere gewenste hoeveelheid zeer zuivere antilichamen gericht tegen menselijk alfa-interferon geproduceerd worden. Deze antilichamen kan men ook gebruiken voor het zuiveren van interferonpreparaten en voor het aantonen van interferon in weefsel of het serum van patiënten.

VIII. Niet-antivirale activiteiten van interferon

Het is lange tijd binnen het interferononderzoek een twistpunt geweest of interferon behalve directe bescherming van cellen tegen virusinfecties nog andere effecten teweegbracht. Een groot deel van de onderzoekers is jarenlang uitgegaan van de opvatting dat interferon uitsluitend in cellen de groei van virussen blokkeerde, ofwel dat interferon een selectieve remmer van de virusgroei was. Een dergelijk gerichte activiteit zou een middel dat vooral werd ontwikkeld om als antiviraal medicijn bij de mens te dienen, natuurlijk zeer waardevol maken. Het middel zou vrij zijn van ongewenste bijwerkingen. Er waren in de loop der jaren weliswaar steeds onderzoekers die andere effecten van interferonpreparaten meldden, maar hun resultaten konden steeds worden genegeerd door erop te wijzen dat de preparaten die zij gebruikten niet zuiver waren. Daar zaten naast interferon nog andere eiwitten in en men kon deze onderzoekers steeds voorhouden dat de andere effecten wellicht 'het gevolg waren van onzuiverheden en niet van interferon'.

Nu zuivere interferonpreparaten afkomstig uit muizen en menselijke cellen wel beschikbaar zijn, blijkt evenwel dat interferon wel degelijk heel wat meer teweegbrengt dan alleen antivirale effecten in cellen. Men spreekt in dit verband van de niet-antivirale effecten van interferon. Een wat ongelukkige term zoals verder in dit hoofdstuk zal blijken. Een aantal van de effecten blijken namelijk wel degelijk te kunnen worden uitgelegd als belangrijk voor de antivirale werking van interferon.

Een van de eerst beschreven niet-antivirale effecten is de remming van de celdeling. Kurt Paucker maakte er al in 1962 melding van. Jarenlang werd het echter beschouwd als een door onzuiverheden veroorzaakt artefact; op het ogenblik staan deze activiteiten van interferon zeer in de belangstelling. Interferon vertoont in proefdieren en misschien in de mens een anti-kankerwerking en de veronderstelling voor een samenhang met de remmende invloed op de deling ligt voor de hand. Sommige onderzoekers menen dat de celdelingsremming van interferon alleen voor tumorcellen geldt, d.w.z. dat tumorcellen gevoeliger zijn voor deze remming dan normaal delend weefsel. Volgens anderen zijn bepaalde tumorcellen alleen maar gevoeliger voor interferon omdat hun groeisnelheid groter is dan die van normale cellen. Zoals er enorme variaties zijn in de relatieve gevoeligheid van virussen voor interferon,

zo kunnen cellen ook enorm verschillen in gevoeligheid voor de celdelingsremming door interferon. Er zijn cellen die zo gevoelig zijn dat 90% geremd wordt als tien units interferon aanwezig zijn, en er zijn cellen die zelfs in de aanwezigheid van 10 000 units interferon nog ongestoord delen. Ook getransformeerde cellen, d.w.z. cellen met kankereigenschappen, tonen een uiteenlopende gevoeligheid voor remming door interferon.

De biochemische achtergrond van de remming is nog onduidelijk. In met interferon behandelde cellen zijn alle macromoleculaire syntheses, d.w.z. de aanmaak van DNA, RNA en eiwit, geremd. Volgens een aantal onderzoekers zou ook de celdelingsremming verlopen via het oligo(A)synthetase, het enzym dat een rol speelt bij de antivirale activiteit van interferon. Met behulp van dit enzym wordt in de cel de stof 2P-5P geproduceerd. Als men deze stof aan met interferon behandelde cellen onttrekt en overbrengt in andere cellen, dan is in deze cellen behalve remming van virusgroei ook celdelingsremming aantoonbaar. Ook in ons laboratorium hebben wij ons met dit probleem beziggehouden. Wij hebben gekeken naar de relatie tussen het antivirale effect en de celdelingsremming in de loop van de tijd na toevoegen en weghalen van interferon in celkweken. Het bleek dat na toevoeging van interferon beide effecten op hetzelfde tijdstip verschenen en ook op hetzelfde tijdstip maximaal ontwikkeld waren. Werd het interferon weggehaald, dan verminderden beide effecten ook parallel. Als de temperatuur waarbij de cellen groeien werd veranderd of cholera-toxine aan de cultuur werd toegevoegd, bleken beide effecten evenveel te worden aangetast. Uit deze resultaten trokken wij de conclusie dat het antivirale effect en de celdelingsremming onderdeel vormden van hetzelfde intracellulaire proces dat door interferon in gang wordt gezet.

De celdelingsremming is niet alleen in het laboratorium aantoonbaar, maar treedt ook op als interferon in proefdieren of in mensen wordt ingespoten. Het remt in vivo niet alleen de groei van tumoren maar ook in andere omstandigheden is groeiremming aantoonbaar.

Een bijna steeds optredende bijwerking van interferontoediening bij de mens is *leukopenie*, d.w.z. de daling van het aantal witte bloedcellen in het bloed. Een van de factoren die bijdraagt tot het ontstaan van deze leukopenie is het feit dat de deling van cellen die verantwoordelijk zijn voor de vorming van bloedcellen wordt geremd. Overigens is het een bekend feit dat ook veel virusinfecties gepaard gaan met leukopenie. Dit zou wel eens het gevolg kunnen zijn van het feit dat het infecterende virus het organisme aanzet tot het produceren van interferon.

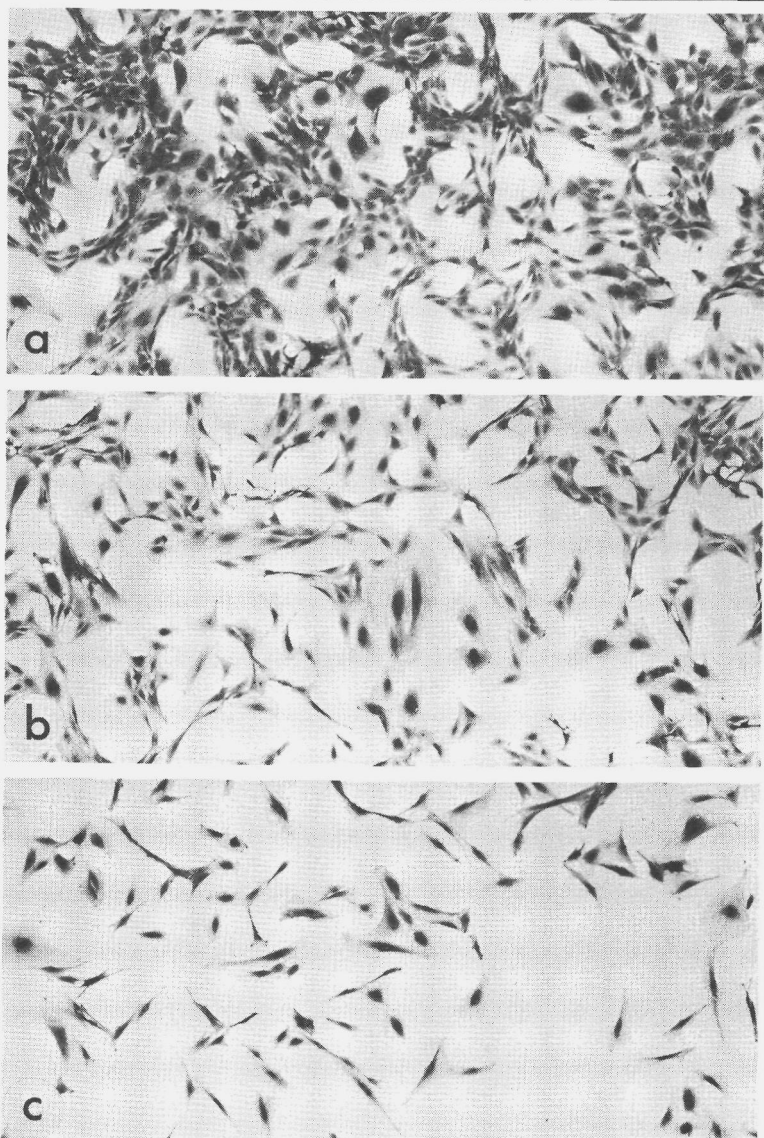


Fig. 8.1. Celgroeiremming. In dit experiment zijn rattecellen gekweekt in vitro in aanwezigheid van verschillende concentraties interferon. Duidelijk is de remming van de celgroei te zien die optreedt als 100 (b) en 1 000 (c) units interferon/ml aanwezig zijn. Daar zijn duidelijk minder cellen te zien dan in de onbehandelde controles (a).

Belangwekkend is de werking van interferon op pasgeboren ratten en muizen. Als men van een nest pasgeboren ratten of muizen de helft elke dag met grote hoeveelheden interferon en de andere helft met een controlepreparaat behandelt, dan blijken de dieren uit de eerste groep sterk in hun groei te worden geremd. Het effect treedt alleen op in de eerste paar weken na de geboorte. De vraag was natuurlijk of menselijk interferon dezelfde invloed zou hebben. In ons instituut hebben we dat onderzocht bij resusapen, die ook gevoelig zijn voor de effecten van menselijk interferon. Pasgeboren resusapen kregen de eerste vier weken na hun geboorte dagelijks grote hoeveelheden interferon toegediend. Bij dit experiment werden resusaapjes gebruikt die door de moeder waren verstoten en door de dierverzorgers met de hand moesten worden gevoed, dit om te voorkomen dat wij het kind iedere dag bij de moeder moesten weghalen. De met interferon behandelde resusapen groeiden prima, waardoor de vraag zich aandiende wat in dit kader het verschil is tussen de resusaap en de muis, c.q. rat. We vermoeden dat de biologische rijpheid er iets mee te maken heeft. Pasgeboren resusapen zijn op het moment van de geboorte biologisch veel rijper dan netgeboren muizen en ratten. Het is waarschijnlijk dat de gevoeligheid van pasgeborenen voor interferon vooral samenhangt met de rijpheid, omdat immers ook ratten en muizen de gevoeligheid voor het effect snel verloren. Blijft natuurlijk de hoogst boeiende vraag waarom een onrijp organisme gevoelig is voor de groeivertragende werking van interferon. Interferon heeft ook invloed op zijn eigen produktie. Daarbij spelen de verschijnselen *priming* en *blocking* een belangrijke rol. Met priming wordt bedoeld dat cellen die voorbehandeld zijn met een te lage concentratie interferon in staat zijn veel meer interferon te produceren dan normale cellen. Dit effect werd al in 1958 door Isaacs, een van de twee ontdekkers van interferon, beschreven. Men dacht aanvankelijk dat het hier ging om een specifiek effect. Immers, cellen die door een virus geïnfecteerd worden, maken weliswaar interferon, maar gaan zelf aan de virusinfectie ten gronde. Men veronderstelde dat de voorbehandeling met interferon deze celdood vertraagde, waardoor de cel langer de kans had om interferon te produceren. Het is echter onwaarschijnlijk dat we te maken hebben met een specifiek effect. Een niet-antiviraal effect van interferon met een eigen biologische functie ligt meer voor de hand. Na priming met interferon is de produktie van interferon niet alleen hoger, maar treedt ook eerder op en dat strookt niet met de veronderstelling dat vertraagde virale replicatie er iets mee te maken heeft. Zoals in de vorige hoofdstukken is beschreven, is in veel gevallen virale replicatie nodig om een cel tot interferon-



Fig. 8.2. Neonatale groeiremming. De groeiremming van interferon is ook aantoonbaar in vivo. Dit zijn twee ratjes uit hetzelfde nest. De linker is de eerste week na geboorte dagelijks ingespoten met ratte-interferon, de rechtse met controlemateriaal. Dit effect treedt ook op bij muizen. Een drietal weken na de geboorte zijn ratten en muizen niet meer gevoelig voor dit effect. Zeer hoge doseringen menselijk interferon hadden geen negatief effect in pasgeboren resusapen in ons instituut. Misschien dat menselijk interferon dit effect niet geeft en zonder gevaar bij pasgeborenen kan worden toegepast.

produktie aan te zetten. Veronderstel nu dat priming het gevolg is van een vertraagde virusreproductie, dan zou de interferonproductie in de 'geprimeerde' cellen niet eerder maar later moeten optreden. Ook als andere inductoren dan virussen gebruikt worden om cellen tot interferonproductie te brengen, blijkt het *priming-effect* op te treden. In cellen waarin interferon niet in staat is om een antiviraal effect teweeg te brengen, treedt het priming-effect eveneens op. Dit alles duidt erop dat priming een reëel, niet-antiviraal effect van interferon is. Men neemt tegenwoordig aan dat het pri-

ming-effect berust op veranderingen die interferon veroorzaakt in de eigenschappen van de celmembraan. Daardoor wordt het contact tussen *inducer* en cel versneld en bevorderd. De biologische betekenis van het priming-effect is duidelijk. Het leidt immers tot extra interferonproductie in door virusinfecties aangetaste weefsels. Van het effect wordt in het laboratorium dankbaar gebruik gemaakt om de opbrengst te vergroten bij de grootschalige productie van interferon voor menselijke toepassingen of voor studie bij proefdieren.

Met het *blocking-effect* wordt bedoeld dat cellen die voorbehandeld zijn met hoge concentraties interferon na inductie minder interferon produceren dan normaal. Aanvankelijk bestonden er twee zienswijzen omtrent de oorzaak van dit effect. De eerste ging uit van de observatie dat in interferon behandelde cellen de virusgroei geremd is. Men veronderstelde dat door deze remming dat gedeelte van de virusreproductie dat nodig is om een cel tot interferonproductie te prikkelen, uitgeschakeld was. Volgens de tweede visie zouden de gebruikte interferonpreparaten verontreinigd zijn met stoffen die de interferonproductie belemmeren. De eerste verklaring begon te wankelen toen vastgesteld werd dat ook interferoninductie door niet-virale inductoren in met hoge concentraties interferon voorbehandelde cellen geremd was. Tegen pleitte ook de ontdekking dat de interferonproductie niet alleen verlaagd was, maar ook vroeger plaatsvond. Deze versnelde productie past alleen in de eerste zienswijze, als men veronderstelt dat in de voorbehandelde cellen een bepaalde stap in de levenscyclus van een virus eerder plaatsvindt dan in onbehandelde cellen. Dat is zeer onwaarschijnlijk. Ook de tweede verklaring is onhoudbaar gebleken. Onlangs is vastgesteld dat ook zuivere interferonpreparaten blocking teweeg kunnen brengen. De meest waarschijnlijke uitleg is nu dat hoge concentraties interferon een zodanige remming van de stofwisseling van de cel teweegbrengen dat ook de productie van interferon wordt geremd. De biologische betekenis van het blocking-effect is waarschijnlijk het voorkomen van al te hoge concentraties in het weefsel, omdat dit op den duur kennelijk schadelijk is.

Tot de meest belangrijke niet-antivirale effecten van interferon behoort ongetwijfeld de beïnvloeding van de specifieke en specifieke afweer. De uitwerking van interferon op macrofagen, cellen die allerlei indringers kunnen opnemen en verteren, is tweërlei. Het kan inactieve macrofagen tot actie brengen of macrofagen met een verminderde functie, tengevolge van bijv. tumor, weer oppeppen. En het kan de activiteit van reeds fagocyterende cellen verhogen.

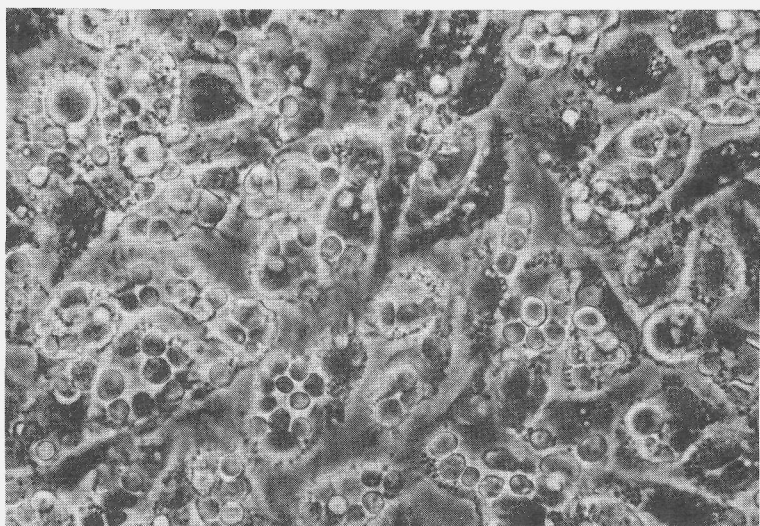
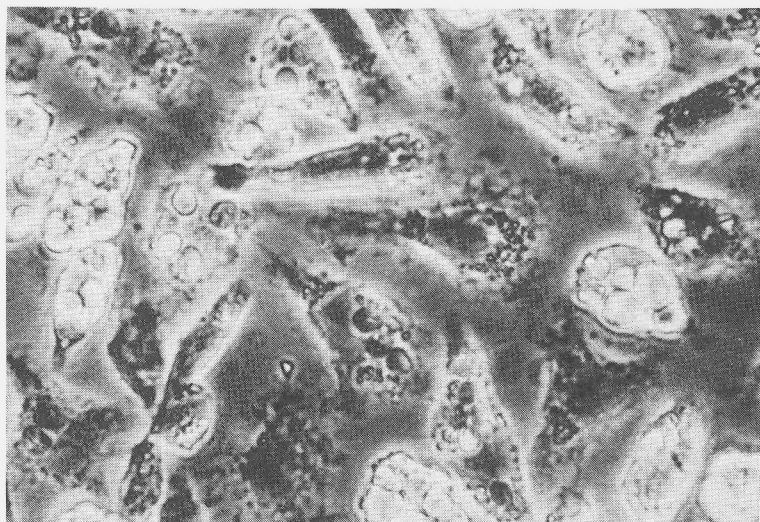


Fig. 8.3. Stimulering van fagocyterende activiteit door interferon. Een voor de antivirale werking van interferon in vivo zeer belangrijke activiteit is de stimulering van de fagocyterende activiteit door interferon. Boven: van de muis gekweekte macrofagen in de aanwezigheid van rode bloedcellen van het schaap. De cellen hebben een aantal rode bloedcellen opgenomen. Beneden: aan het kweekmedium is interferon toegevoegd. Het aantal gefagocyteerde rode bloedcellen is aanzienlijk toegenomen dank zij de aanwezigheid van interferon.

Tabel 8.1. Verschillende activiteiten van interferon.

Remming virusreproductie

Remming van celdeling

Invloed op celmembranen

- verlaging oppervlaktelading
- verhoogde expressie tumorantigenen

Invloed op aspecifieke afweer

- verhoging fagocytactiviteit
- activatie macrofagen
- activatie NK-cellen

Immuunmodulatie

- verlaging delayed type hypersensitivity
- vertraging afstoting transplantaat

Invloed op eigen productie

- priming
- blocking

Verhoging toxiciteit

- poly I-C
- difterietoxinen

Remming van groei andere micro-organismen dan bacteriën

- chlamydia
- rickettsiae
- protozoën

Remming celmetabolisme

- DNA-synthese
- RNA-synthese
- eiwitsynthese

Verhoging productie van celprodukten

- prostaglandinen
- histamine

Bijwerkingen in vivo

- koorts
- leukopenie
- groeiremming

Van getransformeerde toestand naar normale toestand brengen van cellen

Inhibitie celmobiliteit

Inhibitie celdifferentiatie

Versterking auto-immuunproces

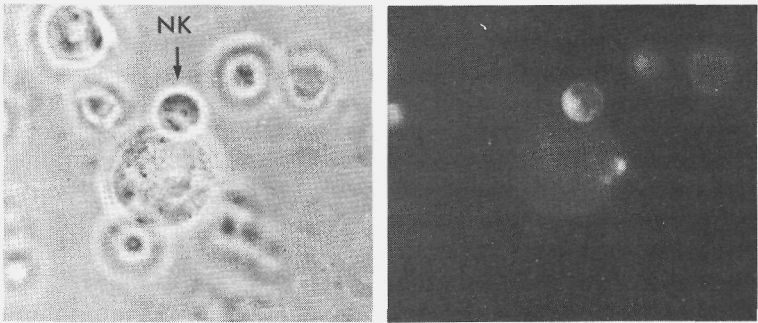


Fig. 8.4. Natural-killer-cell-activiteit. Links een lichtmicroscopische opname van een tumorcel die wordt aangevallen door een natural killer cell (NK-cel). Een NK-cel is een cel die tumorcellen of met virus besmette cellen kan aanvallen zonder eerst, zoals de immuun T-cel, tegen deze cellen te zijn gesensibiliseerd. Deze cellen hebben deze activiteit van nature, vandaar de naam. Interferon speelt een belangrijke, wellicht de belangrijkste, rol als regulator van de NK-cellen. Rechts ziet u dezelfde cellen als links onder UV-licht, maar deze cellen zijn behandeld met antilichamen gericht tegen interferon. De antilichamen zijn gemerkt met een fluorescerende kleurstof die oplicht onder de UV-belichting, daar waar interferon aanwezig is. De hele NK-cel is omringd met interferon en rechts is interferon zichtbaar op de tumorcel.

Interferon is een belangrijke, zo niet de belangrijkste, regulator van de *natural killer cell* (NK-cellen). Deze cellen kunnen kanker-cellen en met virus geïnfecteerde cellen aanvallen en vernietigen zonder dat ze eerst door de tumorantigenen of virusantigenen zijn gesensibiliseerd, zoals bij de immuuncellen het geval is. Deze cellen zijn dus van nature al actief en hebben daaraan hun naam te danken. Interferon nu, activeert NK-cellen, maakt tumorcellen en met virus geïnfecteerde cellen extra gevoelig voor NK-activiteit en voorkomt dat normale cellen door deze cellen worden aangevalen.

De werking van interferon op de specifieke afweer, d.w.z. de productie van antilichamen en van immuuncellen is verre van duidelijk. In het ene geval wordt stimulatie en in het andere geval wordt suppressie gevonden. Meestal spreekt men dan ook heel diplomatiek van *immuunmodulatie*. Bepalend voor het effect op de antilichaamproductie lijkt het tijdstip waarop en in welke hoeveelheid interferon wordt toegediend. Wordt het voor of tegelijk met het antigeen gegeven, dan wordt de antilichaamproductie geremd; wordt het enkele dagen na het antigeen gegeven, dan wordt de antilichaamproductie juist gestimuleerd. Interferon in lage concen-

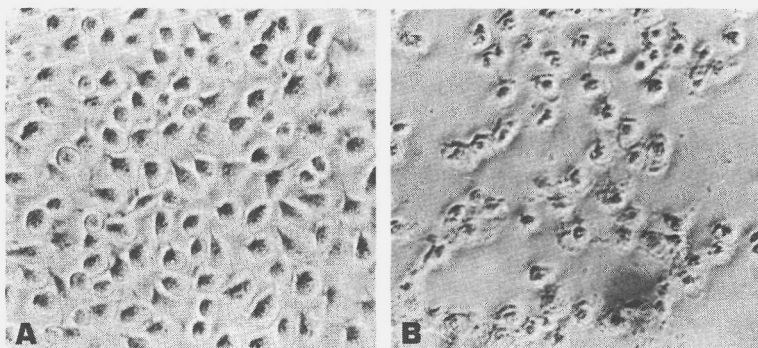


Fig. 8.5. Verhoging van toxiciteit van poly I-C door interferon. *Interferon kan de gevoeligheid van cellen voor toxische stoffen verhogen. Een van die toxische stoffen is poly I-C, een niet-virale interferoninductor, die in hoge concentraties celdood kan veroorzaken. Foto A en B laten een celkweek zien, die behandeld is met dezelfde hoeveelheid poly I-C. De cellen rechts zijn echter voorbehandeld met interferon en daar zijn de meeste cellen kapot. Interferon heeft de gevoeligheid van cellen voor poly I-C verhoogd.*

traties zou de antilichaamproductie stimuleren en bij hoge concentraties zou de antilichaamproductie worden geremd.

Over het effect van interferon op de cellulaire immuniteit is wat meer eenstemmigheid. Er zijn weliswaar studies die suggereren dat interferon de cellulaire immuniteit bevordert, maar de meeste onderzoekers melden toch *immuunsuppressie*, d.w.z. onderdrukking van de immuunafweer. Interferon verlaagt de *delayed type hypersensitivity* (zie blz. 98). Deze kan men bestuderen door muizen eerst te immuniseren tegen bepaalde antigenen bijv. rode bloedcellen van het schaap. Spuit men enige weken later deze schapecellen in in een oor of voetzool, dan ontstaat een zwelling waarvan de afmetingen een maat zijn voor de toestand van de cellulaire immuniteit. De zwelling die ontstaat is voornamelijk het gevolg van de activiteit van de T-lymfocyten. Interferon verhindert het ontstaan van die immuniteit wanneer het wordt ingespoten in de 24 uur die voorafgaan aan de eerste injectie met de schapecellen. De *delayed type hypersensitivity* wordt geremd als men interferon toedient in de 24 uur die voorafgaan aan de tweede injectie.

Interferon vertraagt ook de afstoting van getransplanteerde huid of andere organen. Ook in dit geval spelen immuuncellen een belangrijke rol.

Men kan zich erover verbazen dat interferon de activiteit van immuuncellen remt. Zoiets verwacht je niet van een stof die betrok-

ken is bij de bescherming van het lichaam tegen virussen. Bij een virusinfectie is juist een volledig actief afweerapparaat noodzakelijk. Men moet zich dan ook afvragen of de hiervoor beschreven verschijnselen bij de injecties met schapecellen en getransplanteerde organen niet het gevolg zijn van de nogal afwijkende omstandigheden, waarmee het interferonmechanisme wordt geconfronteerd. Daarom hebben wij in ons laboratorium gekeken naar de invloed van interferon op de ontwikkeling van immuniteit tijdens virusinfecties, wat een meer natuurlijke toestand oplevert om allerlei interferoneffecten vast te stellen. Als we resusapen met interferon behandelen en daarna besmetten met koepokvirus ontstaan niet de normale koepoklesies in de huid, omdat interferon de groei van het virus remt. In normale omstandigheden is de groei van virussen en het ontstaan van de koepokjes nodig om de dieren immuun te maken tegen het koepokvirus. Onze met interferon behandelde apen werden echter immuun tegen het virus zonder het ontstaan van de koepoklesies. Geïnactiveerd koepokvirus dat niet meer kan groeien, is niet in staat in resusapen immuniteit op te wekken. Combineren we dit geïnactiveerd koepokvirus echter met interferon, dan blijkt immuniteit wel op te treden. Dit kan alleen maar worden begrepen als men veronderstelt dat interferon tijdens de koepokinfectie het immuunapparaat stimuleert. We zien dus dat interferon onder meer natuurlijke omstandigheden wel degelijk het immuunapparaat kan stimuleren.

Het zou te ver voeren om alle niet-antivirale effecten van interferon diepgaand te bespreken. Het aantal gemelde effecten is enorm en cellen kunnen op vele manieren worden geprikkeld om interferon te produceren. Twijfel aan de stelling dat interferon in het lichaam alleen de functie vervult van waakhond tegen virusinfecties lijkt derhalve gerechtvaardigd. De betekenis van interferon in ons lichaam is waarschijnlijk veel groter.

IX. Biologie van het interferonsysteem

Onder de biologie van het interferonsysteem verstaat men de beschrijving van al die verschijnselen die samenhangen met de werking van interferon in het levende organisme. Interferon is ontdekt door virologen en jarenlang bestudeerd met het oogmerk het bruikbaar te maken bij de behandeling van virusziekten. Over de rol van interferon als beschermer tegen virussen in het lichaam is dan ook het meest bekend. Gezien het feit dat cellen interferon niet alleen produceren na contact met virussen maar ook na allerlei andere prikkels, en gezien het feit dat interferon een veel bredere werking heeft dan alleen het resistent maken van cellen tegen virusbesmetting, is het niet gewaagd te stellen dat interferon meer is dan alleen een antiviraal eiwit. Zo kan men zich interferon ook heel goed voorstellen als beschermer tegen het ontstaan van tumoren. Tumorcellen kunnen tot interferonproductie aanleiding geven en gezien het effect van interferon op de celgroei en op het afweerapparaat gaat het daarbij blijkbaar om een anti-tumorwerking. Het lijkt erop dat interferon een algemene functie heeft, ons tegen allerlei invloeden van buiten beschermt en voorkomt dat erfelijk materiaal dat vreemd is voor de cel desalniettemin wordt verwerkt.

Virussen zijn de voornaamste ziekteoorzaak bij de mens. Gemiddeld heeft ieder zo'n vier tot zes virusaandoeningen per jaar. Gelukkig gaat het meestal om onschuldige griepjes of verkoudheden. Virussen zijn over het algemeen veel besmettelijker en in wezen veel kwaadaardiger dan bacteriën. Virussen leiden direct tot de dood van de geïnfecteerde gastheercel, terwijl bacteriën deze hoogstens indirect bedreigen, bijv. door de produktie van toxinen. Toch verlopen virusinfecties bijna altijd onschuldig en *self-limiting*, d.w.z. dat ze zonder hulp van buiten overgaan. Het lichaam moet dan ook over een zeer efficiënt afweermechanisme tegen virussen beschikken. De meeste infecties beginnen met het inademen van het virus of door het nuttigen van geïnfecteerd voedsel, waarna het virus in de neus, de keelholte of in het maag-darmkanaal enkele cellen besmet. In die cellen gaat het virus groeien. Na enige tijd komen er uit die paar cellen duizenden virussen te voorschijn die naburige cellen besmetten. Vanuit deze primaire infectieplaats kunnen de nieuw gevormde virussen via de buiten de cellen aanwezige weefselvloeistof in de kleinere lymfekanalen terecht komen en langs die weg de lokale lymfeklieren bereiken. In

Tabel 9.1. Verdedigingsmechanismen van het lichaam tegen virussen.

	<i>tijd nodig om te activeren</i>	<i>duur van effect</i>	<i>uigebreidheid van het effect</i>
<i>Specifieke afweer</i> antilichamen	enkele dagen	jaren	hele lichaam
T-lymfocyten	enkele dagen	jaren	hele lichaam
<i>Aspecifieke afweer</i> lokale ontstekingsverschijnselen (daling pH, lokale hyperthermie)	enkele uren	enkele dagen	lokaal
macrofagen	enkele uren	enkele weken	lokaal
natural-killer-cellen	enkele uren	weken	hele lichaam
interferon	6-8 uur	enkele dagen	lokaal
koorts	paar uren	dagen	hele lichaam

die klieren zullen macrofagen pogingen doen om de virussen op te nemen en te verteren. Het is echter mogelijk dat sommige virussen aan dit lot ontsnappen en zich in het lymfeweefsel vermenigvuldigen. Zijn de lokale lymfeklieren eenmaal gepasseerd, dan kan een virus via de grotere lymfebanen in de bloedstroom terecht komen. Men noemt deze fase *primaire viremie*. In dit stadium is meestal nog niet veel weefsel beschadigd; soms zijn er heel lichte symptomen van ziekte waarneembaar. De hoeveelheid virus tijdens zo'n primaire viremie is slechts gering en is vaak niet eens aantoonbaar. In het bloed zullen de granulocyten de virussen opnemen, waarbij een groot deel van de virussen wordt geïnactiveerd. Sommige overleven echter deze fase en kunnen zich zelfs in de granulocyten vermenigvuldigen, waarna ze via de granulocyten naar het zgn. *reticulo-endotheliale* systeem worden vervoerd, d.w.z. de lever, de milt en het grote lymfesysteem. Slagen de virussen erin zich daar ook te blijven vermenigvuldigen, dan ontstaat de fase van de *secundaire viremie*. In deze secundaire viremie worden van verschillende plaatsen grote aantallen virussen in de bloedstroom uitgestrooid. Meestal ontstaat bij deze tweede viremie hoge koorts en voelt de patiënt zich goed ziek. Tijdens deze tweede viremie kan het virus zijn uiteindelijke doelorgaan bereiken en daar de symptomen opwekken die typisch zijn voor het betreffende virus.

Het lichaam verdedigt zich op allerlei wijzen tegen de overval. Als een virus weefsel infecteert, treedt een ontstekingsreactie op. In het centrum van deze ontstekingsreactie treedt celdood op. Daardoor wordt het weefsel zuur. De meeste virussen groeien niet zo best in een zure omgeving. Er zal ook schade aan bloedvaten optreden, wat op plaatsen van de besmetting kan leiden tot een tekort aan zuurstof. Virussen groeien snel en gebruiken nogal wat zuurstof. Dus ook het zuurstoftekort zal de virusgroei remmen. Door het celverval zullen voorts macrofagen worden aangetrokken en granulocyten uit het bloed. Rond het ontstekingscentrum neemt de doorbloeding toe, waardoor de lokale temperatuur zal stijgen. Virussen groeien alleen optimaal bij een temperatuur van 37°C. Temperatuurstijging zal dan ook de virusgroei hinderen. Al deze mechanismen behoren tot de aspecifieke afweer, d.w.z. dat ze niet tegen een bepaald type virus gericht zijn. Deze afweerprocessen komen binnen enkele uren na het begin van de infectie op gang. Ook interferon maakt deel uit van de aspecifieke afweer, omdat het evenmin gericht is op één bepaald type virus. Het heeft een heel breed spectrum, werkt tegen bijna alle virustypen en wordt binnen enkele uren na besmetting al gevormd en ingeschakeld bij de afweer tegen het virus.

Wel specifiek gericht tegen een bepaald virustype is de immunolo-

Tabel 9.2. Belangrijkste functies van de voornaamste onderdelen van de afweer tegen virussen.

<i>Interferon</i>	Een van de eerste verdedigingssystemen dat wordt geactiveerd. Probeert de infectie gelokaliseerd te houden tot de T-lymfocyten verschijnen om virus definitief op te ruimen.
<i>Antilichamen</i>	Kunnen virus alleen buiten de cel aanpakken. Vallen virus aan, als het zich naar het doelorgaan begeeft, vooral in het bloed.
<i>T-lymfocyten</i>	Vallen de met virus besmette cellen aan als ze vreemde antigenen op het celmembraan herkennen. Kunnen de met virus besmette cellen vernietigen, voordat virus uit de cel naar buiten komt.

gische afweer. De basiseenheden van deze afweer moeten eerst worden gesensibiliseerd. Dat neemt enige dagen in beslag. In die periode worden T-cellen en antilichamen gemaakt die specifiek gericht zijn tegen het virus. Deze antilichamen zijn zelf weer een produkt van de B-lymfocyten. Antilichamen kunnen op verschillende manieren virussen te lijf gaan, waarbij het niet altijd noodzakelijk is dat het complementsysteem wordt geactiveerd (zie blz. 96). Ze kunnen ook op eigen kracht virussen neutraliseren, bijv. door zich aan het virus te hechten en door het virus helemaal te bedekken, waardoor het voor het virus onmogelijk wordt contact te maken met cellen en deze te infecteren. Antilichamen kunnen met virussen complexen vormen waarin meer virussen zijn gevangen. Dit leidt tot een daling van het aantal besmettelijke eenheden. Deze antilichaam-virus-reacties zonder dat het complement wordt geactiveerd, zijn alleen actief als er veel antilichamen aanwezig zijn. De besmetting zal in dat geval dus al lange tijd aan de gang moeten zijn.

Door de binding tussen een antilichaam en een virus kan het complementsysteem worden geactiveerd. Daardoor kan de virusenvelop worden vernietigd. Een aantal virussen zijn uitgerust met zo'n extra laag lipiden om hun eiwitmantel. Wordt deze envelop vernietigd, dan zijn deze virussen niet meer besmettelijk. Maar niet alle virussen bezitten zo'n extra huid. Het complement kan echter ook op andere manieren het effect van antilichamen versterken. Zo kunnen onderdelen van het complementsysteem een binding aangaan met antilichamen die op hun beurt aan het virus zijn gehecht. Het resultaat is extra eiwitten aan het virusoppervlak, hetgeen virussen kan hinderen bij het besmetten van cellen. Onderdelen van het complementsysteem kunnen ook virussen *agglutine*-

ren. Complement maakt het mogelijk dat ook bij lage antilichaamconcentraties virussen kunnen worden geïnactiveerd. Op deze wijze kunnen antilichamen in een vroeger stadium van de infectie een actieve rol spelen. Ook als antilichamen ontbreken kan complement werkzaam zijn. Sommige virussen zorgen voor een directe activering van het complementsysteem. Dit kan tot gevolg hebben dat complementeiwitten zich direct aan het virus hechten en het zo onschadelijk maken. Overigens blijkt de betekenis van antilichamen bij de afweer tegen een virusinfectie maar beperkt. Kinderen met *agammaglobulinaemie*, een afwijking waarbij de produktie van antilichamen gestoord is, zijn niet extra vatbaar voor virussen, terwijl ze wel veelvuldig lijden aan bacteriële infecties. Spuit men antilichamen in als het infectieproces reeds op gang is gekomen, dan heeft dit nauwelijks enige invloed op het verloop van de ziekte. Antilichamen spelen hun voornaamste rol tijdens de *primaire of secundaire viremie* als het virus zich in de bloedbaan bevindt. Deze viremieën treden voor de meeste virussen nogal vroeg tijdens de infectie op. Op het moment van de eerste infectie zullen er nauwelijks of geen antilichamen aanwezig zijn. Slechts bij een tweede infectie met hetzelfde virus kunnen antilichamen van belang zijn. Heeft een virusinfectie een lange *incubationstijd*, met een lange periode tussen de besmetting en de verschijning in het bloed, dan kunnen antilichamen wel een zeer belangrijke bescherming geven. Een voorbeeld is het poliovirus. Er gaat geruime tijd overheen, voordat het virus van het maag-darmkanaal naar het centraal zenuwstelsel wordt getransporteerd.

Onder dergelijke omstandigheden kunnen antilichamen wel ingrijpen en voorkomen dat het poliovirus het zenuwstelsel bereikt. Er zijn ook virussen die nauwelijks buiten de cel komen, zoals de herpesvirussen. Ze verplaatsen zich van de ene cel naar de andere via celbruggen. Deze strategie maakt ze ongrijpbaar voor de antilichamen. Men kan dit soort virusinfecties dan ook doormaken, ook al zijn er antilichamen tegen gevormd.

Een veel belangrijker rol in de afweer tegen virussen lijkt te zijn weggelegd voor de T-lymfocyten. Patiënten met dergelijke cellen die om de een of andere reden niet goed functioneren zijn zeer vatbaar voor virusinfecties. Bij patiënten die een nier- of beenmergtransplantatie hebben ondergaan wordt de produktie van T-lymfocyten onderdrukt om te voorkomen dat het transplantaat wordt afgestoten. Bijna steeds krijgen ze in de eerste maanden na zo'n transplantatie te maken met een of meer virusinfecties met vaak ernstige consequenties. Beenmergtransplantatiepatiënten sterven vaak aan virusinfecties. Bij niertransplantatiepatiënten moet vaak met de toediening van middelen die de afstoting remmen worden

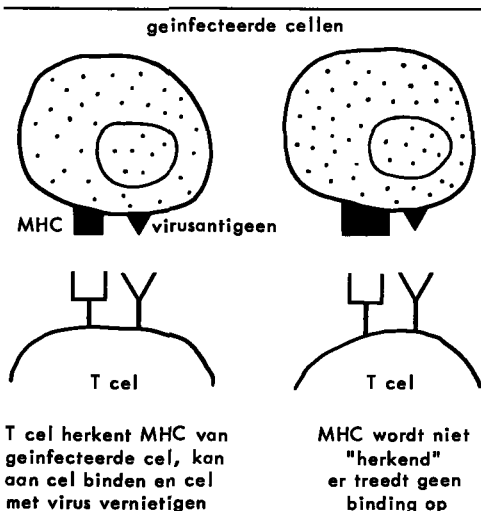


Fig. 9.1. MHC-restrictie. Immuun T-cellen zijn in staat om met een virus besmette cellen aan te vallen en op te ruimen als op de buitenkant van de besmette cellen virusantigenen verschijnen waartegen de T-cellen zijn gesensibiliseerd. In sommige gevallen beperkt de T-cel deze activiteit tot besmette cellen die behalve de virusantigenen ook bepaalde antigenen draagt die overeenkomen met deze antigenen van de T-cel zelf. Deze antigenen zijn transplantatie-antigenen (die ook een rol spelen bij de afstoting van transplantaten) van het zgn. major histocompatibility complex of MHC. Vandaar de naam MHC-restrictie voor dit effect.

gestopt, zodat de patiënt weer T-lymfocyten kan maken die de virussen onschadelijk maken. Dat heeft dan vaak wel tot gevolg dat de getransplanteerde nier wordt afgestoten. Bij cellen die met virussen zijn besmet, verschijnen vaak viruseiwitten op de celmembraan terwijl de virusinfectie in de cel nog aan de gang is. Deze viruseiwitten hebben een antigene werking en worden door de T-cellen als vreemd opgemerkt. In zo'n geval kan de T-cel de cellen vernietigen, voordat het virus naar buiten treedt. Om T-cellen tot actie aan te zetten moeten op de celmembraan dan niet alleen viruseiwitten aanwezig zijn, maar ook eiwitten van het MHC-systeem (*Major Histocompatibility Complex*). Dit complex eiwitten speelt een belangrijke rol bij de onderscheiding van lichaamseigen en vreemde cellen. Opmerkelijk genoeg vallen de T-cellen alleen met virus geïnfekteerde cellen aan die hetzelfde MHC-complex op de celmembraan meevoeren als ze zelf hebben. Dit fenomeen wordt de *MHC-restrictie* genoemd. De betekenis ervan is nog een raadsel.

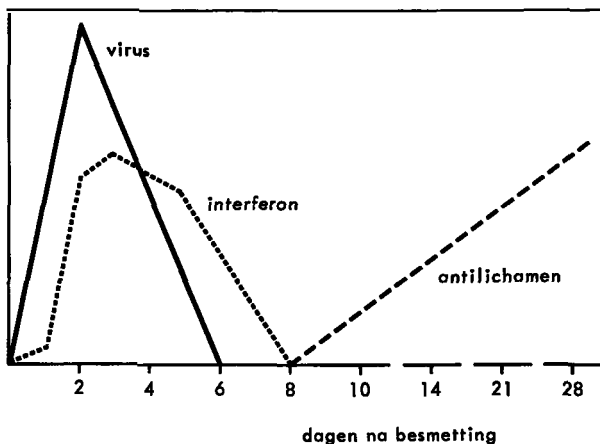


Fig. 9.2. Influenza-infectie bij vrijwilligers. De meeste virusinfecties duren maar enkele dagen en zijn voorbij voordat het immuunapparaat kan zijn geactiveerd. Andere onderdelen van onze afweer moeten dus verantwoordelijk zijn voor het onderdrukken van de infectie. Interferon is waarschijnlijk de voornaamste factor bij deze afweer, zoals bovenstaand experiment laat zien. De afname van de hoeveelheid virus in de neus heeft wel relatie tot de productie van interferon en niet tot de productie van antilichamen.

Het cellulaire gedeelte van het immuunapparaat, de T-cellen, zijn dus belangrijk voor de afweer tegen virussen. De meeste virusinfecties, zoals neusverkoudheden en griepjes, zijn echter vaak al over voordat de afweer door T-cellen of antilichamen op gang is gekomen, omdat hier een aantal dagen overheen gaan. Er moet dus een erg efficiënt mechanisme bestaan dat al heel snel na de infectie in gang wordt gezet en dat in staat is het virus te bestrijden. Alles duidt erop dat het hier het interferonsysteem betreft. Bij een aantal infecties is de afname van de hoeveelheid virus en het verdwijnen van de symptomen duidelijk gerelateerd aan de productie van interferon. Een studie met vrijwilligers die besmet waren met een griepvirus gaf aan dat na twee dagen de virusuitscheiding in de neus afnam en dat deze vermindering duidelijk samenhang met de interferonproductie in de neus. Na zes dagen kon geen enkel virusdeeltje meer worden aangetoond, terwijl de eerste antilichamen tegen het virus pas na zeven of acht dagen verschenen. Een dergelijk verband tussen de productie van het interferon en het genezen van een virusinfectie kan ook worden gelegd bij proeven met muizen. Er zijn muizestammen die niet in staat zijn interferon te maken. Andere bezitten geen B-lymfocyten. De laatste hebben dus

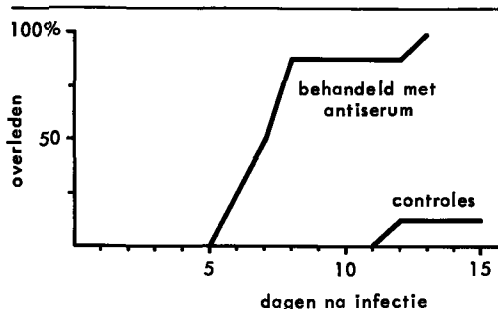


Fig. 9.3. Effect van anti-interferon op herpesinfectie bij muizen. Dat interferon een belangrijke rol speelt bij afweer van ons lichaam tegen virussen kan worden geconcludeerd uit experimenten waarin het interferonsysteem is uitgeschakeld door antiserum gericht tegen interferon. De afgebeelde grafiek toont een experiment waarin muizen zijn besmet met een herpesvirus. Vijftien dagen na de besmetting is 90% van de controledieren nog in leven. De groep muizen die behalve herpesvirus ook antiserum tegen interferon had gekregen, bleek veel gevoeliger voor de besmetting: 100% van de dieren was dood na 15 dagen. Door het uitschakelen van interferon is een vrij onschuldig virus tot 100% dodelijk virus gemaakt.

geen antilichamen tot hun beschikking. Besmet men normale muizen met een griepvirus, dan gebeurt hetzelfde als in de proeven met de vrijwilligers. Na enkele dagen neemt de hoeveelheid virus af. Op dat moment is de interferonproductie maximaal. Na een week is in de muizen geen virus meer te vinden en pas na acht of tien dagen zijn de eerste antilichamen tegen het virus aantoonbaar. Bij muizen met een gebrek aan B-cellen, die geen antilichamen kunnen maken, treedt de daling ook op, maar na een week begint de virushoeveelheid weer te stijgen en gaan de muizen dood. De antilichamen kunnen dus geen rol gespeeld hebben bij de vroege daling van het virus maar zijn kennelijk wel van belang bij het onder de duim houden van het virus na zo'n dag of zeven. In muizen die geen interferon kunnen produceren treedt de titerdaling pas na acht dagen op wanneer er antilichamen tegen het virus verschijnen. Een dergelijk verband tussen de productie van interferon en de ernst van virusinfecties is ook bij kippe-embryo's beschreven. De eerste zeven dagen kunnen kippe-embryo's geen interferon produceren en zijn ze er ook niet gevoelig voor. Daarna wordt dit vermogen operationeel en ontstaat ook de gevoeligheid voor interferon. Tot dat moment zijn de embryo's zeer kwetsbaar voor een groot aantal virussen. De weerstand tegen virussen groeit naarmate het interferonsysteem zich ontwikkelt. Ook hier is dus een duidelijke relatie in de tijd tussen de ontwikkeling van het in-

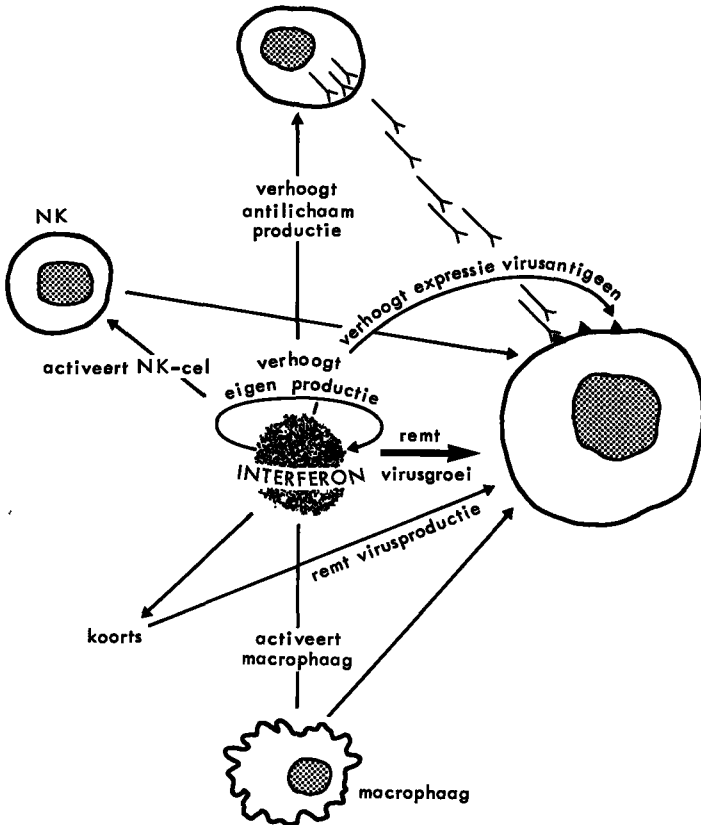


Fig. 9.4. De directe en indirecte antivirale effecten van interferon. Nu zuivere interferonpreparaten beschikbaar zijn, is ondubbelzinnig vastgesteld dat interferon meer doet dan direct op cellen inwerken, zodat in die cellen de groei van virussen geremd is. Het heeft allerlei effecten die bijdragen tot de antivirale activiteit van interferon in vivo. Hier zijn een aantal voor de antivirale werking van interferon belangrijke activiteiten schematisch afgebeeld.

terferonsysteem en de gevoeligheid voor virusinfecties.

Het belang van interferon als afweer tegen virussen blijkt verder uit proeven die gedaan zijn met muizen die met antiserum tegen interferon werden ingespoten. Het antiserum was verkregen door konijnen in te spuiten met muize-interferon. De konijnen produceren dan antilichamen tegen dit muize-interferon. Als men dit konijne-antimuize-interferon inspuut in muizen, kan een onschuldige infectie dodelijk worden.

Het belang van interferon valt tenslotte ook af te leiden uit experimenten waarbij interferon van buitenaf is toegediend om proefdieren te behandelen of te beschermen tegen virusinfecties. We komen daar in latere hoofdstukken uitgebreid op terug.

Interferon speelt zijn belangrijke antivirale rol vroeg in de infectie. Het lijkt als taak te hebben een virusinfectie al vroeg te onderdrukken en te begrenzen totdat het immuunapparaat, in dit geval voornamelijk de T-cellen, het virus definitief kan opruimen. Interferon oefent die taak via verschillende wegen uit. Alle cellen die met het virus in aanraking komen, zullen interferon produceren. Dit interferon maakt naburige cellen resistent tegen het virus. Bovendien treedt door dit interferon het priming-effect op, zodat op het moment dat deze cellen met het virus worden geconfronteerd ze veel meer interferon produceren dan in normale omstandigheden. Interferon activeert vooral lokaal macrofagen en NK-cellen, die van belang zijn bij de vroege afweer, omdat ze al zonder sensibilisatie direct in staat zijn de met virus besmette cellen op te ruimen. Interferon activeert deze cellen niet alleen, maar maakt de met virus besmette cel ook extra kenbaar voor deze 'opruimcellen'; en zorgt tevens dat niet besmette cellen beschermd zijn. Er zijn allerlei aanwijzingen dat interferon niet rustig afwacht tot het immuunapparaat de antivirale werking overneemt, maar dat het ook zelf het immuunapparaat stimuleert. Onder bepaalde omstandigheden wordt door interferon de antilichaamproductie verhoogd en het effect van T-lymfocyten versterkt.

X. Medische virologie

In 1901 werd aangetoond dat de verwekker van gele koorts een filter dat bacteriën tegenhield kon passeren. Dit was de eerste, zij het indirecte, aanwijzing dat een menselijke ziekte door een virus kon worden veroorzaakt. Op dit moment vormen de ziekten die met een virus in verband worden gebracht een indrukwekkende lijst. Behalve dat er veel verschillende virusziekten bestaan, komen ze ook heel frequent voor. In feite vormen virussen de meest voorkomende ziekteoorzaak bij de mens en daarmee de belangrijkste oorzaak van ziekteverzuim.

De medische virologie, d.w.z. de studie van virusziekten, is dan ook een belangrijk onderdeel van de geneeskunde. Het aantal onderzoekers dat zich bezighoudt met de studie van de medische virologie is de laatste jaren aanzienlijk toegenomen. Dit hangt nauw samen met het feit dat er op een enkele uitzondering na, nog nauwelijks gerichte behandelingen in de virologie bestaan. De ontwikkeling van effectieve behandelingsmethoden vraagt veel onderzoek. De medische virologie kent vier belangrijke onderzoeksterreinen. In de *pathogenese* vraagt men zich af hoe een virusinfectie tot ziekte bij de mens leidt. De *diagnostiek* richt zich op de vraag hoe kan worden vastgesteld of iemand aan een virusziekte leidt en zo ja van welk type virus dan sprake is. De derde tak is de *epidemiologie*, die de verspreiding van virussen in de bevolking bestudeert en de vierde poot van de medische virologie behelst de bestrijding en de behandeling van virusziekten.

Een belangrijk begrip in de pathogenese van een virusziekte is het begrip *virulentie*. Men noemt een virus virulent wanneer het in staat is ernstige ziekteverschijnselen teweeg te brengen bij mens of dier. Het begrip virulentie slaat dus op de gevolgen die de infectie heeft voor het hele organisme. Het hoeft geen directe relatie te hebben met de effecten die bepaalde virussen in een weefselkweek kunnen opwekken. Zo heeft het Vesicular-Stomatitisvirus, dat op alle menselijke cellen (in een kweek) een uitgesproken *cytopathogeen* effect heeft en de meeste cellen binnen 24 uur kapotmaakt, wanneer het aan mensen wordt toegediend, geen enkel aantoonbaar effect.

Of een virusinfectie ook tot zichtbare verschijnselen leidt, is afhankelijk van een groot aantal factoren. Eén van de bepalende factoren is het *porte d'entree* van het virus, d.w.z. het orgaan waarlangs het virus het lichaam binnengaat. Een mogelijke toe-

gangsweg voor een virus wordt gevormd door de ademhalingswegen. De hoogliggende ademhalingsorganen, zoals de neus, zijn een geliefkoosde verblijfplaats voor bijv. *rhinovirussen*, die verkoudheid veroorzaken. Gaat het rhinovirus de neus binnen, dan zal het vastlopen in het slijm en vandaaruit de onderliggende trilhaarepitheelcellen besmetten. Als die cellen besmet raken, zal er lokaal een ontstekingsreactie optreden die gepaard gaat met overvloedige vochtvorming. Een verschijnsel dat we allemaal uit eigen ervaring kennen: de natte neus. *Influenza*, of griepvirussen, belanden over het algemeen wat lager in de ademhalingswegen, zoals laag in de luchtpijp en de vertakkingen daarvan. Het virus kan vandaar door de trilhaarcellen met het slijm mee van beneden in de long naar boven worden getransporteerd en over grote delen van de longen verspreid raken. Ook influenzavirussen zullen vanuit het slijm het trilhaarepitheel besmetten en een grote oppervlak van de ademhalingswegen aantasten. De verschijnselen van griep zijn dan ook al wat indrukwekkender dan die van een neusverkoudheid, maar meestal geven ze toch geen aanleiding tot grote problemen. Als er problemen ontstaan, ontstaan die ook niet door het virus zelf, maar door andere micro-organismen, zoals bacteriën, die kunnen toeslaan omdat de virusinfectie de verdediging van de cellen verzwakt. Door bacteriën kunnen zogenaamde *superinfecties* optreden. Het zijn deze superinfecties die bij griep aanleiding kunnen geven tot problemen en in de zeldzame gevallen waarin griep tot de dood leidt, zijn deze infecties vaak de schuldige.

Ook het maag-darmkanaal is een belangrijke toegangsweg voor virusbesmettingen. Het virus heeft dan wel een hele lange weg met veel hindernissen af te leggen om uiteindelijk in de darm terecht te komen. In de maag bevinden zich maagzuur en eiwitsplitsende enzymen waar de meeste virussen niet tegen kunnen. Voorbij de maag voegt zich daar nog de gal bij, ook een vloeistof met uitgesproken antivirale eigenschappen. Eén van de virussen die tegen al deze verschrikkingen bestand is, is het poliovirus, dat de darm kan bereiken en vandaaruit in de lymfeklieren terecht kan komen. In de meeste gevallen van poliobesmetting zal het hierbij blijven. In een aantal gevallen kan het virus in de lymfeklieren van de darm echter verder groeien, de bloedbaan bereiken en via de bloedbaan naar het centrale zenuwstelsel worden vervoerd, waar het de gevreesde verlamningsverschijnselen veroorzaakt.

Ook de ogen en de huid kunnen een belangrijke porte d'entree voor virussen zijn. Zo kunnen kinderen tijdens de geboorte in het geboortekanaal via de ogen met adenovirussen worden besmet. De ogen kunnen ook op latere leeftijd een doelwit van virussen

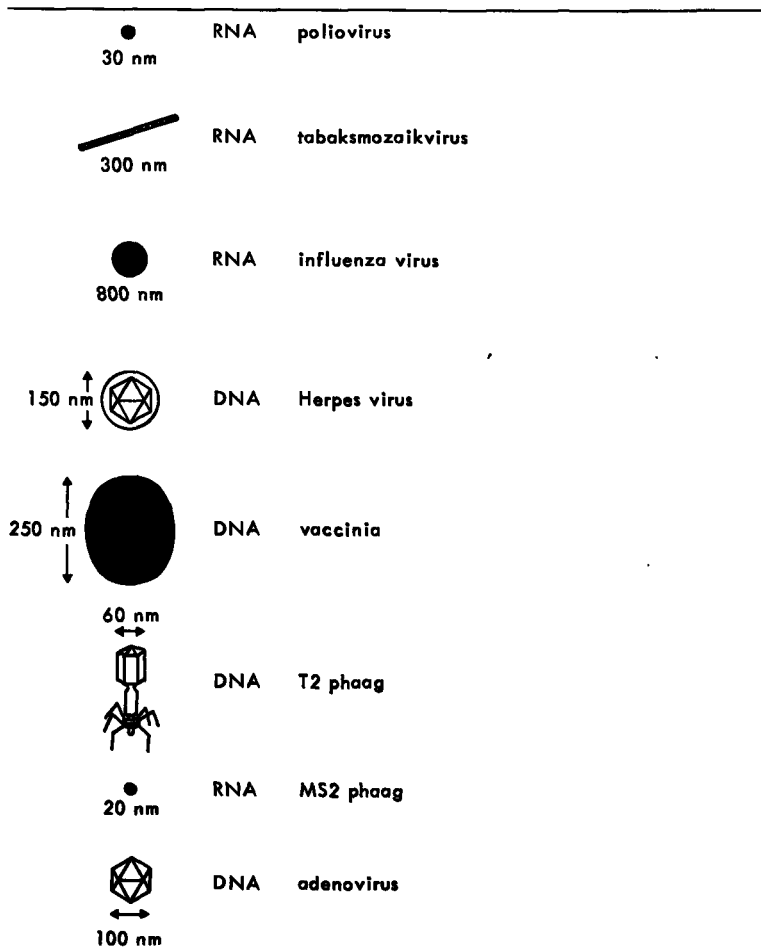


Fig. 10.1. Verscheidenheid in grootte en vorm van virussen.

zijn, niet alleen van adenovirussen maar ook van herpesvirussen. Zo is de hoornvliesontsteking ten gevolge van herpesvirussen de belangrijkste oorzaak van blindheid in de Westerse wereld.

Via de huid kunnen virussen ons alleen maar infecteren als de huid op een of andere manier beschadigd is. Een bekend voorbeeld is de herpesontsteking van de huid, die door worstelaars aan elkaar wordt doorgegeven. De combinatie van veel lijf-aan-lijf-contact en de flinke kans op huidbeschadigingen bij de worstelaars zal hier niet vreemd aan zijn. Bij *rabies* maakt de dol geworden hond door een beet de huid kapot, waarna het besmette speeksel de pa-

tiënt kan infecteren. Bij gele koorts zijn het de besmette insecten die de huid doorboren en het gele-koortsvirus in de bloedbaan brengen. Een voorbeeld waarbij op kunstmatige wijze de huid wordt beschadigd en een virusinfectie wordt overgebracht, betreft de hepatitis-B-infectie, waarbij het virus door besmette naalden en spuiten van de ene patiënt op de andere wordt overgebracht. Een bijzondere infectieweg is de infectie van het kind in de baarmoeder. Het schoolvoorbeeld is *rode hond*. Als de vrouw in een vroeg stadium van haar zwangerschap met rode-hondvirus wordt besmet, kan dit de zich ontwikkelende vrucht bereiken en tot allerlei aangeboren misvormingen en zelfs tot abortus aanleiding geven.

De diagnostische poot van de medische virologie houdt zich bezig met de vraag of een bepaalde ziekte inderdaad door een virus wordt veroorzaakt en om welke virus het dan gaat. De meest directe methode is te proberen het virus te isoleren door het te kweken uit bijv. ontlasting, in geval van polio, of uit excretia van de neus, in het geval van verkoudheid. Dit kan gebeuren in weefselkweken, bevruchte kippe-eieren of in proefdieren. De meest praktische en meest gebruikte methode is de isolatie op weefselkweek. Vaak geeft een virus aanleiding tot typische celveranderingen in zo'n weefselkweek, waardoor het zijn identiteit blootgeeft. In een aantal gevallen kan de precieze identiteit van het virus alleen worden vastgesteld door middel van *elektronenmicroscopie* of van technieken als *immunofluorescentie*. In de laatstgenoemde techniek wordt antiserum gericht tegen een bepaald virus, gebruikt waarbij de antilichamen in het antiserum zijn gemerkt met een fluorescerende kleurstof. Zit een bepaald virus in een weefselkweek, dan zullen de antilichamen zich specifiek aan de virussen binden. Als een dergelijke koppeling heeft plaatsgevonden, kan men dat vaststellen omdat de antilichamen door de fluorescerende kleurstof herkenbaar zijn.

Bij de meeste virusziekten is het onmogelijk het veroorzakend virus te isoleren. Men kan dan toch indirect aantonen dat iemand met een bepaald virus besmet moet zijn geweest door in het serum van de patiënt de aanwezigheid van antilichamen tegen dat bepaalde virus aan te tonen. Men neemt daarbij aan dat een bepaalde virusinfectie heeft plaatsgevonden als de hoeveelheid antilichamen tegen een zeker virus een aantal weken nadat infectie heeft plaatsgevonden een viervoudige stijging te zien geeft ten opzichte van een serum dat kort na het begin van de ziekte is afgenomen als nog geen antilichamen tegen een bepaalde verwekker kunnen zijn geproduceerd. Antilichamen tegen een bepaald virus aantonen is natuurlijk sterk afhankelijk van het soort virus waarmee men te

doen heeft. Men kan bijv. een bepaald virus of onderdelen van een virus hechten aan de buitenkant van rode bloedcellen. Brengt men die rode bloedcellen in contact met het serum waarin zich antilichamen tegen dat bepaalde virus bevinden, dan zal dit serum deze rode bloedcellen doen samenklonteren. Door nu vast te stellen tot welke verdunning een bepaald serum in staat is de rode bloedcellen te agglutineren, kan men meten hoeveel antilichamen in een bepaald serum aanwezig zijn.

Een veel gebruikte methode om antilichamen tegen virussen aan te tonen is de zgn. *complementbindingsreactie*. Bij binding tussen een antilichaam en een virus kan complement worden gebruikt. Voegt men aan een virus of aan onderdelen van een virus een bepaald serum toe waarin zich antilichamen tegen dat virus bevinden, dan kan men de reactie tussen het virus en het antilichaam volgen door het verdwijnen van het complement uit het serum te meten. Door het serum te verdunnen en te bepalen tot welke verdunning het serum in staat is een complementbindende reactie te weeg te brengen, kan men uitvinden hoeveel antilichamen zich in een bepaald antiserum bevinden. Een derde techniek om antilichamen tegen een bepaald virus aan te tonen is de *virusneutralisatietest*. Vaak zijn bepaalde antilichamen in staat de activiteit van virussen te remmen, bijv. het poliovirus en het gele-koortsvirus. Voegt men een bepaalde hoeveelheid actief virus aan het antiserum toe en bevinden zich in dat serum antilichamen tegen die virussen, dan zal men na incubatie niet meer in staat zijn in het mengsel levende virussen aan te treffen. De verdunning waarbij het bepaalde serum nog in staat is om virussen te neutraliseren is weer een maat voor de hoeveelheid antilichamen. Behalve de drie genoemde methoden om antilichamen tegen virussen aan te tonen, bestaan er tientallen andere. Het zou te ver voeren deze hier allemaal te behandelen. Het zijn vaak variaties op de drie genoemde technieken.

Epidemiologie in de medische virologie houdt zich bezig met de studie van de verspreiding van virussen over de bevolking. Deze tak van de virologie kon pas tot bloei komen toen er mogelijkheden kwamen om virussen te isoleren en te identificeren. Deze mogelijkheden hebben relatief lang op zich laten wachten. Zo kon de exacte epidemiologie van gele koorts pas worden vastgesteld, nadat in 1928 ontdekt was dat resusapen gevoelig waren voor dit virus. Voor het griepvirus geldt hetzelfde. De ontdekking in 1933 dat fretten met dit virus konden worden besmet heeft de belangrijkste stoot gegeven tot de studie van de epidemiologie van dit virus, die een nog steviger basis kreeg, toen er in 1941 nog een identificatiemogelijkheid van dit virus bijkwam (men had ontdekt dat

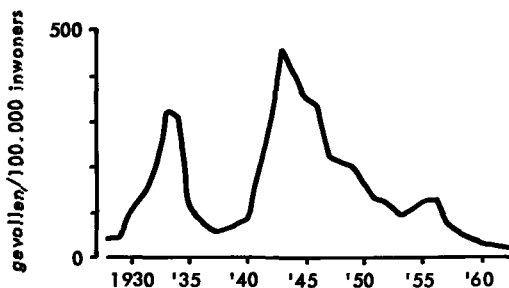


Fig. 10.2. Periodiciteit bij virusinfecties. Sommige virusziekten komen in epidemieën voor met regelmatige intervallen van enkele jaren. Dit is de zgn. periodiciteit van een virusziekte. Nadat bij een bepaalde bevolking alle gevoelige personen met een bepaald virus zijn besmet, duurt het een aantal jaren voor er weer genoeg personen zijn bijgekomen die de ziekte niet hebben gehad, zodat het virus weer kan toeslaan. Hier als voorbeeld het voorkomen van infectieuze geelzucht in Denemarken gedurende een periode van 30 jaar. Het virus dat deze leverontsteking veroorzaakt, wordt via de ontlasting overgebracht. Het teruglopen van het aantal in de tijd is het gevolg van de verbetering van de hygiënische omstandigheden.

griepvirus rode bloedcellen kon agglutineren). Ook de in dit hoofdstuk reeds genoemde serologische methoden waarbij door het aantonen van antilichamen kan worden aangetoond of bepaalde personen een virusinfectie hebben ondergaan, hebben bijgedragen tot de ontwikkeling van de epidemiologie. Belangrijke epidemiologische kenmerken van virusinfecties zijn de periodiciteit en het seizoensgebonden voorkomen van bepaalde virusziekten. We hebben bij de virusziekten typische mazelenjaren, poliojaren of griepjaren. Verder zijn bepaalde seizoenen in een jaar populair bij sommige virussen. Zo spelen de meeste griep epidemieën zich in de late winter of in de vroege lente af. Dit tijdafhankelijke gedrag van een aantal virusziekten hangt in sommige gevallen samen met een typische eigenschap van het virus, zoals het griepvirus, om zich zodanig te veranderen wanneer een bepaalde bevolking immuun is geworden, dat het zich aan die immuniteit onttrekt. Periodiciteit van een bepaalde virusinfectie kan ook veroorzaakt worden door veranderingen in de gevoelige populatie. Heeft het mazelenvirus toegeslagen, dan zal het een bevolking achterlaten die over het algemeen immuun is. Het virus kan dan alleen weer toeslaan als er weer voldoende mensen zijn geboren die nog niet met mazelen zijn besmet en dus gevoelig zijn voor dit virus.

Een belangrijk probleem van de epidemiologie van virusziekten is niet zozeer te achterhalen waar het virus zich bevindt tijdens een

epidemie; dat weten de huisartsen meestal wel, maar juist vast te stellen waar het virus tussen de epidemieën door verblijft. Het is verleidelijk om voor mens en dier analoge beschouwingen op te stellen. Daarbij is echter voorzichtigheid geboden. Zo zal de verspreiding van mond- en klauwzeervirus onder het vee sterk bepaald worden door het feit dat veepopulaties vrij stabiel zijn en gelokaliseerd op een bepaalde plaats. Als er al contact is tussen bepaalde groepen vee, zal dit beperkt zijn. De mens is echter veel mobieler. Zo kan iemand die met een bepaald virus besmet is en andere mensen kan aansteken, op een bepaald uur in Londen zijn en vier uur later met behulp van de Concorde in Washington. Bovendien zal hij tijdens deze reis met tientallen mensen in contact zijn geweest. Dit maakt de epidemiologie van virussen bij mensen er niet gemakkelijker op.

Virussen kunnen langs zeer verschillende wegen worden overgebracht. Voor een aantal virussen is de mens-tot-mensoverdracht de belangrijkste. Een voorbeeld is de ziekte van Pfeiffer, veroorzaakt door het Epstein-Barr-virus, een ziekte die vooral bij jonge volwassenen voorkomt en waarbij mens-tot-menscontact voor de besmetting nodig is. De wel heel aantrekkelijke Amerikaanse naam voor de ziekte van Pfeiffer, *kissing-disease*, spreekt boekdelen. Bij de mens-naar-mensoverdracht hoeft degene die de besmetting doorgeeft op dat moment zelf niet ziek te zijn. De besmetting kan al zijn doorgegeven voordat de ziekte is uitgebroken. Er zijn ook wel virusziekten waarbij een drager het virus lang na zijn ziekte (maanden- of jarenlang) blijft uitscheiden. Een voorbeeld hiervan is het *cytomegalievirus*, dat ex-patiënten nog jarenlang kunnen uitscheiden en al die tijd een besmettingshaard kan blijven. Virussen kunnen ook door insecten van de ene mens op de andere worden overgebracht. Bij ziekten als gele koorts gebeurt het direct. Als een mug iemand steekt die aan gele koorts lijdt, zal de mug het virus in de speekselklieren meenemen en daarmee bij zijn volgende steek een gezonde kunnen infecteren. Een dergelijke besmetting kan ook indirect verlopen. Zo komt er in de Sovjet-Unie een virus voor dat bij mensen hersenvliesontsteking veroorzaakt. Dit virus wordt overgebracht met geitemelk van geiten die door teken die dit virus dragen zijn gestoken. Er komen ook wel virussen voor die in een bepaalde diersoort permanent aanwezig zijn zonder een ziekte te veroorzaken en pas problemen geven voor andere soorten als die ermee worden besmet. Een voorbeeld uit deze categorie is *pseudo-rabies*. Het pseudo-rabiesvirus komt bij varkens voor. De varkens zelf worden over het algemeen niet ziek door deze besmetting, maar kunnen wel koeien met het virus besmetten die dan wel degelijk ziekteverschijnselen vertonen. Een

voorbeeld is ook het herpes-B-virus dat in resusapen voorkomt. Bij deze apen geeft het nauwelijks aanleiding tot symptomen. Bijt een besmette resusaap echter zijn verzorger, en besmet hij hem met het virus, dan zal de verzorger een vrijwel altijd dodelijke hersenontsteking ontwikkelen.

Een bijzondere vorm van overdracht van virussen voltrekt zich via het genetisch materiaal. Tumorvirussen bedienen zich van deze strategie. Als iemand met een tumorvirus wordt besmet, kan het gebeuren dat het erfelijk materiaal van dit virus in zijn eigen DNA wordt opgenomen. Dit DNA kan de cel doorgeven aan zijn 'nakomelingen'. Daarin kan het genetisch materiaal van het virus tot expressie komen en kanker veroorzaken.

Een belangrijk aspect van de medische virologie is uiteraard de bestrijding van virusziekten. De voornaamste successen op dit gebied zijn tot nu toe bereikt met vaccinaties. Bij een vaccinatie laat men een individu weerstand opbouwen tegen een bepaald virus, door hem met een onschuldige variant van een bepaalde virussoort te besmetten of in andere gevallen door hem onderdelen van dat virus toe te dienen.

De eerst toegepaste vaccinatie was gericht tegen pokken en werd door Jenner in het eind van de 18e eeuw geïntroduceerd. Hij besmette mensen in de huid met het koepokvirus. De infectie verloopt in de meeste gevallen onschuldig en heeft het nuttige effect dat men immuniteit opbouwt tegen het wel gevaarlijke mensenvokvirus. Juist dit pokkenvaccin heeft bewezen welke invloed vaccinatieprogramma's kunnen hebben op de volksgezondheid. Door een wereldomvattend vaccinatieprogramma, onder auspiciën van de Wereldgezondheidsorganisatie, is het pas in 1979 gelukt om de aarde pokkenvrij te maken. Andere voorbeelden van virusziekten waarbij wordt gevaccineerd met verzwakte levende virusstammen zijn mazelen en rode hond.

Een alternatief voor het gebruik van levende virussen is het inspuiten van virusonderdelen. Soms hoeft men niet een heel virus te gebruiken om volledige beschermende immuniteit op te bouwen. Voorbeelden van deze vaccins zijn het griepvaccin en het vaccin tegen serumhepatitis.

Het nut van vaccineren tegen virussen is louter preventief. Het kan voorkomen dat iemand besmet raakt met het virus en de symptomen van de infectie ontwikkelt. Als iemand eenmaal met een virus is besmet, staan we bij het verdere verloop vrijwel machteloos. Er zijn op dit moment nauwelijks middelen voorhanden die therapeutisch kunnen worden ingezet bij een virusinfectie. De redenen daarvoor zijn al eerder uiteengezet. We beschikken eigenlijk alleen over middelen die kunnen worden toegepast bij de

bestrijding van herpesvirusinfecties. Voor het wetenschappelijk onderzoek betekent dit een grote uitdaging.

Enige voorbeelden van virusziekten

Om de lezer wat meer inzicht te geven in het verschijnsel virusziekten zullen we op enkele ziekten, te weten pokken, waterpokken – gordelroos, griep en serumhepatitis wat nader ingaan.

Pokken

De ziekte pokken is al eeuwenlang bekend. Omdat het ziektebeeld nogal indrukwekkend is en de ziekte in de loop der eeuwen in grote epidemieën gewoed heeft, weten we over het voorkomen en de verspreiding van pokken in vroegere jaren meer dan van enige andere infectieziekte. Men heeft het spoor van de ziekte kunnen volgen tot de 11e eeuw voor Christus. Op grond van een onderzoek van de mummie van Ramses V weten we dat deze farao aan de pokken moet zijn overleden. In de 6e eeuw na Christus duikt de ziekte op in Arabië, waarschijnlijk vanuit Afrika geïntroduceerd door een leger uit Abessinië. De Saracenen zorgen voor verder transport en via Spanje wordt Europa besmet. In de 16e eeuw woedt in Engeland de eerste epidemie. In die tijd reist het virus aan boord van slavenschepen naar het Amerikaanse continent. In de 17e en 18e eeuw is de ziekte in Europa *endemisch*, wat wil zeggen dat de ziekte voortdurend in de bevolking aanwezig blijft. Pokken waren in die tijd vooral een kinderziekte: 90% van alle slachtoffers was jonger dan tien jaar. Men schat dat $\frac{1}{3}$ van de totale kindersterfte in die tijd werd veroorzaakt door pokken. In de 19e eeuw begint de frequentie van de ziekte af te nemen, waarschijnlijk door de introductie van de vaccinaties van Jenner. In 1872 beleeft Europa zijn laatste epidemie. De ziekte bleef evenwel actief. In 1962 werden er in Europa nog 137 gevallen van pokken gemeld met 27 doden en in 1963 waren dat er resp. 124 en 11. De laatste die in Europa aan pokken overleed, was een medewerkster van de universiteit van Birmingham in Engeland, die in 1978 besmet raakte door een virus dat voor wetenschappelijke doeleinden in het laboratorium werd gehouden. Het is nooit helemaal bekend geworden hoe het virus heeft kunnen ontsnappen. Henry Bedson, viroloog en hoofd van het laboratorium in Birmingham heeft enkele dagen na het ongeval zelfmoord gepleegd. Het pokkenvirus is een DNA-virus en het grootste dat we kennen. Het is het enige virus dat, zij het met enige moeite, met een gewone lichtmicroscop zichtbaar kan worden gemaakt. De ziekte verloopt in

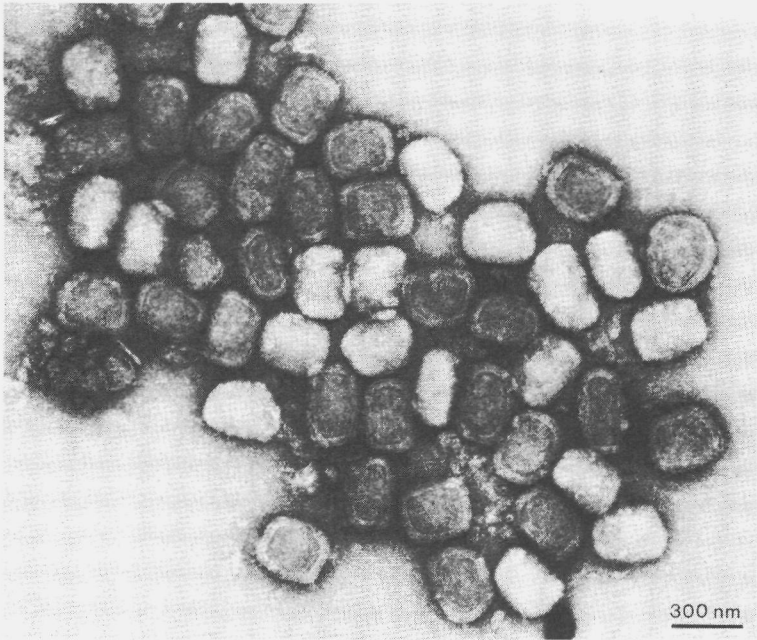


Fig. 10.3. Pokkenvirus. Een elektronenmicroscopische opname van pokkenvirussen. Pokken zijn DNA-virussen en zijn de grootst bekende virussen. Onder bepaalde omstandigheden zijn deze virussen zichtbaar te maken met een lichtmicroscop. Het hier afgebeelde pokkenvirus is een koe-pokvirus, het virus waarmee tegen pokken werd gevaccineerd.

twee fasen. De besmetting vindt plaats via de bovenste luchtwegen. In eerste instantie zijn de lymfeklieren in de buurt van de luchtwegen in staat om het virus in te dammen en blijft de groei van het virus beperkt. In een aantal gevallen slaagt het virus er echter in na zo'n 10 tot 16 dagen door te breken. De patiënt krijgt dan hoge koorts omdat het virus in het bloed verschijnt tijdens de zgn. *viremie*. Via het bloed komt het virus in allerlei organen terecht, zoals lever, longen en de huid. Dan zakt de koorts weer. Vervolgens ontstaan in de huid de bekende pokken, die behalve in de huid ook in de inwendige organen optreden. De pokken in de huid raken op een gegeven moment besmet met bacteriën. Dit veroorzaakt de tweede koortspiek. Na deze tweede fase herstellen de meeste patiënten. Sterftepercentages van de ziekte lopen uiteen, van 5 tot 40%. De dood wordt meestal veroorzaakt door superinfectie met bacteriën, die vooral in de longen plaatsvindt.

Pokken was de eerste besmettelijke ziekte die met immunisatie

werd bestreden. Al in oude Chinese en Arabische geschriften wordt melding gemaakt van de opzettelijke overdracht van pokken naar gezonde personen door hen verpulverde pokkenkorstjes van zieke patiënten te laten inademen. Volgens de verhalen was het lady Mary Wortley Montague, de vrouw van de Britse ambassadeur in Turkije, die in 1721 de zgn. *varioliatie* in Europa introduceerde. Zij moet wel veel vertrouwen in de procedure hebben gehad want de eerste personen die zij aan varioliatie onderwierp waren haar eigen kinderen. Men liet hen overigens niet het pokkénvirus inademen maar bracht pus van pokkenlijders in de huid. Deze varioliatie was zeker niet zonder gevaren. Bij een groot aantal van de slachtoffers bleven de pokken niet beperkt tot de injectieplaats, maar breidden zich over het gehele lichaam uit. Bovendien bracht de pokkenoverdracht vaak ook andere ziekten, zoals lepra en syfilis over. Deze varioliatie was in de 18e eeuw in heel Europa zeer populair. Waarschijnlijk heeft dit gebruik de circulatie van het virus binnen de gemeenschap in die tijd bevorderd en ervoor gezorgd dat de ziekte langer endemisch is gebleven dan anders het geval zou zijn geweest. In het begin van de 19e eeuw werd in de meeste Europese landen varioliatie verboden, omdat inmiddels door Jenner was ontdekt dat veel veiliger kon worden gevaccineerd door gebruik te maken van koepokvirus. In hoofdstuk VII is al uiteengezet hoe virus van patiënt naar patiënt overgebracht kan worden door direct contact of door contact met kleding, stof enz. van een zieke. Menselijk pokkenvirus heeft de mens als enige gastheer, het virus kan zich alleen maar in stand houden door steeds mensen die niet immuun zijn te besmetten. Door deze eigenschap van het virus moest het mogelijk zijn het virus compleet uit te roeien. Men hoefde er dan 'alleen maar' voor te zorgen dat iedereen op de wereld immuun was. Dat is gelukt dank zij een gigantische operatie die onder leiding heeft gestaan van de Wereldgezondheidsorganisatie, die in oktober 1979 vol trots officieel kon verklaren dat pokken op de wereld niet meer bestaan.

Waterpokken – gordelroos

In 1888 werd door Von Bokay opgemerkt dat kinderen waterpokken ontwikkelden na contact met gordelroospatiënten. Sinds die tijd zijn er steeds meer aanwijzingen gevonden dat deze twee verschillende ziekten veroorzaakt worden door een en hetzelfde virus. Het wordt het *Varicella-Zostervirus* genoemd, naar het Latijnse woord *varicella* waterpokken en het Griekse woord *zoster* gordelroos. Het *varicella-zostervirus* behoort tot de familie der herpesvirussen, waartoe o.a. ook de veroorzaker van koortsuitslag en de ziekte van Pfeiffer behoren. De herpesvirussen ho-



Fig. 10.4. Herpes zoster of gordelroos in het aangezicht. Deze infectie wordt veroorzaakt door reactivatie van het virus dat in de kinderjaren waterpokken veroorzaakt en dan niet uit het lichaam verdwijnt maar onderduikt in het centrale zenuwstelsel. Door allerlei oorzaken kan het virus weer actief worden en via een zenuw naar de huid worden getransporteerd. De besmetting blijft meestal beperkt tot het verzorgingsgebied van één zenuw (een dermatoom). Op de foto een herpes-zosterinfectie in het gebied van een linker aangezichtszenuw (de nervus trigeminus). Precies op de helft van het voorhoofd, daar waar het gebied van de rechter aangezichtszenuw begint, houdt de besmetting op.

ren tot de grote DNA-virussen. Het kenmerk van deze virussen is dat ze nogal celgebonden zijn en dat ze nauwelijks buiten de cel komen, maar via celbruggen van de ene cel naar de andere worden overgebracht.

Waterpokken is een kinderziekte die wordt gekenmerkt door koorts en de typische blaasjesvorming op de huid. Het is een van de meest besmettelijke ziekten die we kennen. Kinderen die nooit eerder deze ziekte hebben gehad en in contact komen met het virus, zullen in bijna alle gevallen de ziekte ontwikkelen. De besmetting loopt via de bovenste luchtwegen. Na besmetting groeit het virus eerst in de bovenste luchtwegen en wordt dan na zo'n 14 dagen via het bloed in de viremische fase naar de huid getransporteerd, waar de typische blaasjes ontstaan. Enkele dagen voordat de blaasjes optreden ontstaat ook koorts. Voor de blaasjes verschijnen, ontstaan er eerst rode vlekken op de huid die zich binnen enkele uren ontwikkelen tot druppelvormige blaasjes omgeven door een rode rand. De inhoud van die blaasjes is aanvankelijk helder, later wordt hij troebel door superinfectie met huidbacteriën. Typisch voor waterpokken is dat de blaasjes in groepen met dezelfde stadia ontstaan, voornamelijk op de romp, de nek, bovenarmen en -benen. Verschillende groepen blaasjes verschijnen over perioden van twee tot vijf dagen, met als resultaat dat wanneer men op een bepaald moment de patiënt onderzoekt, er op dezelfde plaatsen op de huid verschillende groepen blaasjes in verschillende stadia van ontwikkeling te zien zijn. De ziekte geneest bijna altijd geheel en al binnen een aantal dagen. In een klein aantal gevallen kan de ziekte zich uitbreiden naar de longen of de hersenen. Wanneer een kind geneest, verdwijnt het virus echter niet uit zijn lichaam, maar duikt onder in het centraal zenuwstelsel. Het kan door allerlei oorzaken ogenschijnlijk spontaan actief worden. Meestal gebeurt dit op oudere leeftijd, waarschijnlijk omdat dan het afweersysteem van het lichaam gebreken gaat vertonen. Het kan ook gebeuren als iemand met afweeronderdrukkende middelen behandeld wordt of door ziekte zijn afweersysteem is onderdrukt. Als het virus weer actief wordt, ontstaat de zogenaamde *gordelroos*. Het virus verplaatst zich dan via een gevoelszenuw naar de huid.

Gordelroos is dan ook bijna altijd beperkt tot het verzorgingsgebied van één zenuw, het stuk huid dat met *dermatoom* wordt aangeduid. Er ontstaan in het dermatoom weer huidblaasjes, die overigens hetzelfde zijn als de blaasjes die optreden bij waterpokken, meestal voorafgegaan door een periode van pijn. Meestal genezen de huidafwijkingen binnen een tot drie weken, ofschoon de pijn in het aangedane gebied enige tijd kan voortduren. De gebie-

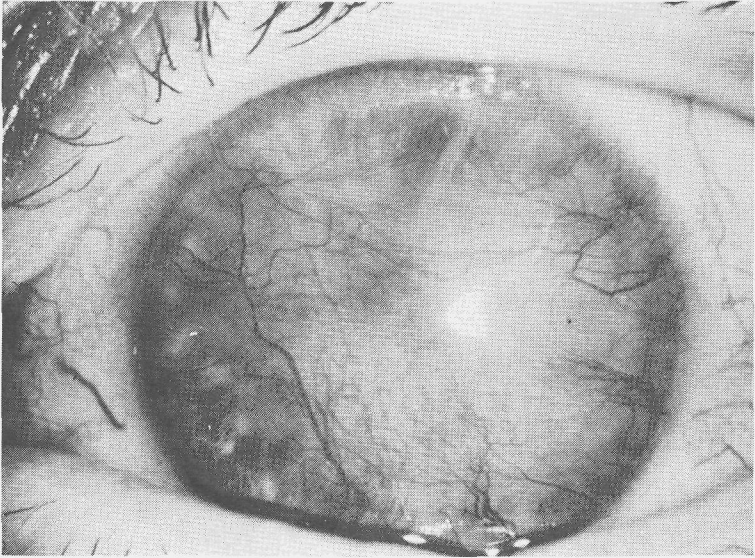


Fig. 10.5. Herpesinfectie van het hoornvlies. Een herpes-simplexvirusbesmetting van het hoornvlies van het oog. Deze besmetting kan sterke troebeling van het hoornvlies veroorzaken, zoals op de foto duidelijk te zien is. Deze besmetting heeft de neiging steeds weer terug te keren, soms dubbelzijdig. Het hoornvlies kan daarbij zo sterk worden aangetast dat blindheid het gevolg is. Herpesinfectie is in de Westerse wereld de voornaamste oorzaak van blindheid, hetgeen de bestrijding belangrijk maakt.

den van de huid die het meest door het herpes-zostervirus worden aangetast, zijn opnieuw de romp, de nek, de bovenarmen en bovenbenen. Plaatsen waar ook bij waterpokken de meeste huidafwijkingen te zien waren. Het is dus verleidelijk om aan te nemen dat als de waterpokken verdwijnen het virus via de gevoelszenuwen als het ware vlucht naar het centrale zenuwstelsel. Bewijzen voor deze veronderstelling zijn er echter niet. De oorzaak van gordelroos is niet zozeer besmetting met een virus – die heeft vaak al tientallen jaren voor het uitbreken plaatsgevonden – maar meer de toestand van de patiënt. Daarom is het te begrijpen dat waterpokken wél en gordelroos géén besmettelijke ziekte is. Het is wel zo dat bevattelijke kinderen die met een gordelroospatiënt in contact komen, waterpokken kunnen ontwikkelen. De eigenschap om onder te duiken, de zogenaamde *latentie*, is typisch voor herpesvirussen. Koortsuitslag met zijn typische korstjes op de lip, is ook het gevolg van een latente herpesvirusinfectie, in dit geval het *herpes-simplexvirus*. Met dit virus raakt iedereen in zijn jeugd besmet



Fig. 10.6. Primaire besmetting met herpes simplex. Een primaire besmetting met herpes simplex in het gelaat van een kind. Herpes simplex is de oorzaak van koortsuitslag. Iedereen raakt in zijn jeugd besmet met dit virus. Deze zgn. primaire infectie geeft zelden symptomen. Dit kind is een grote uitzondering. Na de primaire infectie duikt het virus onder in de zenuw die de lippen als verzorgingsgebied heeft. Onder speciale omstandigheden, zoals koorts, kan het virus reactiveren en een secundaire infectie geven. Het virus bereikt dan via de zenuw de lippen en kan daar de typische blaasjes geven.

zonder dat die besmetting overigens tot zichtbare ziekteverschijnselen leidt. Het virus duikt ergens onder in een zenuw die de lippen als verzorgingsgebied heeft en onder bepaalde omstandigheden, die voor iedereen anders zijn (vaak bij koorts – vandaar de naam), kan het virus weer opvlammen en via de zenuw de lippen bereiken om daar de typische afwijkingen te geven.

Griep

Griep is een typisch ziektebeeld dat iedereen uit eigen ondervinding kent. Bovendien komt het meestal in grote epidemieën voor. Daaraan danken wij, net als bij pokken, interessante historische gegevens. Zo kan men tussen 1510 en 1930 zo'n 30 epidemieën traceren met om de 40 jaar een zgn. *pandemie*, d.w.z. een epidemie die over de hele wereld trekt en geen gebied onberoerd laat. Het griepvirus heeft door de jaren heen veel ziektegevallen maar toch weinig sterfte teweeggebracht en het ziektebeeld is eigenlijk door

de eeuwen heen weinig veranderd. Short schreef over de epidemie van 1557: 'Het begon met pijnlijke kaken, lichte hoest, toen hoge koorts en pijn in hoofd, rug en de benen, pijn in de borst en een zwaar gevoel in de maagstreek. Al deze verschijnselen duurden echter niet langer dan zo'n dag of drie en dan verdween de koorts met hoogstens nog een loopneus en bij een enkeling ontstond pleuritis of een dodelijke longontsteking.' In de 18e eeuw meende men nog dat de ziekte veroorzaakt werd door meteorologische of astrologische invloeden. De naam *influenza* vindt zijn oorsprong in de Italiaanse frase *Une influenza di fredo*, letterlijk vertaald: de invloed van de sterren. In 1892 meende Pfeiffer dat een bacterie de oorzaak was van de ziekte en noemde die bacterie dan ook de *Haemophilus influenzae*. In 1933 lukte het de ziekte over te brengen op fretten en kon worden vastgesteld dat griep werd veroorzaakt door een virus. Later werden methoden ontwikkeld om het virus te isoleren op bebroede kippe-eieren en op celkweken. De influenzavirussen zijn RNA-virussen uit de groep van *orthomyxovirussen*. Het RNA in het virus bestaat uit acht losliggende stukken. De griepepidemieën die met grote regelmaat over de wereld trekken, worden veroorzaakt door verschillende typen griep- of influenzavirus. Deze verschillende typen ontstaan waarschijnlijk, omdat de virussen onderling stukken RNA kunnen uitwisselen en waardoor steeds een nieuwe variëteit van het virus kan ontstaan. Men raakt met dit virus besmet via de luchtwegen. Meestal komt het virus niet verder dan de luchtwegen, maar groeit in de bovenste laag van de cellen die de luchtweg bekleeden, het zgn. *trilhaarepitheel*. Het is een vervelende ziekte waarvan iedereen de verschijnselen wel kent, de ziekte is evenwel vaak snel over. Het gevaar van de ziekte schuilt in het feit dat door de infectie van het trilhaarepitheel het lokale verdedigingsmechanisme van de luchtwegen wordt aangetast, zodat de longen kwetsbaar worden voor superinfectie met bacteriën. Als het een keer misgaat met een grieppatiënt is het dan ook niet het gevolg van het virus, maar van de op het virus volgende bacteriële infectie. Het zijn vooral ouden van dagen, mensen met al bestaande afwijkingen aan de longen, mensen met een verzwakt afweerapparaat en mensen met hartkwalen enz. die gevoelig zijn voor deze complicatie van griep. Dit zijn dan ook de groepen die voortdurend tegen de griep moeten worden gevaccineerd. Reden dat dat voortdurend moet gebeuren, is het feit dat men na contact met het virus niet voor altijd immuun blijft, omdat het virus in staat is zich te veranderen en zich aan de opgebouwde immuniteit kan onttrekken. Elk jaar wordt bekeken welke soorten griepvirussen over de wereld rondwaren en vervolgens wordt voor deze type virussen een vaccin samengesteld

waarmee meestal aan het einde van het jaar de bedreigde groepen worden gevaccineerd. Overigens is griep een van de weinige virusziekten waartegen een middel bestaat dat kan worden toegepast bij mensen die aan de ziekte lijden. Door dit medicijn, *adamantine*, dat in staat is specifieke griepvirussen te remmen, kan men de ziekteperiode aanzienlijk bekorten. Om een of andere reden is het gebruik van dit middel nooit in zwang geraakt.

Serumhepatitis

We kennen drie soorten door virussen veroorzaakte hepatitis of leverontsteking: hepatitis-A, hepatitis-B en hepatitis-non-A-non-B. Hepatitis-A is de infectueuze vorm van hepatitis, die vooral voorkomt bij kinderen. Deze ziekte komt voor in epidemieën en wordt overgebracht via besmette faecaliën. Hepatitis-B is serumhepatitis, hepatitis-non-A-non-B is eigenlijk een verlegenheidsnaam. We rekenen er alle gevallen van virale leverontstekingen onder die niet in de beide andere categorieën kunnen worden ondergebracht.

Serumhepatitis dankt zijn naam aan het feit dat de ziekte door besmet bloed wordt overgebracht. Men krijgt deze ziekte over het algemeen als men geprikt wordt met naalden of behandeld wordt met instrumenten waarop besmet bloed voorkomt. Het is dus meestal een zgn. *iatrogene* ziekte, d.w.z. een ziekte die door medisch handelen wordt overgebracht. De eerste echte epidemie van hepatitis-B of serumhepatitis werd beschreven door Foun, een Zweedse arts in 1926. Hij beschreef een epidemie van hepatitis bij patiënten uit een kliniek voor diabetici en hij veronderstelde terecht dat besmette naalden en spuiten de veroorzakers waren van deze ziekte.

De ziekte werd definitief erkend gedurende de Tweede Wereldoorlog, toen werd geconstateerd dat bepaalde gele-koortsvaccins waaraan menselijk serum was toegevoegd om het vaccin langer goed te houden, hepatitis overbrachten. Men kon de oorzaak van de ziekte herleiden tot bepaalde voorraden sera en men nam aan dat deze sera besmet waren. De verwekker van serumhepatitis, het hepatitis-B-virus, is een klein DNA-virus. Het wordt ook wel *Dane-particle* genoemd, naar de man die het virus voor het eerst heeft beschreven. Het virus kan niet in weefselkweek worden gegroeid en is zeer soortgebonden. Het komt eigenlijk alleen maar bij mensen voor. De enige andere diersoort waarop de ziekte kan worden overgebracht is de chimpansee. Als men met dit virus besmet raakt, gebeurt er meestal niets. Men krijgt wel een infectie, maar heeft verder nergens last van. Men noemt zo'n infectie *subklinisch*. In een aantal gevallen ontstaat er na besmetting een acute

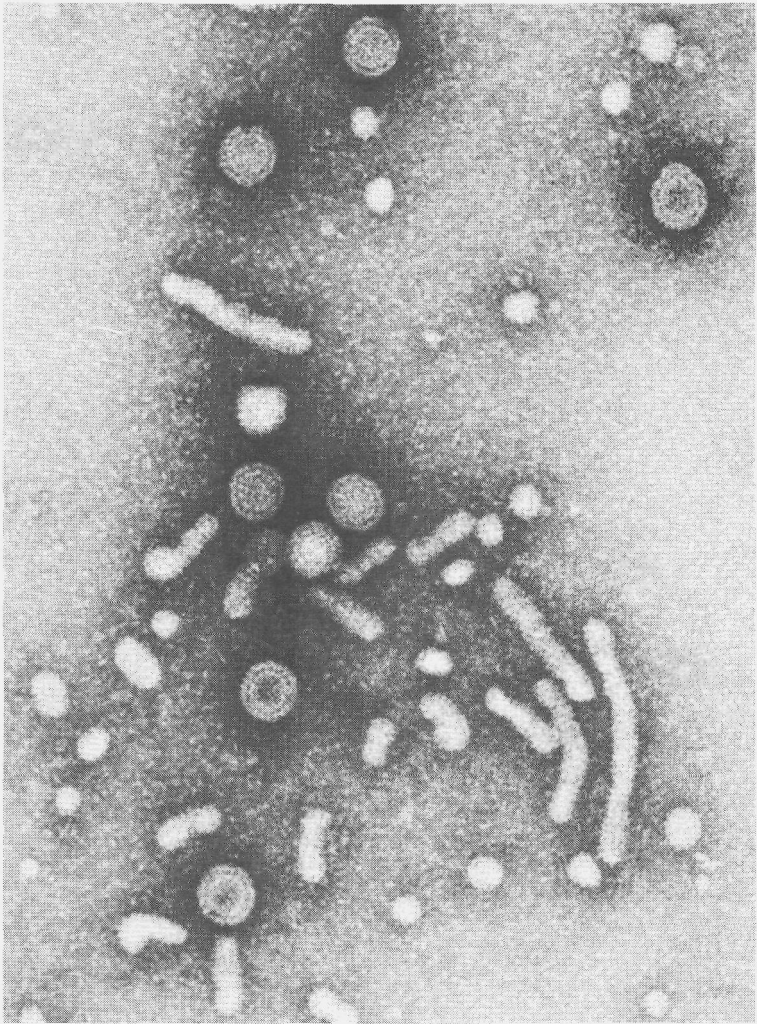


Fig. 10.7. Hepatitis-B-virus en HBV-surface-antigeen in serum van chronische dragers. Elektronenmicroscopische opname van het serum van een patiënt, die chronisch besmet is met hepatitis-B-virus. De ronde structuren zijn het hepatitis-B-virus of 'Dane particle' (Dane is de eerste die het virus beschreef). De andere partikels zijn hepatitis-B-surface-antigeen (of Australië-antigeen, zoals het vroeger genoemd werd). Het is een eiwit dat voorkomt op de buitenkant van het virus. Kennelijk maken de met HBV besmette levercellen dit virusonderdeel in een dergelijke overmaat dat het vrij in het serum voorkomt.

hepatitis, zo'n twee tot zes maanden na contact met het virus. Het begint met koorts, misselijkheid, slecht eten, slecht op alcohol reageren. Stugge rokers zeggen dat het roken hun is gaan tegenstaan. Na een week zakt de koorts en ontstaat geelzucht. De hele huid wordt geel door de verhoogde concentratie *biluribine* in het bloed. Biluribine is een afbraakprodukt van de rode bloedcellen. Het wordt door de lever via de gal uitgescheiden. Raakt de lever tijdelijk in het ongerede, zoals bij serumhepatitis, dan wordt de biluribine niet meer afgevoerd en ontstaat er een grote concentratie in het bloed en wordt men geel. De eerste geelheid is meestal te herkennen in het oogwit. Deze geelzucht houdt meestal enige weken aan, verdwijnt dan langzaam en de patiënt geneest meestal zonder blijvende gevolgen.

Hoe de ziekte zich verspreidt, kon pas echt goed worden bestudeerd nadat in de jaren '60 het *Australië-antigeen* was ontdekt. Dit antigeen is een eiwit dat door Blumberg ontdekt werd in het bloed van een Australische inboorling, vandaar de naam. Uit latere studie is gebleken dat dit Australië-antigeen een oppervlakte-eiwit is van het hepatitis-B-virus. Dit oppervlakte-antigeen komt voor bij lijdens aan deze ziekte. Draagt men antilichamen tegen dit antigeen, dan duidt dit erop dat men in het verleden de ziekte ooit gehad heeft. Hepatitis-B-virus heeft een nogal moeilijke strategie gekozen om van de ene mens naar de andere over te springen. Het virus moet zich dan ook op een bijzondere wijze in stand houden. De grootste besmettingsbron vormt degene die het virus chronisch bij zich draagt. Deze chronische dragers kunnen tekenen hebben van chronische leverontsteking, maar dat hoeft niet. Men raakt in een dergelijke toestand als men met het virus besmet raakt, waarna het afweerapparaat niet in staat is het virus uit het lichaam te verwijderen. Zoals gezegd kan zo'n besmetting ongemerkt verlopen. Chronische dragers worden dan ook vaak bij toeval ontdekt, vaak als ze zich aanmelden als bloeddonor en dan op het voorkomen van dit virus in hun bloed worden gecontroleerd. In bepaalde gebieden van de wereld, zoals Afrika, Zuidoost-Azië en Australië, komt een relatief hoog percentage chronische dragers voor (ca. 10% van de bevolking). In West-Europa bedraagt dit slechts enkele promillen. Het hoge percentage buiten Europa wordt waarschijnlijk in stand gehouden door moeder-kindoverdracht. De besmetting voltrekt zich niet tijdens de zwangerschap, maar in de eerste maanden na de geboorte, waarschijnlijk door het intensieve moeder-kindcontact. Extra risico om het virus op te doen, lopen zij die met bloed omgaan, zoals artsen, medici in bepaalde laboratoria, patiënten die vaak met bloedtransfusies moeten worden behandeld zoals bij leukemie en bloederziekte en patiënten in de

nierdialyse-units. De ziekte komt verder veel voor bij drugverslaafden die zich met heroïne injecteren en meestal niet de daarbij noodzakelijke hygiënische maatregelen in acht nemen. Om de een of andere niet verklaarbare reden komt hepatitis-B ook vaak voor bij homofielen. Men kan de ziekte bestrijden door een aantal preventieve maatregelen te nemen, zoals het screenen van bloeddonors op chronisch dragerschap, het voorzichtig omgaan met bloed en het niet te veel tegelijk maken van bepaalde bloedprodukten, omdat dan de kans dat zo'n bloedprodukt besmet is natuurlijk relatief groot is.

Tegenwoordig bestaat er een vaccin tegen hepatitis-B-virusinfecties. Dit vaccin moet op dit moment nog worden bereid uit bloed van chronische dragers van het virus. Daarvoor verzamelt men bloed van een groot aantal dragers, isoleert het virus daaruit en inactieveert het. Het vaccin is actief gebleken in risicogroepen en is in staat om de moeder-kindoverdracht te onderbreken als men een pasgeborene onmiddellijk na de geboorte vaccineert. Het nadeel van een vaccin bereid uit menselijk bloed is dat iedere voorraad vaccin die wordt aangemaakt voor gebruik, moet worden gecontroleerd op infectiviteit, om te zien of er geen levend virus meer in het preparaat zit, en op effectiviteit, om te zien of het inderdaad de noodzakelijke immuniteit opwekt. Deze beide tests dienen in chimpansees te gebeuren. Dit is niet alleen vrij kostbaar maar gezien het afnemende aantal chimpansees op de wereld in de toekomst praktisch onmogelijk. Om deze redenen en ook omdat de bereiding van vaccin uit virusdragers een kostbare geschiedenis is, probeert men micro-organismen via genetische manipulatie zover te krijgen dat ze het vaccin gaan produceren. Diverse onderzoeksteams zijn erin geslaagd stukken DNA van het virus dat de informatie bevat voor het oppervlakte-antigeen in bacteriën in te bouwen, die dan inderdaad in staat blijken dit antigeen dan te produceren. Op dit moment zijn de experimenten om na te gaan of dit antigeen in staat is om de nodige immuniteit op te wekken, nog aan de gang.

XI. De grootschalige produktie van interferon

De interferononderzoeker wordt met enige regelmaat geconfronteerd met de vraag waarom interferon nog niet als geneesmiddel beschikbaar is. Het standaardantwoord is dan dat interferon nog niet in voldoende mate kan worden geproduceerd. De volgende vraag is dan vaak wat daarvan de reden is, met als min of meer automatisch antwoord het kostbare produktieproces. Het antwoord moet echter luiden dat er tot op de dag van vandaag aan getwijfeld wordt of interferon toepassing zal vinden in de geneeskunde. Dan immers ontstaat de medische noodzaak om het te gaan produceren en wordt het ook financieel aantrekkelijk dit te doen. Interferon werd in 1957 ontdekt. Een dergelijke periode verstreek voor het door Fleming in 1922 ontdekte penicilline na de Tweede Wereldoorlog op grote schaal toepassing vond. De techniek om interferon voor klinische toepassing te produceren was ten tijde van de ontdekking eigenlijk al beschikbaar. Om diverse redenen werd er weinig aandacht aan besteed. Zo waren er teleurstellende resultaten bij de eerste testen bij de mens, met voornamelijk interferon gemaakt in apecellen. Ook de ontdekking van de eerste niet-virale inductoren van interferon in de jaren '60 en vooral die van poly I-C in 1967 leidden ertoe dat de noodzaak om interferon in het laboratorium te produceren niet werd gezien. Ook de indirecte toepassing van interferon, door bij patiënten de produktie te induceren, wordt nog niet gebruikt. Het grootste probleem bij het gebruik van inductoren, zoals in hoofdstuk V is beschreven, is dat van de refractoire toestand, die optreedt na gebruik ervan. Bij een herhaalde toepassing van inductoren wordt steeds minder en op het laatst helemaal geen interferon meer geproduceerd.

De meest geneeskrachtige inductor die we kennen, poly I-C, wordt in menselijk serum geïnactiveerd en induceert nauwelijks interferon bij de mens. Op dit moment wordt poly I-C, gebonden aan polylysine en carboxymethylcellulose, in mensen getest. Dit gebonden poly I-C is niet gevoelig voor afbraak door menselijk serum. Door het ontbreken van in de mens bruikbare inductoren was men wel gedwongen interferon buiten het lichaam te maken. Interferon is soortspecifiek, d.w.z. dat interferon voor menselijke toepassing alleen uit menselijke cellen of, zoals het verhaal later zal leren, op zijn minst uit menselijk genetisch materiaal geproduceerd kan worden. Zoals al eerder beschreven gebruikt men voor menselijke celkweken in het laboratorium meestal getransfor-

meerde cellen die de mogelijkheid hebben zich oneindig te delen en derhalve in grote hoeveelheden kunnen worden gekweekt. Dergelijke cellen zijn óf afkomstig van kankergezwellen óf hebben een heleboel eigenschappen gemeen met kankercellen. Het is duidelijk dat dergelijke 'kwaadaardige' cellen niet de eerste keus zijn als men geneesmiddelen wil gaan maken.

Een interessante bron voor menselijk interferon is het bloed. Al in 1961 merkte Ion Gresser op dat witte bloedcellen goede producenten van interferon zijn. Gresser suggereerde dat in het menselijk lichaam tijdens virale infectie de *leukocyten* de voornaamste producenten van interferon zijn. Later onderzoek heeft deze hypothese van Gresser bevestigd.

Geïnspireerd door het werk van Gresser besloot de Fin Kari Cantell in maart 1963 te proberen interferon voor toepassing bij mensen te produceren uit menselijke leukocyten verkregen uit bloedtransfusies. Het kostte hem tien jaar. Een groot gedeelte van die tijd werkte hij samen met de Zweed Hans Strander, die in het be-



Fig. 11.1. Kari Cantell. Dit is de Fin Kari Cantell, gefotografeerd tijdens het interferoncongres in Rotterdam in 1981. Hij ontwikkelde de methode om menselijk alfa-interferon te produceren uit witte bloedcellen verkregen uit bloedtransfusies. Tot de ontwikkeling van de recombinant-DNA technieken was hij de grootste producent van menselijk interferon. Met zijn overigens belangeloos ter beschikking gestelde interferon zijn de eerste proeven bij de mens gedaan die tot een hernieuwde belangstelling voor interferon hebben geleid. Zonder Cantell zou het interferononderzoek een aantal jaren geleden een zachte dood gestorven zijn.

gin van de jaren '70 de eerste patiënten met Cantells interferon behandelde. De meeste patiënten waar ook ter wereld zijn tot nu toe met Fins interferon behandeld. Tot op dit moment is Cantell de grootste producent van interferon, dat hij nog steeds belangeloos ter beschikking stelt ten behoeve van wetenschappelijk onderzoek. Het bloed wordt tijdens de transfusie opgevangen in plasticzak-



Fig. 11.2. Laboratorium Kari Cantell. Om een idee te geven van hoeveelheden, hier een foto van het laboratorium van Kari Cantell waarin de grote ronde flessen gevuld worden met de witte cellen uit honderden liters bloed en waarin ook de uiteindelijke inductie van het alfa-interferon plaatsvindt.

ken. Deze worden zodanig gecentrifugeerd dat bovenin de zak een laag ontstaat die rijk is aan witte cellen. Men noemt deze laag de *buffy coat*. De buffy coats van vele bloedzakken worden samengevoegd, waarna de rode bloedcellen die de buffy coat verontreinigen, worden verwijderd met ammoniumchloride. De witte cellen worden vervolgens opgenomen in weefselkweekmedium en in grote flessen gedaan. Aan dit geheel wordt Sendaivirus toegevoegd, dat wordt gekweekt in bevruchte kippe-eieren. Ca. 24 uur nadat het virus met de witte bloedcellen is samengevoegd, worden de cellen uit het weefselkweekmedium verwijderd door centrifugeren. Men houdt dan het zgn. ruwe interferon over. De opbrengst per buffy coat is ongeveer een miljoen units. Het ruwe interferon wordt gedeeltelijk gezuiverd door het neer te slaan met kaliumthiocyanaat en het neerslag te extraheren met zure alcohol. Als men vervolgens de zure alcohol neutraliseert, slaat het interferon neer. Deze procedure levert het standaard leukocyten- of alfa-interferon op met een zuiverheid van ongeveer een miljoen units per milligram eiwit. Dit preparaat is echter nog maar 1% zuiver en bevat 99% verontreinigende eiwitten.

De beperkende factor bij de productie van het menselijk alfa-interferon is de beschikbaarheid van donorbloed. In 1978 werden er in Helsinki ongeveer 90000 buffy coats verwerkt. Deze leverden 5000 liters ruwe interferon op; overeenkomend met ca 250 mil-

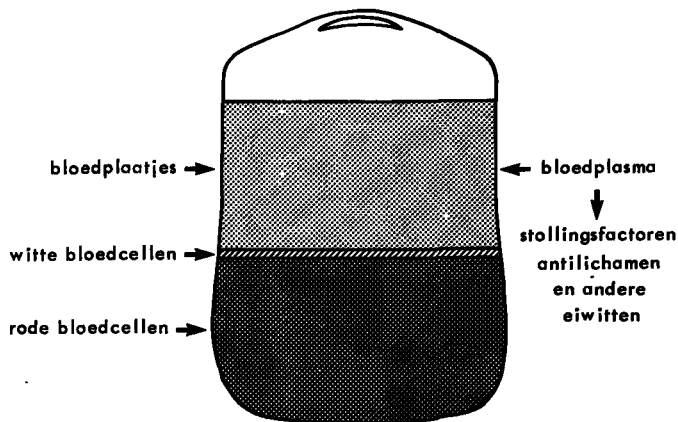


Fig. 11.3. Buffy Coat. Als onstolbaar gemaakt bloed op een bepaalde snelheid wordt gecentrifugeerd, dan komen de rode cellen onderin de transfusiezak terecht en ontstaat een bovenlaag, rijk aan witte cellen. Dit is de buffy coat die voor de productie van menselijk alfa-interferon kan worden gebruikt.

jard internationale units interferon. Per Fin werden er in 1978 100000 units geproduceerd, oftewel genoeg intereferon om 10000 gevallen van hoornvliesontsteking veroorzaakt door het herpesvirus te behandelen, of net genoeg om 200 patiënten met kanker te behandelen. De beperkte beschikbaarheid van donorbloed en vooral het feit dat het in de Westerse landen niet geoorloofd is te handelen in bloedprodukten, maken deze methode niet erg aantrekkelijk voor de farmaceutische industrie. Daarom heeft de firma Wellcome een methode opgezet om alfa-interferon te produceren uit *lymfoblasten*. Dat zijn continue cellijnen afkomstig uit B-lymfocyten die in suspensie kunnen worden gekweekt, in elke gewenste hoeveelheid. De lymfoblastenlijn die de firma Wellcome gebruikt blijken een redelijke hoeveelheid alfa-interferon te produceren als ze worden besmet met Sendavirus. Een mogelijk nadeel is dat deze cellen zijn besmet met en hun ongelimiteerde groei danken aan het Epstein-Barrvirus. Dit virus wordt in verband gebracht met het ontstaan van bepaalde tumoren bij de mens. De firma Wellcome heeft echter door het ontwikkelen van zeer rigoureuze zuiveringsmethoden en het voeren van zeer strenge controlemaatregelen kunnen bereiken dat het preparaat in Engeland zonder meer bij de mens kan worden toegepast.

Bij de grootschalige produktie van beta-interferon, die door een aantal farmaceutische industrieën wordt verricht, wordt gebruik gemaakt van *diploïde fibroblasten*, ofwel bindweefselcellen. Deze fibroblasten verkrijgt men uit menselijke embryo's die bij een abortus beschikbaar komen, of uit voorhuidjes van besneden jongetjes. Deze cellen kunnen alleen worden aangekweekt als ze op een vaste ondergrond worden gegroeid. Ze kunnen niet in suspensie worden gekweekt. Zoals alle diploïde cellen kunnen ze niet ongelimiteerd worden doorgekweekt. Ze halen meestal niet meer dan 60 delingen. In de praktijk stagneert de produktiviteit van deze cellen echter al veel eerder. Over het algemeen kunnen ze maar tot 30 delingen gebruikt worden. Het belangrijkste probleem bij het kweken van deze cellen die op een ondergrond moeten groeien, is het realiseren van voldoende oppervlakte om de cellen op te laten groeien. Er zijn allerlei trucjes verzonnen om de oppervlakte tijdens het groeien van de cellen zo groot mogelijk te maken. Zo gebruikt men, in plaats van de gewone platte kweekflessen, *rollerflessen*, die langzaam worden rondgedraaid, zodat de cellen aan de gehele binnenkant van de fles kunnen groeien. Er is ook een systeem ontwikkeld waarbij in de weefselkweekflessen spiralen of plasticvezels worden ingebracht om een zo groot mogelijk celoppervlak te krijgen. Een nieuwe ontwikkeling op dit gebied is de *microcarrier*, een kweekmethode die ontwikkeld is door de Neder-

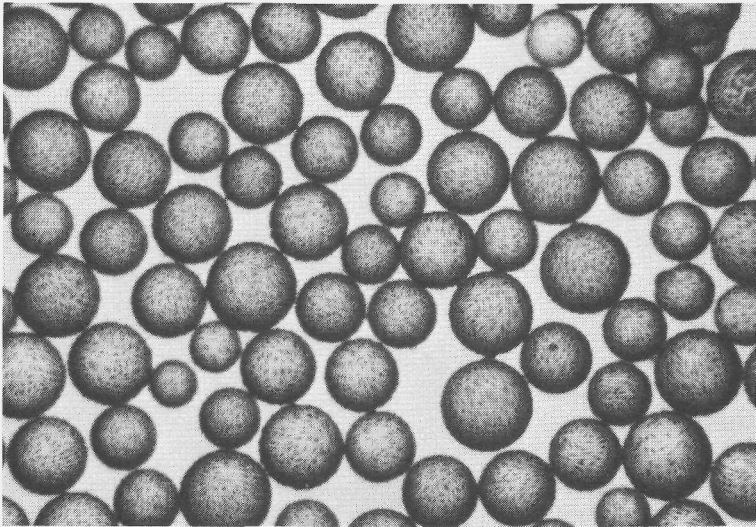


Fig. 11.4. Microcarrier. Een methode om een groot oppervlak te krijgen van cellen die moeten vastzitten op een onderlaag om interferon te kunnen produceren, zoals bij de produktie van menselijk beta-interferon, is het gebruik van microcarriers zoals hier afgebeeld. Microcarriers zijn microscopisch kleine bolletjes die al roerend in suspensie worden gehouden. Hier zijn Biosilon-bolletjes te zien met muizecellen. Biosilon is een in de handel verkrijgbare microcarrier.

lander Van Wezel en waarbij de cellen groeien op *dextrankorrels*, die in suspensie kunnen worden gehouden. Met deze methode kan nu in een liter weefselkweekvloeistof een enorme oppervlakte aan cellen worden gegroeid. Het voordeel van fibroblasten voor de produktie van interferon is het feit dat ze tot interferonproduktie kunnen worden gebracht met behulp van poly I-C, een synthetisch dubbelstrengs-RNA. Dit is veiliger dan met virussen werken, omdat men precies weet waarmee men de cellen induceert. Bovendien kan in de fibroblasten de methode van de *superinductie* worden toegepast, d.w.z. dat door een combinatie van remmers van het celmetabolisme, de cellen tot een hogere produktie van interferon kunnen worden gebracht. In principe verloopt de produktie van beta-interferon uit fibroblasten als volgt. De cellen worden gekweekt in een of ander systeem met een groot oppervlak. De cellen worden eerst gedurende 16 uur behandeld met een lage concentratie interferon om een priming-effect te bereiken.

Vervolgens worden de cellen blootgesteld aan poly I-C, waaraan de eerste vier uur cycloheximide wordt toegevoegd. Cycloheximi-



Fig. 11.5. Rollermachine. Ook voor de produktie van ratte-interferon in ons laboratorium bij TNO moeten de cellen aan een onderlaag vastzitten om interferon te kunnen maken. Om grote oppervlakken te kunnen kweken maken wij gebruik van rollerflessen van de firma Falcon. Flessen die langzaam ronddraaien, zodat de cellen aan de hele binnenkant van de fles kunnen groeien. Een rollerfles geeft dan de oppervlakte van 10 standaard platte flessen. In deze machine kunnen we 100 rollerflessen tegelijk kweken met een totale oppervlakte van 8 m². Ondanks deze schaal van celkweken kunnen we maar interferon maken voor 10 tot 20 experimenten per week. Deze produktie van ratte-interferon is zeer kostbaar en kunnen we ons alleen veroorloven dank zij subsidies van het Koningin Wilhelmina Fonds en het Praeventiefonds.

de is een remmer van de eiwitsynthese. Na die vier uur wordt bovendien actomycine-D toegevoegd, een remmer van de DNA-synthese. Dan wordt alles verwijderd, worden de cellen gewassen en wordt 24 uur lang medium toegevoegd. Gedurende die tijd wordt het interferon aangemaakt en komt het in het medium vrij. Het beta-interferon wordt vervolgens gezuiverd door adsorptie op glaskorrels of door affiniteitschromatografie.

Beta-interferon lijkt minder goed toepasbaar bij de mens dan alfa-interferon. Het is veel instabieler, wat praktijktoepassingen bemoeilijkt. Als het bijv. te lang op kamertemperatuur wordt gehouden, verliest het een groot deel van zijn activiteit. Een ander probleem is het verkrijgen van een voldoende spiegel van dit type interferon in de mens. Na inspuiten verschijnt het nauwelijks in het bloed. Dit in tegenstelling tot het alfa-interferon, dat al vrij snel na inspuiting onder de huid of in een spier in het bloed aantoonbaar is. Het wordt dus óf slecht geresorbeerd van de injectieplaats, óf het wordt na inspuiting lokaal in de huid of in de spier geïnactiveerd.

Bij de produktie van muize- en ratte-interferon voor experimenten in proefdieren heeft men dezelfde technische problemen als bij de produktie van het menselijk beta-interferon. Ook deze cellen moeten vastzitten op een onderlaag. Zo wordt in het laboratorium van de auteur ongeveer 100 miljoen units ratte-interferon per jaar geproduceerd. Daarvoor zijn 100 m² rattecellen nodig. Als die in de normale platte weefselkweekflessen gekweekt zouden moeten worden, zou dat betekenen dat er per jaar 20000 van die flessen zouden moeten worden ingezet. Dat betekent 20000 keer flessen vullen met cellen, flessen wassen, interferoninductor toevoegen, inductor wegwassen enz. Vandaar dat bij de produktie dankbaar gebruik wordt gemaakt van de rollerfles, die dezelfde oppervlakte vertegenwoordigt als tien platte flessen, waardoor de produktietijd met een factor tien kan worden bekort. Overigens blijft het maken van dit interferon een arbeidsintensieve taak. Eén analiste

Tabel 11.1. *Titers in serum na intramusculaire injectie van 10×10^6 units HuIFN α en HuIFN β in chimpansees.* Een groot probleem van menselijk beta-interferon is dat hij na injectie onder de huid of in een spier niet of nauwelijks in het bloed verschijnt en door het lichaam wordt verspreid. Hier een voorbeeld uit eigen onderzoek van titer in het bloed na injectie in de spier van menselijk alfa- en beta-interferon in chimpansees.

<i>type interferon</i>	<i>titer 3 uur na injectie</i>
HuIFN $\alpha 2$	5 620
HuIFN $\beta 1$	344

heeft er een volledige dagtaak aan. Het is bovendien vrij kostbaar, 100 miljoen units kosten ca. 150000 gulden per jaar. En dan te bedenken dat deze hoeveelheid net genoeg is om ongeveer twintig experimenten te kunnen doen bij tien ratten. Vandaar dat ook op het laboratorium van de auteur de hoop is gevestigd om in de toekomst het ratte-interferon te produceren m.b.v. *recombinant-DNA-technieken*.

Recombinant-DNA-technieken

De term recombinant-DNA-techniek slaat op het inbouwen van DNA uit de ene species in het genetisch materiaal van een andere species. Er ontstaat daarbij een species met erfelijke eigenschappen die een combinatie zijn van beide 'donorsoorten'. Meestal slaat de term op het introduceren in micro-organismen van DNA dat afkomstig is van hogere dieren, waaronder ook de mens gerekend wordt. Het DNA bevat de code van een enzym of ander eiwit dat men door het betreffende micro-organisme wil laten maken. Micro-organismen kunnen vrij goedkoop en in grote hoeveelheden worden gekweekt. Op deze manier kan men dus bepaalde stoffen zeer efficiënt door micro-organismen laten produceren. Behalve voor de produktie van kostbare geneesmiddelen als insuline, groeihormoon enz., verwacht men ook veel van deze techniek bij het veredelen van landbouwgewassen, bij de energievoorziening enz. De toepassingsmogelijkheden zijn zo groot, dat sommigen zelfs voorspellen dat het een nieuwe industriële revolutie zal inleiden. Recombinant-DNA-technieken zijn in het begin van de jaren '70 ontwikkeld. In het midden van de jaren '70 kwam er echter een discussie op gang in de wetenschap of deze manipulatie van de natuur geen gevaren kon opleveren. Men construeerde immers micro-organismen die in de natuur niet voorkwamen. Men heeft zelfs een tijdlang alle recombinant-DNA-onderzoek vrijwillig gestaakt, totdat men het eens was over de voorzorgsmaatregelen die bij het onderzoek genomen moesten worden. Deze waren aanvankelijk zeer streng. Het werk mocht alleen in goed beveiligde laboratoria worden verricht en men mocht het vreemde DNA alleen inbrengen in micro-organismen die 'kreupel' waren gemaakt. Mochten ze uit zo'n beveiligd laboratorium ontsnappen, dan zouden ze onmiddellijk het loodje leggen, omdat ze niet in staat zouden zijn onder normale omstandigheden te overleven. De aanvankelijk zeer strenge veiligheidsvoorschriften zijn na verloop van tijd aanzienlijk verzacht, nadat nieuwe kennis was verzameld waaruit kon worden afgeleid dat de risico's veel minder groot wa-

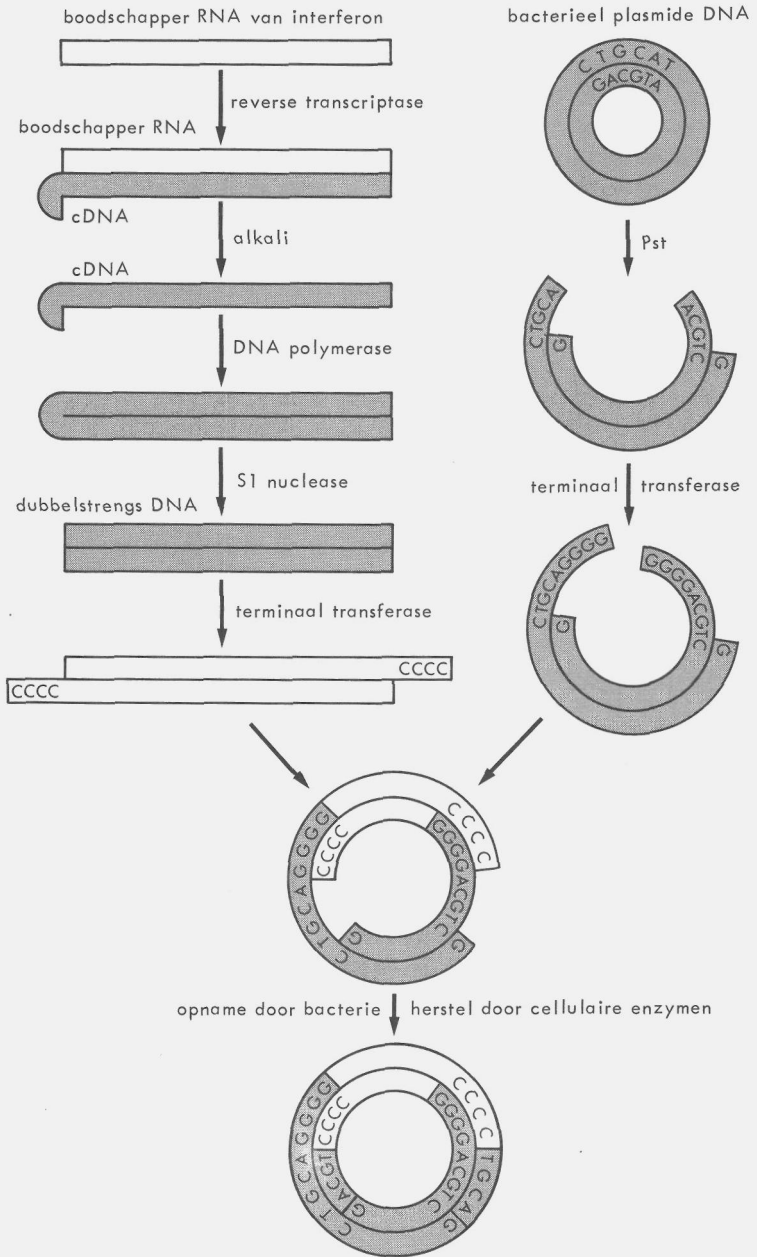


Fig. 11.6. Recombinant-DNA-techniek. In grote lijnen de methode die men gevolgd heeft bij de recombinant-DNA-techniek om bacteriën interferon te laten maken. Uit cellen geïnduceerd om interferon te maken, heeft men het boodschapper-RNA voor interferon geïsoleerd. (Overigens is slechts een fractie van alle DNA in zo'n cel interferon-boodschapper-RNA. Hoe dat probleem is opgelost, zie dit hoofdstuk). Via een aantal enzymatische stappen wordt van het boodschapper-een dubbelstrengs-DNA gemaakt. Een streng aan iedere kant heeft men uitgebreid d.m.v. terminal transferase met een aantal nucleotiden. In dit voorbeeld cytosine. Een rond bacterieel dubbelstrengs-DNA (een plasmide) wordt opengeknipt met een zgn. restrictie-enzym (hier aangeduid met Pst). Dat is een enzym dat dubbelstrengs-DNA knipt op een plaats waar zich een bepaalde nucleotide volgorde bevindt. De uiteinden van dit DNA worden d.m.v. terminal transferase van een aantal guanosinen voorzien. Als men nu het 'interferon'-DNA met de G-uiteinden hiermee mengt, zullen deze twee DNA's via base pairing aan elkaar binden. Men krijgt weer een rond plasmide dat in een bacterie kan worden ingebouwd. De nog ontbrekende nucleotiden om een compleet rond DNA te krijgen, worden door enzymen in de bacterie toegevoegd. Plasmiden zijn DNA's die in meerdere exemplaren en bacteriën kunnen voorkomen en onafhankelijk van het DNA van de bacterie kan repliceren en boodschapper-RNA kan vormen. Het plasmide met de genetische informatie voor interferon produceert boodschapper-RNA voor interferon dat in de bacterie tot interferon wordt vertaald.

ren. In ons land zijn de verontrusting en het verzet tegen recombinant-DNA-technieken vanuit Amerika geïmporteerd door de zgn. kritische wetenschappers, die luidkeels te kennen gaven dat invoering van de techniek in Nederland het einde der tijden zou betekenen.

De gehele Nederlandse bevolking zou de kans lopen binnen enkele maanden te worden uitgeroeid door bacteriën die door onzorgvuldige wetenschappers in elkaar waren geknutseld. Het verzet van de kritische wetenschappers is overgenomen door politiek Nederland, dat zich in dit soort zaken meestal laat leiden door emoties en niet door verstand. Of om met een lid van de Raad van Bestuur van TNO te spreken: 'Nederland werd het Staphorst van de wetenschap.' Het is dus ook niet verwonderlijk dat een zeer groot aantal getalenteerde onderzoekers op het gebied van de moleculaire biologie, die Nederland een leidende plaats hadden kunnen geven in het recombinant-DNA-veld, naar het buitenland zijn vertrokken, waar men de Nederlandse discussie niet heeft afgewacht, maar gewoon aan de slag is gegaan.

In 1980 kon Charles Weissmann uit Zürich bekendmaken dat hij erin was geslaagd om het gen van het menselijk alfa-interferon in *E. coli* in te bouwen en dat deze *E. coli* ook werkelijk in staat was



Fig. 11.7. Charles Weissmann. Charles Weissmann (rechts) gefotografeerd met de schrijver van dit boek tijdens het interferoncongres in Rotterdam in 1981. Weissmann is de eerste geweest die interferon heeft geproduceerd in bacteriën d.m.v. recombinant-DNA-technieken.

om een menselijk alfa-interferon te produceren. Een belangrijke prestatie als men bedenkt welke problemen Weissmann had op te lossen. In de tijd waarin hij met dit werk begon, was de structuur van menselijk alfa-interferon nog niet bekend. Men had dus ook geen idee hoe het gen voor dit interferon eruit zag. Weissmann is uitgegaan van de buffy coat die hij kreeg van Cantell, en die Cantell met het Sendaivirus tot interferonproductie had gebracht. Niet bekend was welke cellen in de buffy coat daadwerkelijk alfa-interferon produceerden. Weissmann heeft uit tientallen liters witte cellen uit de buffy coat boodschapper-RNA geïsoleerd. Omdat interferon maar een fractie vormt van wat de cel produceert, is van al het boodschapper-RNA ook maar een fractie gecodeerd voor interferon. Men schat dat in witte bloedcellen die interferon maken, van elke 20000 boodschapper-RNA's er slechts één voor interferon codeert. Van al deze boodschapper-RNA's maakte Weissmann met behulp van het *enzym reverse transcriptase*, zogenoemd *kopie-DNA*. Dit kopie-DNA heeft hij via een plasmide in een bacterie ingebouwd. De gevolgde methode heet de 'shot-gun'-methode, omdat men als bij een schot hagel een heleboel DNA via een plasmide inbouwt in een bacterie, in de hoop dat er een bacterie tussen zal zitten die het gezochte gen heeft opgenomen. Om de-

ze variant te isoleren werd een eerste selectie gemaakt door van de verschillende bacteriën die kopie-DNA hadden ingebouwd te onderzoeken in hoeverre dit kopie-DNA hybridiseerde met het boodschapper-RNA, dat geïsoleerd was uit witte cellen. Als hybridisatie plaatsvond, dan betekende dit dat dat kopie-DNA inderdaad afkomstig moest zijn geweest uit het boodschapper-RNA. Van het RNA dat hybridiseerde, werd onderzocht of het inderdaad boodschapper-RNA voor interferon was door het in te spuiten in de eicellen van de kikker *Xenopus laevis*. Als men boodschapper-RNA's in de eicellen van deze kikker spuit, dan worden ze normaal vertaald en in eiwit omgezet. Spuit men dus een boodschapper-RNA voor interferon in, dan zal in deze kikkereicellen interferon worden gemaakt. Op die manier konden dus de bacteriële klonen worden geselecteerd die de interferongenen bevatten.

Deze bacteriële klonen werden vervolgens getest op interferonproductie door na te gaan of er eiwit in gevonden kon worden dat cellen tegen virussen kon beschermen. Weissmann en zijn groep hebben op deze manier 60000 'verschillende' bacteriën moeten testen voordat het raak was ('shot-gun'). Zij hebben dit gelukkig niet een voor een hoeven doen, maar konden de selectie per groep uitvoeren. Was een groep positief bevonden, dan werd die groep verder uitgesplitst tot de gewenste kloon gevonden was.

Aanvankelijk was de opbrengst per bacterie zeer klein. Op het ogenblik beschikt Weissmann evenwel al over bacteriële klonen die 100 miljoen units per liter kunnen produceren. Om een vergelijking te geven: om 100 miljoen beta-interferonunits te produceren zijn 100 tot 200 m² cellen nodig, oftewel 10000 tot 20000 weefselkweekflessen.

Alfa-interferon is een mengsel van minstens acht verschillende sub-typen. Er bestaan dus ook minstens acht verschillende alfa-interferongenen in het DNA. Toen Weissmann eenmaal één gen in handen had, was het echter een stuk gemakkelijker om die andere genen te vinden. Daarvoor maakte hij gebruik van een zgn. *genenbibliotheek*. In de bibliotheek liggen alle menselijke genen opgeslagen en Weissmann hoefde alleen maar te zoeken naar genen die veel overeenkomst vertoonden met zijn reeds gevonden gen. Die genen werden vervolgens ingebouwd in *E. coli* en tot expressie gebracht, d.w.z. dat de bacteriën zover werden gebracht dat ze het betreffende subtype alfa-interferon gingen produceren.

De grote vraag was nu of de stof die de bacterie produceerde hetzelfde interferoneiwit was als in cellen voorkomt. Er is een tijdlang aangenomen dat interferon een glycoproteïne was, d.w.z. een eiwit met een suikergroep eraan. *E. coli* is niet in staat eiwitten te glycosyleren, d.w.z. suikerverbindingen aan een eiwit te binden.

Er is echter ontdekt dat waarschijnlijk alle subtypen van alfa-interferon kale eiwitten zijn, waarmee dit probleem uit de wereld was. Er was echter nog wel een andere moeilijkheid.

Leukocyten fabriceren een mengsel van subtypen, terwijl *E. coli* elk subtype apart produceert. De vraag was nu of de subtypen even actief waren als het natuurlijke mengsel. Die vraag is op het laboratorium van de auteur voor het alfa-interferon van Weissmann opgelost. In resusapen is de activiteit van menselijk interferon te meten door de invloed daarvan op de huidlesies na infectie met koepokvirus na te gaan. In dit proefdiermodel bleek het interferon van Weissmann even actief als het natuurlijke interferon van Cantell. Inmiddels zijn in Nederland ook de eerste patiënten ingespoten met het door Weissmann geproduceerde interferon uit *E. coli*. Ook daarbij bleek de activiteit niet af te wijken van het interferon uit de buffy coats.

Weissmann is niet meer de enige die alfa-interferon kan produceren met klonen. Na hem hebben een groot aantal laboratoria gemeld dat zij de techniek ook beheersten. Een firma is er zelfs in geslaagd om gisten zover te krijgen. Ook zijn er al firma's die *E. coli*'s beta-interferon laten produceren. Eind 1981 is door de firma Genentech gemeld dat zij er als eerste in geslaagd was met de recombinant-DNA-technieken micro-organismen tot productie van menselijk gamma-interferon te brengen. Aan gamma-interferon worden bijzondere anti-kankereigenschappen toegedicht. Er is tot nu toe geen enkele patiënt met dit type interferon behandeld, omdat er nog geen veilige produktiemethode voor bestaat. Het gamma-interferon wordt geproduceerd door T-lymfocyten, ófwel na behandeling met lectinen, ófwel door eerst te sensibiliseren tegen een bepaald antigeen om het vervolgens enkele weken later weer met dit antigeen in contact te brengen. Ook dit interferon kan uit buffy coats worden gemaakt. De opbrengst is echter zeer gering. De inductiemethode is moeilijk. Lectinen zijn zeer giftig en het preparaat moet in ieder geval lectinevrij zijn, voordat het in patiënten kan worden ingespoten. Ook zijn er grote problemen bij de zuivering van dit type interferon. Het lijkt erop dat voor gamma-interferon een bacterie of een ander micro-organisme weleens de enige weg zou kunnen zijn waarlangs een acceptabele produktie bereikt kan worden.

XII. Het effect van interferon bij proefdieren

Het interferononderzoek laat zien dat de moderne medische wetenschap nog niet zonder proefdieren kan, hoe jammer dat ook is. Interferon is een van de biologisch meest werkzame stoffen die bekend zijn. De stap van de celkweek, waarin de stof ontdekt is, naar toepassing als medicijn, met overslaan van de fase van het proefdieronderzoek, zou onverantwoordelijk groot zijn geweest. Het feit dat men nu, 25 jaar na de ontdekking, nog steeds onvoldoende inzicht heeft in de toepasbaarheid van interferon in de geneeskunde, wordt voor een belangrijk deel veroorzaakt door het tekort aan gegevens die uit proefdierexperimenten zijn afgeleid.

Er is opvallend weinig interferononderzoek met proefdieren gedaan. Van de ongeveer 3 000 artikelen die sinds 1957 over interferon zijn gepubliceerd, gaan er hooguit 50 over het effect van interferon op experimentele virusinfecties bij proefdieren. Er zijn de laatste jaren internationale congressen over interferon geweest waarbij geen enkele voordracht over werk met proefdieren is gehouden. Ter vergelijking, er zijn op dit moment ca. 160 artikelen geschreven over *acyclovir*[®], een nieuw chemisch antiviraal middel dat door de firma Wellcome wordt ontwikkeld. Ruim een derde daarvan betreft werk met proefdieren. Proefdierexperimenten leveren essentiële informatie over de manier waarop interferon bij de mens moet worden gebruikt. Vragen als hoeveel, hoe vaak en langs welke weg het moet worden gegeven, zijn nog steeds niet beantwoord. Het tekort aan goede proefdierexperimenten hangt nauw samen met het probleem om aan het noodzakelijke interferon te komen. In het vorige hoofdstuk is geschetst hoeveel moeite het in het laboratorium van de auteur kost om genoeg interferon

Tabel 12.1. Besprekingen van proefdiermodellen om antivirale middelen te testen.

1. Bij proefdieren moet noodgedwongen een onnatuurlijke besmettingsweg worden gebruikt.
2. Vaak moeten zeer grote hoeveelheden virus worden toegediend, meer dan bij de mens een infectie geeft.
3. Vaak wordt de dood als parameter voor effectbehandeling genomen. Van een antiviraal middel wordt meestal iets anders verwacht.
4. Virus moet vaak aan proefdieren worden geadapteerd.
5. Bepaalde virussen niet bruikbaar bij proefdiermodellen.
6. Proefdier kan anders reageren op antivirale middelen dan de mens.

te produceren voor een handjevol experimenten met ratten. Een goed produktiesysteem om zelfs maar de kleine hoeveelheden interferon te maken die noodzakelijk zijn voor dierexperimenten geeft de nodige praktische en financiële moeilijkheden.

Men heeft in het verleden dan ook vaak de toevlucht genomen tot studies met interferoninductoren in plaats van interferon zelf. Deze studies zullen echter in dit hoofdstuk niet worden behandeld. Inductoren van interferon zoals poly I-C zijn zelf, dus ook zonder dat zij interferon induceren, in staat om antivirale effecten op te wekken. Resultaten uit studies met inductoren kunnen niet altijd eenduidig geïnterpreteerd worden als interferoneffecten. Proeven met interferon zijn niet verwisselbaar met proeven met interferoninductoren. Proeven met interferon, zeker die in de vorige jaren, zeg voor 1970, gedaan zijn, zijn moeilijk te interpreteren omdat in die periode nog geen internationale referentiepreparaten beschikbaar waren en dus de units interferon die in de experimenten werden gebruikt, niet vergelijkbaar zijn. Een groot aantal experimenten, zeker in de beginjaren van het interferononderzoek, is noodgedwongen gedaan met zeer onzuivere interferonpreparaten. Een aantal effecten die beschreven zijn, kunnen dus zeer wel het gevolg zijn geweest van onzuiverheden in de preparaten en hoeven niet altijd interferoneffecten te zijn geweest.

Antivirale activiteiten van interferon bij proefdieren

Experimenten met proefdieren op het gebied van de antivirale effecten van interferon werden en worden gedaan om een aantal zeer algemene vragen, bijv. over de effectiviteit van interferon als een antiviraal middel in vivo, te beantwoorden. Als de werking effectief is, dan luidt de volgende vraag of het toegediend moet worden voor men een dier infecteert, dan wel of het ook nog effectief is nadat de virusinfectie al heeft plaatsgevonden. Met deze laatste situatie wordt de arts het meest geconfronteerd. Een patiënt zal zich bij zijn arts melden met een virusinfectie, als de virusinfectie al dagen aan de gang is. Andere algemene vragen betreffende de hoeveelheid en de frequentie waarmee interferon gegeven moet worden, dienden te worden opgelost. Men heeft niet alleen het effect bij acute infecties maar ook bij chronische infecties bestudeerd. Men komt de laatste jaren steeds meer tot het inzicht dat bepaalde ziekten bij de mens wellicht in verband staan met chronische jarenlang durende virusinfecties, zoals de ziekte van Crohn en multiple sclerose.

Hoewel de proefdiermodelsystemen zo zijn geselecteerd dat ze

voor het betreffende probleem een goede afspiegeling geven van de situatie bij de mens, kan men tegen de gebruikte modellen toch een aantal bezwaren aanvoeren. De natuurlijke besmetting voor virussen bij de mens voltrekt zich door inademing of via het voedsel. Een dergelijke natuurlijke weg is moeilijk na te bootsen bij proefdieren. Men neemt dan vaak zijn toevlucht tot onnatuurlijke besmettingswegen, zoals inspuiting in de buikholte. Uit praktische en financiële overwegingen zijn de meeste experimenten verricht met muizen. Muizen zijn vaak zeer resistent tegen menselijke virussen, zodat onnatuurlijke hoge concentraties in de muizen moeten worden toegepast om ze überhaupt te besmetten. Bij proefdieren neemt men als bewijs dat het virus is aangeslagen meestal de dood van het dier. De werking van interferon werd gerelateerd aan de invloed op de overlevingsduur. Het is duidelijk dat een antiviraal middel bij de mens om heel andere redenen nuttig kan zijn. Vaak moesten menselijke virussen om een proefdier te kunnen besmetten aan zo'n proefdier worden geadapteerd (aangepast). Influenzavirus kan men bijv. wel adapteren aan muizen, maar de vraag is dan in hoeverre de ziekmakende eigenschappen van dit veranderde virus nog overeenkomen met die van het natuurlijk voorkomende virus. Sommige menselijke virussen, zoals het menselijk Varicella-Zoster-virus, kunnen zelfs niet geadapteerd worden. Men is dan wel gedwongen om met proefdieren met analoge infecties te werken, die uiteraard maar ten dele vergelijkbaar zijn met de situatie bij de mens. Voor sommige virussen bestaat überhaupt geen model bij proefdieren. Een voorbeeld is het hepatitis-B-virus dat buiten de mens niet groeit. En dan is er ook nog de vraag of de interferonsystemen van muizen en ratten wel vergelijkbaar zijn met het interferonsysteem van de mens. Twijfel daaromtrent lijkt om diverse redenen gerechtvaardigd. Er zijn niet alleen weinig dierstudies gedaan, maar iedere studie had zijn eigen variabelen en zijn specifieke eigenaardigheden, hetgeen de reproduceerbaarheid niet ten goede komt. Men moet dus heel voorzichtig zijn om te snel en te voorbarig allerlei conclusies te trekken uit proefdierexperimenten die betrekking hebben op de toepassing van interferon bij de mens, maar het is zeker zo dat proefdierexperimenten een grote bijdrage hebben geleverd tot een beter begrip van het interferonsysteem. En ze hebben wel degelijk een aantal algemene conclusies toegelaten.

De eerste diersoort die in het interferononderzoek werd gebruikt, was het konijn. In een publikatie uit 1957 meldden Isaacs, Lindemann en Burke dat als bij een konijn waarbij interferon in de huid was gespoten, waarna die plek was besmet met koepokvirus, zich een poklesie ontwikkelde die aanzienlijk kleiner was dan in onbe-

Tabel 12.2. Een aantal infecties bij proefdieren met succes behandeld met interferon.

<i>Proefdier</i>	<i>Orgaan</i>	<i>Virus</i>	<i>Interferon</i>
Konijn	oog	vaccinia	lokaal/systemisch
	huid	herpes	lokaal
		vaccinia	lokaal
Muis	huid	vaccinia	systemisch
		herpes	systemisch
	luchtwegen	influenza	lokaal/systemisch
		vesicular stomatitis	systemisch
	hersenen	Semliki-forest	
		EMC	
		Buyanamera	
Rat	centraal zenuwstelsel longen	pseudorabies	systemisch
		Sendai	systemisch
Resusaap	oog	vaccinia	lokaal
	huid	vaccinia	systemisch
	huid	varicella-zoster-achtig virus	systemisch
	spieren	rabies	systemisch
Chimpansee	lever	hepatitis-B-virus	systemisch

handelde huid. Dit was de eerste aanwijzing dat interferon in vivo effect had.

Een andere vroege studie waarin interferon lokaal werd gebruikt, betrof een onderzoek uit 1960 van Cantell en Tomilla, waarbij het effect van interferon op vaccinia en herpesvirusinfecties van het oog bij konijnen werd bestudeerd. Dit model is interessant omdat virusinfecties van het oog nogal vaak voorkomen en de neiging hebben om vaak te recidiveren, waardoor het oog ernstig kon worden beschadigd. Cantell en Tomilla vonden dat als onmiddellijk na de infectie werd begonnen met gedurende vier dagen zes keer per dag interferon in één van beide ogen te druppelen, het vacciniavirus in het onbehandelde oog sneller groeide dan in het behandelde oog en dat de schade aan het behandelde oog aanzienlijk minder was. Op het herpes-simplexvirus bleek interferon geen effect te hebben. In latere studies is aangetoond dat interferon ook bij een infectie met herpesvirussen werkzaam is.

Een kwart van alle ziekten die bij de mens voorkomen, is het gevolg van virusinfecties van de ademhalingswegen. Het ligt voor de hand dat dergelijke ziekten ook bij proefdieren intensief worden bestudeerd. Helaas zijn er maar weinig goede modellen. Het is weliswaar mogelijk een griepvirus zodanig te veranderen dat het muizen infecteert, maar het is erg moeilijk de resultaten van dergelijke experimenten te vertalen naar de situatie bij de mens. Het vaststellen van de afwijkingen in de long acht tot tien dagen na infectie, heeft weinig zin omdat de hoeveelheid virus in de long dan al begint af te nemen. Ook kan men het aantal muizen tellen dat tengevolge van de infectie overlijdt. Ook dat levert echter weinig direct bruikbare informatie op, omdat men van een therapie tegen influenza bij de mens heel iets anders verwacht. De enige hanteerbare parameter die men heeft, is het bepalen van de hoeveelheid virus één à twee dagen na de infectie. Het bleek dat interferon in de spier of intraveneus ingespoten, in staat was muizen resistent te maken tegen dit griepvirus. Daar was echter wel een grote hoeveelheid interferon voor nodig. Waarschijnlijk is dit noodzakelijk om een concentratie te bereiken die hoog genoeg is om de cellen van de ademhalingswegen resistent te maken. Proeven van Norman Finter bevestigden dit. Hij stelde ook vast dat als men het interferon toediende via de neus om zo de longen te bereiken, de virusgroei aanzienlijk verminderde.

Interferon is behalve bij lokale infecties in huid, oog of longen ook getest bij meer uitgebreide en algemene virusinfecties. Aanvankelijk vond men bij dit soort infecties geen effect. Waarschijnlijk is dit te wijten geweest aan de zeer lage doseringen die werden gebruikt of aan gigantische hoeveelheden virus waaraan de dieren

Tabel 12.3. *Overleving bij muizen wanneer interferon gegeven wordt 4 dagen na besmetting met VSV.* De antivirale activiteit van interferon is vooral uitgesproken wanneer het gegeven wordt voor de besmetting of heel vroeg na besmetting. Hier toch een voorbeeld van antiviraal effect van interferon in met Vesicular Stomatitis Virus besmette muizen, terwijl de behandeling pas werd begonnen vier dagen na besmetting. Er moet dan wel bijzonder veel interferon gegeven worden. Als men de behandeling begint voor de besmetting, heeft men maar 1% of minder nodig van wat in dit experiment gegeven is om alle dieren te laten overleven. In dit experiment met de enorme hoeveelheden werd een overleving bereikt van zo'n 50%, terwijl maar zo'n 10-20% van de controles overleefden. (Deze gegevens zijn ontleend aan werk van dr. Gresser en zijn medewerkers.)

	<i>overleving</i>		
	<i>geen behandeling</i>	<i>placebo</i>	<i>interferon</i>
Exp. 1	1/12	—	9/12
2	2/14	1/12	5/12
	—	0/12	5/12
3	2/12	5/12	8/12
	—	1/12	8/12
4	0/6	6/20	9/12
5	0/4	2/12	2/12
6	—	2/12	6/12
Totaal	5/48	17/96	52/100

Behandeld vanaf dag 4 tot dag 7-8 of 9 na besmetting. $6,4 \times 10^6$ units per dag.

werden blootgesteld. Eind jaren '60 kwam er wat meer interferon ter beschikking en kon men met hogere doseringen gaan werken. Toen werd wel degelijk een effect bij algemene virusinfecties aangetoond.

In de meeste studies bleek dat er een effect waarneembaar was als interferon maar wordt toegediend voor de infectie plaatsvindt, maar dat het effect minder werd naarmate men later na de infectie met de interferonbehandeling begon. In een aantal gevallen kon deze ineffectiviteit bij late toediening worden voorkomen door hogere doses toe te dienen. Zo vond Finter dat het mogelijk was om muizen te beschermen tegen Semliki-Forestvirus wanneer men 24 uur na infectie met de interferonbehandeling begon. Om een effect te bereiken dat vergelijkbaar was met dat van een behandeling die 24 uur voor de besmetting was gestart, diende men echter 20 maal meer interferon toe te dienen.

Een latere studie van Gresser leverde overeenkomstige resultaten. Indien men vier dagen na besmetting van muizen met Vesicular-Stomatitisvirus begon met interferontherapie, was het effect duidelijk merkbaar, mits zeer hoge doseringen werden ingespoten.



CONTROLE



INTERFERON

Fig. 12.1. Effect menselijk interferon in met vaccinia besmette resusapen. De soortspecificiteit van interferon is niet absoluut. Zo is menselijk interferon ook actief bij resusapen. Deze foto's laten zien dat menselijk interferon in staat is resusapen te beschermen tegen besmetting met koepokvirus in de huid. De niet behandelde aap vertoont de pokken in de huid die ontstaan na besmetting met dit virus. De met interferon behandelde aap is volledig beschermd. Na besmetting zijn geen pokken ontstaan. Bij met koepokvirus besmette apen doen wij in het Primatencentrum TNO vrij uitgebreid onderzoek naar omstandigheden waaronder de verschillende soorten menselijk interferon actief zijn.

Dat interferon laat in de infectie, als het al effect heeft, alleen werkt wanneer het in grote doseringen gegeven wordt, is te begrijpen. Een virus dat op een bepaalde plaats in een organisme is aangeslagen, zal daar de interferonproductie op gang brengen. Wil men van buitenaf de relatief hoge lokale concentraties nog vergroten, dan zal dit zeer grote hoeveelheden vereisen. En dan nog blijft de vraag in hoeverre de antivirale werking van het eigen interferon wordt versterkt.

Het proefdier dat wij gebruiken voor studie van de antivirale werking van interferon is de resusaap, omdat in dit dier menselijk interferon actief is. Wij kunnen dus bij de resusaap de preparaten gebruiken die ook in de kliniek worden getest. De apen worden in de huid besmet met koepokvirus. Onder normale omstandigheden ontwikkelt een resusaap na zo'n infectie een pokje in de huid, dat

na zeven dagen zijn maximale grootte bereikt. We kunnen dit verhinderen door de aap met menselijk interferon te behandelen. Dit proefdiermodel heeft nog een aantal extra voordelen. Het interferoneffect is van buitenaf zichtbaar, hetgeen de experimenten vergemakkelijkt. Het gebruikte virus is vrij onschadelijk en na twee weken zijn de sporen van de besmetting uitgewist. De apen kunnen na afloop van de experimenten weer gebruikt worden voor andere doeleinden. Dit maakt de procedure niet alleen goedkoop, maar ook wordt onnodig dierenleed voorkomen. In ons model werkt interferon alleen preventief. Het heeft slechts effect als het voor de virusinfectie wordt gegeven. Begint men een dag na de infectie met de behandeling, dan is het effect nihil, zelf bij hoge doses.

Interferonbehandeling kan ook negatief uitwerken. Eerder in dit boek (blz. 105) is melding gemaakt van de invloed van interferon op pasgeboren muizen en ratten. De pasgeboren dieren vertonen symptomen die veel lijken op de symptomen die optreden na infectie met LCM-virus. De veronderstelling dat beide verschijnselen wel eens iets met elkaar te maken konden hebben, lag voor de hand. Inderdaad bleken in jonge, met LCM-virus besmette muizen hoge titers aan interferon op te treden. Wanneer deze besmette dieren werden behandeld met een anti-interferonserum namen de symptomen aanzienlijk af en werd de mortaliteit van het virus gereduceerd. Ook bij volwassen dieren kan interferon ongewenste effecten teweegbrengen. NZB-muizen zijn muizen met spontane auto-immuunziekten, waarbij de muizen hun eigen organen afstoten. Als deze muizen met interferon worden behandeld, blijkt dit proces aanzienlijk te worden versneld.

Anti-tumoreffecten van interferon bij proefdieren

Behalve tegen virale infecties bij proefdieren werkt interferon ook tegen experimentele tumoren, die bij proefdieren worden veroorzaakt door tumorvirussen. Interferon is zowel in staat om de groei van tumorvirussen te remmen, alsook om te voorkomen dat tumorvirussen de cellen tot kankercellen transformereren. Interferon werkt remmend op de celgroei, al is het nog de vraag of tumorcellen extra gevoelig zijn voor deze celgroeiremming. Misschien is deze vraag niet zo belangrijk omdat de anti-tumorwerking van interferon niet hoeft te berusten op deze celgroeiremming. Als men kijkt naar de gevoeligheid van bepaalde cellijnen *in vitro* voor de celgroeiremming door interferon, dan blijkt deze niet altijd overeen te komen met de gevoeligheid voor celgroeiremming *in vivo*.

Men kan menselijke tumorcellen tumoren laten veroorzaken in zogenoemde *nude* muizen, waarvan het immuunapparaat zodanig is veranderd dat zij deze menselijke cellen niet afstoten. In dit muizeras ontstaan dan tumoren van menselijke oorsprong. De groei van deze menselijke tumoren bij muizen wordt niet geremd door menselijk interferon, maar wel door interferon afkomstig van de muis. Men kan dit alleen maar begrijpen als men aanneemt dat de werking van interferon niet verloopt via een direct effect op de tumorcellen, maar via de afweer van het organisme. In het geval van de *nude* muizen uiteraard via de niet specifieke afweer, omdat deze muizen geen immuniteit bezitten.

Interferon brengt veranderingen aan in het celoppervlak. De signaalfunctie van tumorantigenen, die zich op het celoppervlak van kankercellen kunnen bevinden, wordt door interferon versterkt met het gevolg dat tumorcellen door het afweerapparaat beter als zodanig kunnen worden herkend. Absorptie van antilichamen aan de celwand kan door interferon worden versterkt. Zoals eerder in het boek is beschreven, kan zo'n binding de cellen onschadelijk maken en versterkt interferon de activiteit van NK-cellen en macrofagen. Beide celsoorten spelen een belangrijke rol bij de afweer van het lichaam tegen tumoren.

Het eerste anti-tumoreffect van interferon in vivo werd aangetoond door Atanasio en Falcoff in 1960. Zij spotten interferon in in de huid van pasgeboren hamsters. Vierentwintig uur later werd op dezelfde plek tumorvirus geïnjecteerd. In vergelijking met dieren uit een controlegroep die niet met interferon was behandeld, bleken de behandelde dieren langer te overleven, de tumoren vertraagd of in een aantal gevallen helemaal niet te verschijnen.

In 1967 meldde Gresser dat interferon de ontwikkeling van door virussen veroorzaakte leukemieën bij de muis remde. Een van de meest uitgesproken verschijnselen na besmetting van muizen met leukemievirus is een vergrote milt, zo'n drie tot vier weken na besmetting. Als gedurende die periode interferon met een hoge titer werd toegediend, werd het vergrotingsproces van de milt sterk begrensd. Interferon heeft ook invloed op het ontstaan van spontane leukemie in muizen. AKR-muizen behoren tot een muizestam waarin met een zeer hoge frequentie spontane leukemieën optreden. Na een jaar lijdt ongeveer 75% aan een leukemie waardoor het merendeel niet ouder wordt dan 500 dagen. Wordt vanaf de geboorte gedurende de eerste drie maanden interferon toegediend, dan neemt de overleving van de muizen significant toe en vermindert de leukemiefrequentie. Hetzelfde effect is gevonden bij NIII-muizen, een stam die spontaan borstkanker ontwikkelt. Als deze muizen één keer per week met interferon worden ingespoten, van-

Tabel 12.4. Een aantal tumorsoorten in proefdieren met succes behandeld met interferon.

Spontane tumoren

- Leukemie – AKR-muizen
- Borstkanker – RIII-muizen

Virus geïnduceerde tumoren

- Oncogene herpesvirussen – apen
- Rauscher-leukemievirus – muizen
- Friend-leukemievirus – muizen
- Rous-sarcomavirus – kippen
- Polyomavirus – hamsters

Chemisch en door bestraling geïnduceerde tumoren

- Stralingsgeïnduceerde leukemie – muizen
- 3-Methylcholanthreen geïnduceerde huid- en longkanker – muizen

Getransplanteerde tumoren

- Osteosarcomacellen – muizen
 - Leukemiecellen – muizen
 - Ehrlich-ascitescellen – muizen
 - Menselijke tumorcellen – ‘nude’ muizen
-

af het moment dat ze zes weken oud zijn tot ze de leeftijd van 35 weken hebben bereikt, dan wordt de ontwikkeling van deze borstkankers aanzienlijk vertraagd.

Interferon heeft ook effect op de zogenaamde *transplantabele tumoren*, die worden opgewekt door proefdieren tumorcellen in te spuiten. In een muizemodel waarbij Ehrlich-ascitestumorcellen in de buikholte worden ingebracht, bleek interferon de overleving van de muizen te vergroten. Het effect was direct afhankelijk van het aantal tumorcellen dat werd ingebracht. Hoe meer tumorcellen er werden ingebracht, hoe minder effect interferon had. In dit model bleek voorbehandeling van muizen met interferon voordat de tumorcellen werden ingebracht, geen effect te hebben.

Bij muizen heeft men een effect van interferon geconstateerd op kankersoorten die veroorzaakt worden door straling of door chemicaliën. Zo kan men bij muizen tumoren induceren door trimethylcholantrene in de huid te brengen. Als men de muizen daarna met interferon behandelt, dan blijkt het aantal tumoren veroorzaakt door trimethylcholantrene sterk af te nemen. Hetzelfde effect werd waargenomen bij bestraling van muizen.

Ten aanzien van de toepasbaarheid van interferon als anti-tumor-middel bij de mens is het van belang of interferon combineerbaar is met andere behandelingsmethoden. Bij BDF/1-muizen waarin

leukemieën worden opgewekt door overplanting van L1210-leukemiecellen bleek interferon geen effect te hebben. De werking van methotrexaat, een chemisch anti-leukemiedmiddel, bleek door interferon versterkt te worden. Tegen deze combinatie trad ook geen resistentie op, wat bij geïsoleerde chemotherapeutica wel kan gebeuren. Het is bekend dat het antitumor-effect van interferon nogal uitgesproken is als er nog maar weinig tumorcellen aanwezig zijn. Men kan zich dus voorstellen dat bij een bepaalde tumor, eerst met een chemisch middel het aantal tumorcellen omlaag wordt gebracht om dan met interferon de laatste tumorcellen op te ruimen. Bij CDF1-muizen die waren ingespoten met LSTRA-leukemiecellen, bleek het in een groot aantal gevallen mogelijk alle tumorcellen uit de muizen te verwijderen en dus de leukemie volledig te genezen, door de muizen eerst te behandelen met BCNU, een chemisch anti-leukemiedmiddel, en daarna met interferon. Vooral van het gamma-interferon stelt men zich als anti-tumormiddel veel voor, omdat dit type interferon in staat is de effectiviteit van de andere typen te verhogen. In proefdieren is een dergelijk synergistisch effect al aangetoond. Bij C57BL/6-muizen, ingespoten met osteogene sarcoomcellen, bleek een zevendaagse behandeling met 30 tot 60 000 units van een bepaald type muize-interferon het mogelijk te maken de ontwikkeling van de tumoren óf geheel te belemmeren óf de verschijning ervan te vertragen. Van het type 2 (immuuntype of gammatype) interferon waren maar 6 000 units per dag nodig om hetzelfde effect te bereiken. In dit model was gamma-interferon dus 100 keer actiever dan het standaard interferon. Bij DBA/2-muizen waarin B388-leukemiecellen waren ingebracht, bleek het gamma-interferon niet actief. Het normale type interferon, gegeven in 25 000 units, vertraagde de ontwikkeling van de tumor en verhoogde de overleving. Werden deze 25 000 units klassiek interferon evenwel gecombineerd met 25 units gamma-interferon, dan bleek het effect van het gewone interferon aanzienlijk te worden versterkt.

De vraag is wat al deze effecten van interferon gevonden in proefdieren te betekenen hebben voor de toepassing van interferon als anti-tumormiddel bij de mens. De tumormodellen in proefdieren zijn vaak erg kunstmatig ontwikkeld. Omwille van de efficiëntie worden vaak tumoren gekozen die snel groeien en binnen enkele weken tot de dood van het dier leiden. Bij de mens groeit een tumor aanzienlijk langzamer. Ook is op een hele kleine uitzondering na nooit gevonden dat interferon in staat is om een bestaande tumor in proefdieren in grootte te doen afnemen. Een dergelijk effect is bij de mens wel beschreven. Misschien bestaan er verschillen tussen het interferonsysteem van knaagdieren en dat van de

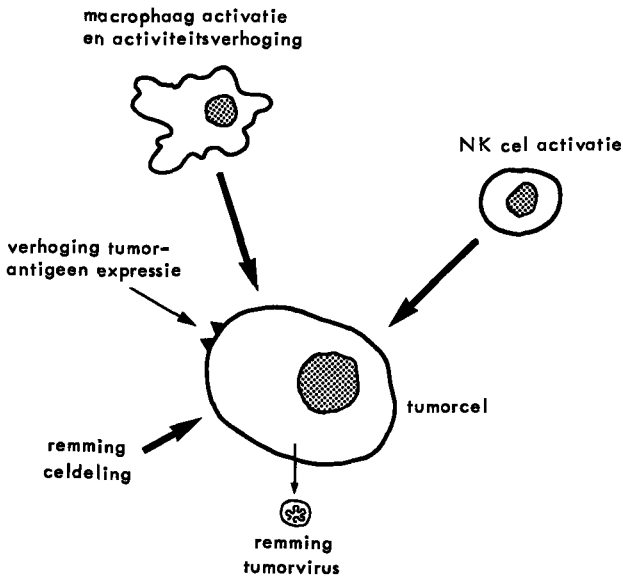


Fig. 12.2. Anti-tumormechanismen van interferon. Een samenvatting van de mechanismen langs welke interferon zijn anti-tumorwerking uitoefent.

mens. Ook is bij proefdieren relatief veel meer interferon nodig om effecten te bereiken dan bij de mens. Duidelijk is dat op dit gebied nog veel onderzoek nodig is om tot definitieve conclusies te komen. De nadruk moet daarbij liggen op onderzoek dat gericht is op beantwoording van de vraag wat tumoren nu gevoelig maakt voor interferon. Als men dat weet, wordt het mogelijk bij bepaalde patiënten te voorspellen wat hun reactie op interferon zal zijn, en om tumoren bij de mens, op wie interferon dient te worden uit-geprobeerd, op meer logische wijze te selecteren.

XIII. De toepassing van interferon bij de mens

Het grootste deel van het onderzoek dat sinds 1957 aan interferon werd besteed, was gericht op de ontwikkeling van een nieuw geneesmiddel, aanvankelijk bedoeld ter bestrijding en voorkoming van virusinfecties. Zowel in de reageerbuis als in het proefdier was het actief gebleken tegen een scala van virussoorten en omdat het een lichaamseigen stof betrof, rekende men erop dat het vrij zou zijn van bijwerkingen.

Zoals al eerder in dit boek werd opgemerkt, bleek het erg moeilijk genoeg interferon te maken om onderzoek in de mens te kunnen doen dat de toets der kritiek kon doorstaan. Daarvoor was bijv. een *dubbelblind* onderzoek nodig met een voldoende groot aantal proefpersonen. Bij een dubbelblind onderzoek worden de patiënten die aan de proef meedoen verdeeld in twee groepen. De ene groep krijgt het nieuwe middel, de andere groep dient ter controle en krijgt een controlemiddel. De arts die de proef uitvoert krijgt het middel en het controlemiddel. Het lot beslist wie in welke groep terecht komt (*randomisering*). Er wordt verder voor gezorgd dat de behandelende arts het nieuwe middel niet van het controlemiddel kan onderscheiden, zodat hij niet weet welke van zijn patiënten met het nieuwe middel behandeld worden en welke niet. Ook de patiënt weet niet of hij het nieuwe middel danwel het controlemiddel krijgt toegediend. Vandaar de term dubbelblind onderzoek.

Natuurlijk wordt de patiënt van tevoren om medewerking aan zo'n onderzoek gevraagd en hij weet dus dat hij de kans loopt met het controlemiddel te worden behandeld. Vaak wordt met de patiënt de afspraak gemaakt dat als uit het onderzoek mocht blijken dat het nieuwe middel naar tevredenheid werkt, de patiënten na afloop van het onderzoek ogenblikkelijk het nieuwe middel ter beschikking gesteld zullen krijgen.

Het heeft tot de helft van de jaren '70 geduurd, voordat de eerste gerandomiseerde dubbelblinde en *placebogecontroleerde* studies met interferon konden beginnen. Placebogecontroleerd wil zeggen dat de controlegroep niet met een actief medicijn, maar met een fopmiddel, een zgn. *placebo*, wordt behandeld. Men moest bij deze studies wel van placebo's gebruik maken, omdat er geen antivirale middelen beschikbaar waren die als controle konden dienen. Tot die tijd heeft men genoeg moeten nemen met zgn. *anekdotische* studies, waarbij één of enkele patiënten met interferon wer-

den behandeld om te zien of er überhaupt enig effect was. De produktie van interferon was zeer kostbaar en men zat in feite gevangen in een vicieuze cirkel: om geld los te krijgen voor de produktie van interferon had men positieve resultaten nodig, om resultaten te bereiken had men interferon nodig. Deze vicieuze cirkel werd doorbroken door de vasthoudendheid van Kari Cantell. Waarschijnlijk zou zonder hem het interferononderzoek eind jaren '60, begin jaren '70 een zachte dood gestorven zijn. De produktieproblemen gold ook de aanmaak van dierlijk interferon voor studies bij proefdieren. In tegenstelling tot de ontwikkeling van andere geneesmiddelen, beschikt men bij interferon nauwelijks over kennis uit dierexperimenteel onderzoek. Zelfs de zeer fundamentele vraag hoeveel interferon de mens nodig heeft, is nog niet beantwoord en de veelgebruikte dosering van drie miljoen units heeft meer te maken met het feit dat Cantell zijn interferon in dergelijke quanta ter beschikking stelde, dan dat ze gebaseerd is op gedegen onderzoek.

Antivirale studies bij de mens

De eerste studies bij de mens zijn gedaan met interferon dat gemaakt was uit apellen. Men heeft van dit interferon de lokale werking bestudeerd, omdat voor dergelijke studies relatief weinig interferon nodig is. In de allereerste interferonstudie bij de mens werden 38 vrijwilligers onder de huid in de arm ingespoten met ape-interferon en vijf cm daarvandaan met controlemateriaal. De volgende dag werden de met interferon behandelde plaats en de controleplaats besmet met koepokvirus. Op 37 van de 38 plaatsen die waren behandeld met het controle-apparaat kwam de koepok op; op de plaatsen die met interferon waren behandeld waren dat er maar 14 van de 38. Het verschil is statistisch zeer significant. Dit was de eerste studie waaruit bleek dat interferon bij de mens een antiviraal effect had. De studie werd in 1962 verricht onder verantwoordelijkheid van de Scientific Committee of Interferon. In datzelfde jaar werd getracht een baby die tegen pokken was gevaccineerd en als gevolg daarvan *vaccinia gangrenosa* had ontwikkeld (een afwijking waarbij de koepokken zich niet beperken tot de plaats waar is gevaccineerd, maar zich over de hele huid verspreiden), te behandelen met interferon. Het middel had echter bij deze baby geen enkel effect.

In datzelfde jaar werd ape-interferon beproefd als middel ter behandeling van *keratitis* (hoornvliesontsteking), veroorzaakt door koepokvirus. Deze infectie kan tot ernstige oogafwijkingen leiden

en zelfs blindheid veroorzaken. Bij vijf patiënten die aan deze infectie leden, werd om het half uur interferon in het oog gedruppeld. Op het moment dat met de interferonbehandeling werd begonnen, werd het aangedane gebied kleiner en begonnen de zweertjes te helen. Bij twee patiënten die de controlegroep vormden, kwam de behandeling erop neer dat het aangetaste weefsel werd weggehaald. Er was verder geen verschil tussen beide groepjes patiënten waar te nemen. Behandeling met ape-interferon was blijkbaar net zo goed als de tot dan toe gebruikelijke methoden. De eerste dubbelblindstudie met interferon werd ook onder verantwoordelijkheid van de Scientific Committee for Interferon verricht in 1965. Tijdens dit experiment werden vrijwilligers via neusdruppels behandeld met interferon of het controlepreparaat, en vervolgens besmet met virussen die verkoudheid kunnen veroorzaken. Men gebruikte alleen virussen waarvan men wist dat ze in weefselkweek door interferon werden geremd. Er bleek in deze studie geen enkel verschil te bestaan tussen de met interferon behandelde patiënten en de controlepatiënten. Verder zijn er met ape-interferon bij de mens geen studies verricht. Het gebruik van ape-interferon is potentieel gevaarlijk voor de mens. We weten dat apen zelf vaak besmet zijn met virussen en het is heel goed mogelijk dat ape-interferon door het menselijk organisme als vreemd wordt beschouwd, zodat er tegen dit eiwit antilichamen geproduceerd worden.

De eerste studie met menselijk interferon bij de mens werd in 1963 verricht door Tommilla. Hij bestudeerde 34 patiënten met keratitis veroorzaakt door herpesvirussen. Aan 17 van hen gaf hij om de twee à drie uur in de vorm van oogdruppels interferon gemaakt uit menselijke amnioncellen (dus waarschijnlijk beta-interferon). Bij de patiënten bij wie het interferon werd ingedruppeld, genas het hoornvlies veel sneller dan bij de patiënten die met het op dat moment gebruikelijke jodium werden behandeld. Behandeling met interferon bleek echter geen effect te hebben op de duur van het verblijf in het ziekenhuis, of op het gezichtsvermogen op het moment dat de patiënt het ziekenhuis verliet. Ook was er geen effect waarneembaar op het weer opvlammen van deze besmetting, een gevreesd en niet ongebruikelijk verschijnsel bij door herpesvirus veroorzaakte keratitis.

In 1966 behandelde Falcoff drie pasgeboren baby's die geïnfecteerd waren met *cytomegalievirus* en één baby die leed aan herpesinfecties met interferon. Veel meer dan een gunstig effect kon Falcoff niet melden. Na deze over het algemeen nogal matige resultaten heeft het onderzoek bij de mens bijna tien jaar stilgelegen op één uitzondering na: de studies van Soloviev in de Sovjet-Unie.

Hij gebruikte menselijk alfa-interferon, gemaakt uit buffy coats, als middel om tegen virus een bescherming op te bouwen. In zijn eerste rapport uit 1967 beschrijft hij twee experimenten. In het eerste werden 284 vrijwilligers behandeld met interferon, dat met een spray in de neus werd gebracht. Op verschillende tijdstippen na de behandeling werden deze vrijwilligers besmet met influenza-virus. Het bleek dat als interferon 2 uur of 24 uur voor de infectie – of beter nog op beide tijdstippen – werd toegediend, het virus minder aansloeg. Als het interferon 48 uur voor de infectie werd gegeven, was het effect nihil. In het tweede experiment werden 100 volwassenen en 100 kinderen gedurende een griepidemie behandeld met leukocyteninterferon ofwel een placebo. Vooral bij de kinderen bleek het interferon een zeer duidelijk beschermend effect te hebben.

Het tweede rapport van Soloviev dateert uit 1969 en beschrijft een studie waarbij gedurende een griepidemie 14 000 mensen waren betrokken. In verschillende deelstudies werden bij grote groepen volwassenen of kinderen interferonpreparaten of placebopreparaten gegeven die men zichzelf tussen de drie à vijf dagen lang via een neusspray toediende. In de met interferon behandelde groepen werd het aantal griepslachtoffers met 70% gereduceerd. In hetzelfde rapport wordt ook gesproken over 147 patiënten die al griep hadden toen ze met interferon werden behandeld. Volgens het rapport had interferon effect wanneer binnen twee dagen na het begin van de ziekte werd begonnen met het toedienen.

Hoewel Soloviev's studies tot op dit moment de omvangrijkste zijn waarover ooit is gerapporteerd, hebben ze in het Westen weinig indruk gemaakt om niet te zeggen dat men nauwelijks geloof hechtte aan de resultaten. In West-Europa en in de Verenigde Staten hadden soortgelijke studies weinig positieve resultaten opgeleverd. Vrij recent is dat beeld overigens wat verschoven ten gunste van Soloviev. In de Sovjet-Unie werden Soloviev's bevindingen zo gewaardeerd dat interferon er in de apotheek voor iedereen normaal verkrijgbaar is, ten einde zich tijdens epidemieën tegen griep en tegen griepachtige ziekten te beschermen. Uit analyses van in de Sovjet-Unie gekochte preparaten bleek dat ze maar heel weinig interferon bevatten en dat dit weinige interferon ook nog heel onzuiver was. De effecten die Soloviev gevonden heeft, kunnen dus ook veroorzaakt zijn door andere stoffen. Over een belangrijk deel van Soloviev's werk zijn alleen Russische publikaties verschenen, hetgeen de waardering en voortzetting van zijn werk in het Westen nogal heeft bemoeilijkt.

Omdat chronologische behandeling te chaotisch zou worden, zullen nu enkele, wat meer recente resultaten met interferon als antiviraal middel bij de mens per toepassingsgebied worden behandeld. Bovendien geeft dat de gelegenheid om de niet-medisch geschoolden wat meer achtergrondinformatie te verschaffen over de verschillende ziekte toestanden.

Herpes keratitis

Herpes keratitis is een ontsteking van het hoornvlies die veroorzaakt wordt door het herpes-simplexvirus, hetzelfde virus dat ook koortsuitslag kan veroorzaken. Vanaf plekken met koortsuitslag die zich meestal op de lippen bevinden, kan het via de handen naar de ogen worden overgebracht. Ook is het mogelijk dat iemand besmet wordt door een familielid dat aan koortsuitslag lijdt. Het virus manifesteert zich door streepvormige ontstekingen in het

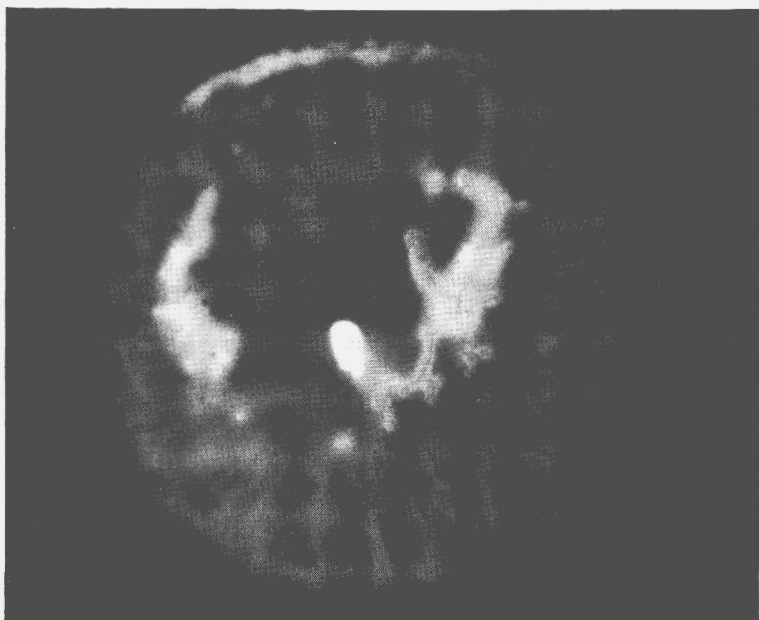


Fig. 13.1. Keratitis dendritica. Besmetting van het hoornvlies van het oog (keratitis) door herpes-simplexvirus. Met een speciale kleuring en belichting zijn de besmette cellen in het hoornvlies zichtbaar gemaakt. De rijen besmette cellen vertakken zich en daaraan dankt de besmetting de naam keratitis dendritica (naar het Griekse woord voor boom = dendros). Deze virusbesmetting kan effectief behandeld worden met een combinatie van interferon en TFT.

Tabel 13.1. *Effect van interferon plus TFT en TFT alleen op partiële helingstijd bij keratitis dendritica.*

Deze studie laat zien dat interferon in combinatie met TFT (trifluorothymidine), een chemisch antiviraal middel, een uitstekende behandeling is voor keratitis dendritica. De partiële helingstijd is de tijd die nodig is om de weefselbeschadiging van het hoornvlies te herstellen. (Gegevens uit onderzoek van dr. Koning en medewerkers.)

<i>TFT + interferon</i>		<i>TFT + placebo</i>	
<i>man (12)</i>	<i>vrouw (8)</i>	<i>man (13)</i>	<i>vrouw (7)</i>
3,2 dagen	3,6 dagen	6,5 dagen	7,0 dagen

oog. Vaak is zo'n streep vertakt, waaraan de ontsteking haar naam, *keratitis dendritica*, dankt naar het Griekse woord *dendros*. Op de streepjes op het hoornvlies zijn vaak kleine zweertjes te zien. Er bestaan op dit moment goede chemische middelen om actue herpes keratitis te behandelen, zoals *trifluorothymidine* en het nieuwe middel *acycloguanosine*. Het gevaar van de herpes keratitis is echter de hoge frequentie waarmee de ziekte recidiveert. Dit maakt het tot een van de meest netelige problemen in de oogheelkunde. Als men eenmaal acute herpes keratitis gehad heeft, bestaat er een kans van 25% om binnen twee jaar opnieuw een dergelijke ontsteking door te maken. Na een tweede aanval is de kans op herhaling zelfs 50%. Bij iedere nieuwe aanval neemt de kans op blijvende stoornissen in het gezichtsvermogen toe. Als de ziekte terugkomt, is de kans dat het gezichtsvermogen op de een of andere wijze vermindert naar schatting 90%. Recidiverend herpes keratitis is de voornaamste oorzaak van blindheid in de Westerse wereld. Men heeft aangetoond dat zowel menselijk alfa- als beta-interferon, mits de preparaten een hele hoge activiteit bezitten, de infecties significant sneller helen en ook de virusuitscheiding gunstig beïnvloeden. Als interferon samen met trifluorothymidine wordt gegeven, worden de toch al goede effecten van trifluorothymidine nog eens extra verhoogd. Er is echter nog in geen enkele studie aangetoond dat interferon in staat is om het recidiveren van herpes keratitis te voorkomen. De oorzaak van het recidiveren is nog niet geheel bekend. Het kan zijn dat het virus onderduikt in de diepere lagen van het hoornvlies. Er is ook een theorie die stelt dat het virus achterblijft in de traanklieren, waardoor het oog via het traanvocht iedere keer weer geïnfecteerd kan worden. Interferon is kennelijk niet in staat om tot deze schuilplaats van het virus door te dringen.

Trigeminus neuralgie

Trigeminus neuralgie of aangezichtspijn, is weliswaar geen virale aandoening, maar virussen kunnen een rol gaan spelen als de ziekte wordt behandeld. Aangezichtspijn wordt gekarakteriseerd door het plotseling optreden van vreselijke pijnen in het gezicht en wel in die gebieden die verzorgd worden door de *nervus trigeminus*, de zenuw die het gevoel verzorgt in het aangezicht. De aanvallen zijn meestal maar van korte duur en worden vaak opgeroepen door een bepaald gedeelte van het gezicht aan te raken of door beweging van de gezichtsspieren. Het is de meest voorkomende vorm van zenuwpijn. De oorzaak is onbekend en men kan bij patiënten die aan deze aanvallen lijden, geen verandering aan de zenuw constateren. De ziekte komt vooral voor op middelbare of oudere leeftijd. Vaak kunnen de aanvallen maanden of jaren wegblijven. De pijn is meestal goed met medicijnen te behandelen.

In gevallen waarin sprake is van ongevoeligheid voor de behandeling met medicijnen kan chirurgisch worden ingegrepen. Deze chirurgische ingreep kan echter leiden tot het opvlammen van een virusinfectie, want de *nervus trigeminus* is de wijkplaats voor het herpes-simplexvirus. Zoals al eerder beschreven, is een typische eigenschap van de herpesvirussen dat ze na de eerste infectie in het lichaam kunnen onderduiken. We weten dat een eerste infectie met herpesvirus in de vroege jeugd moet plaatsvinden. Deze infectie geeft kennelijk bij een eerste infectie geen symptomen of symptomen die niet als zodanig herkend worden. Het virus duikt na zo'n eerste infectie onder in de *nervus trigeminus*. Het kan door allerlei oorzaken in de zenuw wakkergeschud worden en het verplaatst zich dan via de zenuw naar de huid en geeft daar de bekende blaasjes van de koortsuitslag. Als men voor trigeminus neuralgie aan de zenuw geopereerd wordt, treedt bijna in alle gevallen

Tabel 13.2. *Invloed van interferon op herpesinfectie na operatie voor trigeminus neuralgie.* Aangezichtspijn of trigeminus neuralgie kan worden behandeld door een operatie aan de trigeminuszenuw. Door deze operatie wordt in een groot aantal gevallen het in de zenuw latent aanwezige herpes-simplexvirus gereactiveerd, zodat een ernstige ontsteking van de huid van het gezicht kan ontstaan. Deze studie laat zien dat een interferonbehandeling die begonnen is de dag voor de operatie, in staat is deze reactivatie in een aantal gevallen te voorkomen. (Gegevens uit werk van dr. Ho en medewerkers.)

	<i>aantal patiënten</i>	<i>met infectie</i>
interferon	19	9 (47%)
placebo	18	15 (83%)

een ernstige activering van het virus op, waarbij een groot gedeelte van het gezicht door het virus wordt aangedaan.

In een dubbelblinde, placebogecontroleerde studie, verricht door Monte Ho in Pittsburgh, is aangetoond dat mensen die op de nominatie staan geopereerd te worden met een dagelijkse behandeling met vijf miljoen units alfa een significant betere bescherming tegen reactivatie van het herpes-simplexvirus bleken te bezitten. De behandeling diende dan één dag voor de operatie te beginnen en drie dagen erna te eindigen. In zijn studie kwam bij 10 van de 11 placebobehandelde patiënten een reactivatie voor, en bij maar 5 van de 12 patiënten die met interferon waren behandeld.

Gordelroos

Gordelroos is een virusbesmeting van de huid, die meestal voorkomt in het verzorgingsgebied van één gevoelszenuw. Het wordt veroorzaakt door hetzelfde virus dat ook waterpokken op zijn geweten heeft. Nadat het virus bij kinderen waterpokken heeft gegeven, duikt het onder in zenuwknopen en kan daar later door allerlei oorzaken weer opvlammen. Bij kankerpatiënten komt gordelroos vrij vaak voor. Door het kankergezwell wordt de afweer van de patiënt onderdrukt, een effect dat nog eens versterkt wordt door de behandeling van kanker door bestraling of met zware chemotherapeutica. In Amerika is op de Stanford-universiteit door Tom Merigan een groot onderzoek gedaan om te kijken of interferon enig effect had bij gordelroos. Het onderzoek is gedaan bij patiënten die leden aan kanker van het lymfestelsel. Er werd met de behandeling van interferon begonnen binnen 24 uur nadat de eerste blaasjes op de huid waren verschenen. Men stelde de diagnose gordelroos door met immunofluorescentie te kijken of er in

Tabel 13.3. *Effect van interferon bij herpes zoster*. Eerste studie waarbij ondubbelzinnig het antivirale effect van interferon bij de mens werd vastgesteld. Bij deze studie werd bij gordelroospatiënten binnen 24 uur nadat de eerste huidblaasjes verschenen, begonnen met interferontoeiening. De patiënten werden vervolgens vijf dagen lang dagelijks met interferon behandeld. Een dosering van 510×10^3 U per kg lichaamsgewicht per dag, was in staat de verspreiding van de ziekte te verminderen. (Gegevens uit werk van dr. Merigan en medewerkers.)

<i>interferondosering</i>	<i>dagen dat proces zich verspreidde</i>	
	<i>placebo</i>	<i>interferon</i>
$4,2 \times 10^4$ U/kg/dag	2,5	2,7
$1,7 \times 10^5$ U/kg/dag	3,0	2,8
$5,1 \times 10^5$ U/kg/dag	3,9	1,6

Groepen van 15 patiënten.

Verschil bij $5,1 \times 10^5$ U/kg statistisch significant.

cellen, verkregen uit de eerste blaasjes, herpes-zostervirus kon worden aangetoond. Was dat het geval, dan werd met interferon-behandeling begonnen. Een van de studies van Tom Merigan was een dubbelblinde, placebogecontroleerde studie bij patiënten waarbij het herpes-zostervirus maar in één dermatoom gelokaliseerd was. In die studie werden 45 patiënten behandeld met interferon en 45 met het placebomiddel. De patiënten werden de eerste zeven dagen behandeld met drie verschillende doseringen: 40000, 170000 of 500000 units/kg per dag. Bij de patiënten die de hoogste doseringen interferon kregen, breidde de aandoening zich niet verder uit over de huid. Bij de middelste dosering nam de uitbreiding duidelijk af. Bij maar één van de 45 met interferon behandelde patiënten breidde de besmetting zich uit over inwendige organen, tegen zes van de 45 met placebo behandelde patiënten. De pijn van de gordelroos, die vaak heel ernstig kan zijn en met de medische term *postherpetische neuralgie* wordt aangeduid, was duidelijk gereduceerd in de groepen die de hoogste en de middelste interferondosering kregen. Deze studie van Tom Merigan was de eerste dubbelblinde, placebogecontroleerde studie waarbij de antivirale werking van interferon werd aangetoond. Als in de toekomst meer interferon beschikbaar komt, is dit zeker een van de aandoeningen waarbij interferon op grote schaal zal worden ingezet.

Niertransplantatie

Het gebruiken van interferon bij niertransplantatiepatiënten heeft mijn speciale belangstelling, omdat een van mijn onderzoeksprojecten zich op dit gebied heeft afgespeeld. Dank zij de inspanningen van het Rega Instituut in Leuven kwam in 1975 het eerste beta-interferon beschikbaar voor proefnemingen bij de mens. Omdat uit proefdierexperimenten bekend was geworden dat interferon vooral werkzaam was wanneer het ofwel vóór, ofwel in een vroeg stadium van de infectie werd toegediend, werd gezocht naar een mogelijkheid om op die manier interferon ook bij de mens te testen. Niertransplantatiepatiënten worden behandeld met middelen die de eigen afweer remmen, om te voorkomen dat de getransplanteerde nier wordt afgestoten. Door deze immuunsuppressieve therapie zijn deze patiënten erg vatbaar voor virusinfecties. De eerste drie maanden na transplantatie kunnen bij bijna alle patiënten één of meer virusziekten worden vastgesteld en bij 10% van de patiënten is zo'n ziekte levensbedreigend of zo ernstig dat met de immuunsuppressie moet worden gestopt. Dit heeft dan tot gevolg dat de patiënt zijn getransplanteerde nier kwijtraakt, waardoor de transplantatie in feite op een mislukking uitdraait.

Omdat in die tijd maar weinig beta-interferon beschikbaar was en dit een patiëntengroep was die in een betrekkelijk korte tijd vele infecties kreeg, leek het een ideale groep om met menselijk interferon te behandelen. We besloten in een dubbelblinde, placebogecontroleerde studie de patiënten te behandelen met tweemaal per week drie miljoen units. Dit was een dosering die volgens interferondeskundigen voldoende moest zijn om bij een mens een aantoonbare antivirale activiteit op te wekken. Achteraf gezien bleek deze uitspraak echter gebaseerd te zijn op één enkel experimentje met twee apen.

Het idee om niertransplantatiepatiënten te nemen als onderzoeksgroep kwam van dr. Willem Weimar, die ook het meeste werk in dit onderzoek heeft verricht. Een prestatie die men niet moet onderschatten als men ziet onder welke omstandigheden zo'n transplantatie wordt uitgevoerd.

Patiënten met een gestoorde nierfunctie worden enkele keren per week opgenomen in een dialysecentrum, waar de schadelijke stoffen uit hun bloed worden gespoeld. Uit heel Europa worden de gegevens van diegenen die een niertransplantatie willen en kunnen ondergaan, in een centrale computer in Leiden bij Eurotransplant opgeslagen. Als een niertransplantaat beschikbaar komt (meestal van een slachtoffer van een verkeersongeluk dat zodanig letsel heeft opgelopen dat de hersenen niet meer functioneren), wordt door de computer van Eurotransplant de meest geschikte nierpatiënt in Europa opgezocht. In vliegende haast wordt de nier dan vaak per speciaal vliegtuig overgebracht naar het ziekenhuis van de uitgekozen patiënt, waar dan binnen enkele uren de transplantatie plaatsvindt. Een van de praktische problemen van deze onderzoeksgroep was het feit dat slechts een paar uur van tevoren bekend was wie de volgende patiënt was die in het onderzoek opgenomen zou kunnen worden. Transplantaties gebeuren vaak onder hoogspanning. Terwijl in de achtertuin van het ziekenhuis de helikopter met de te transplanteren nier landt, stopt aan de voordeur de politieauto met de patiënt, die ergens van zijn vakantieadres op Terschelling moest worden weggehaald! Het is geen geringe opgave om tijdens zo'n actie, waarbij tientallen mensen betrokken zijn, bloed te krijgen om uitgangswaarden van de patiënt te kunnen bepalen, zonder welke een effect van interferon nauwelijks is vast te stellen. Bovendien moet dan ook nog de behandelend arts ervan overtuigd worden dat interferon, een stof waarvan in 1975 nog nooit iemand had gehoord, moet worden ingespoten. Na ongeveer een jaar waren er 16 patiënten in het experiment opgenomen, waarvan er acht waren behandeld met het beta-interferon en acht met het controlepreparaat. De resultaten waren on-

danks alle inspanning negatief. Bij de acht met het controlepreparaat behandelde patiënten werden negen virusinfecties vastgesteld, bij de acht met interferon behandelde patiënten tien. Twee virusinfecties die door de behandelende artsen als levensbedreigend werden beschouwd kwamen beide voor in de met interferon behandelde groep.

Er zijn verschillende verklaringen mogelijk voor deze resultaten. Niertransplantatiepatiënten hebben een gestoorde eigen afweer en misschien is voor het goed functioneren van interferon een normaal afweerstelsel noodzakelijk. In proefdieren was echter waargenomen dat behandeling met immuunsuppressiva geen invloed had op de antivirale effecten van interferon. De dosering van tweemaal per week drie miljoen units kan te laag zijn geweest. Bij resusapen en ook in de tot nu gepubliceerde proeven bij de mens waarbij een antiviraal effect van interferon werd aangetoond, werd met aanmerkelijk grotere hoeveelheden interferon gewerkt. Misschien ook is het beta-interferon niet zo actief. Bij een soortgelijke proef met interferon bij niertransplantatiepatiënten, die op de Harvard-universiteit werd uitgevoerd, waarbij eenzelfde hoeveelheid interferon werd toegediend maar dan van het alfatype, werd een, zij het marginaal, effect aangetoond. Niertransplantatiepatiënten blijven een interessant model om de antivirale activiteit van interferon aan te toetsen en de Rotterdamse proef (zie blz. 180) zou eigenlijk moeten worden herhaald met hogere doseringen.

Chronische hepatitis-B-virusinfecties

Er zijn patiënten met een afweerapparaat dat na besmetting door hepatitis-B-virus, niet in staat zijn dit virus uit het lichaam te verwijderen. Bij deze patiënten nestelt het virus zich voor altijd in de lever, waarbij de levercellen chronisch virus produceren. De gevolgen hiervan zijn dat het virus en virusonderdelen in het bloed verschijnen. Op grond daarvan wordt ook vastgesteld of iemand chronisch met het virus is besmet. Door de voortdurende besmetting van de lever kan ook een chronische leverontsteking optreden die zo ernstig kan zijn dat de hele lever op den duur wordt vervangen door bindweefsel, de zgn. *levercirrhose*. Ook is er een onweerlegbaar verband tussen chronische besmetting met hepatitis-B-virus en het ontstaan van leverkanker.

De chronische dragers van het virus, wier bloed voortdurend besmettelijk virus bevat, zijn de voornaamste bron van infecties. Er wordt geschat dat er op de wereld zo'n 200 miljoen chronische dragers van hepatitis-B-virus zijn. In grote gebieden van de wereld, in Afrika en in Azië, waar de ziekte endemisch voorkomt en

een van de belangrijkste infectieziektes is, kan wel 10% van de bevolking chronisch drager zijn.

Er wordt op dit moment hard gewerkt aan een vaccin tegen hepatitis-B-virus, maar dat zal alleen van nut zijn voor mensen die nog niet met dit virus zijn geïnfecteerd. Voor de chronische dragers komt het vaccin te laat. Er wordt dan ook naarstig gezocht naar een antiviraal middel om chronische dragers te behandelen. Dat is van belang voor de chronische dragers, omdat die dan niet meer de kans lopen dat hun lever onherstelbaar beschadigd wordt, maar het is ook belangrijk voor de volksgezondheid omdat de belangrijkste infectiebronnen zo worden uitgeschakeld. Het lag dan ook voor de hand om interferon als antiviraal middel te beproeven bij deze chronische virusbesmetting. Bovendien zou het onderzoek naar de wijze waarop interferon bij chronische HBV-infecties kan worden gebruikt, belangrijke kennis kunnen opleveren voor het gebruik van interferon bij kanker. Er bestaat een analogie tussen de chronisch met hepatitis-B-virus besmette levercel en allerlei soorten kankervirussen die bij proefdieren voorkomen. Daarbij is het genetisch materiaal van het virus terechtgekomen in het genetisch materiaal van de gastheercellen. Tijdens de chronische besmetting met hepatitis-B-virus wordt door het virus geen interferon geïnduceerd en lijkt interferontoepassing dus logischer dan bij chronische infecties waarbij het virus zelf al hoge interferontiters geeft. En omdat bij chronische hepatitis-B-infecties het virus of delen ervan in het bloed verschijnen en een weerspiegeling zijn van de virusgroei in de lever, kan door meting van deze parameters in het bloed gemakkelijk worden gecontroleerd in hoeverre een antivirale therapie effect heeft.

Het enthousiasme was dan ook groot toen eerst Tom Merigan uit Amerika, die patiënten behandeld had met alfa-interferon, en vervolgens Jan Desmijter uit België, die patiënten behandeld had met beta-interferon, meldden dat een antiviraal effect bij hepatitis-B-virus was waargenomen. Beiden hadden hun onderzoek echter verricht met een klein aantal patiënten zonder dat er controlepatiënten in het onderzoek waren opgenomen. Chronische hepatitis heeft van nature een zeer wisselend verloop en vooral bij dit soort ziekten is het van groot belang dat er een dubbelblinde, placebogecontroleerde studie plaatsvindt, zodat zoveel mogelijk storende factoren die het resultaat kunnen beïnvloeden worden buitengesloten.

In het Dijkzigt Ziekenhuis in Rotterdam is onder leiding van dr. Willem Weimar zo'n dubbelblinde, placebogecontroleerde, studie gedaan bij chronische hepatitis. Hij gaf zijn patiënten in de eerste week 12 miljoen units per dag. De week daarop werd de dagelijkse

dosis gehalveerd en evenzo iedere volgende week. Het onderzoek duurde zes weken. Bij de met interferon behandelde patiënten vond gedurende de eerste dagen van de eerste week een duidelijke daling van virusenzym in het bloed plaats. Later in de week begon dit gehalte weer te stijgen om in de volgende weken, ondanks de interferonbehandeling, tot een 'normale' waarde terug te keren. De conclusie uit dit onderzoek was in ieder geval dat het weinig zin had om patiënten langdurig met hoge doses interferon te behandelen in de hoop het virus uit het lichaam te kunnen verwijderen. In deze studie viel mij op dat er een relatie lijkt te bestaan tussen de koorts die door interferon teweeg wordt gebracht en het effect op het virusenzym. Koortsreacties op interferon treden alleen na de eerste injecties op. Bij een voortgezette behandeling verdwijnen ze weer spoedig. Bij temperaturen boven de 37°C is de groei van de meeste virussen geremd. Met dit temperatuureffect moet bij de verklaring in ieder geval rekening worden gehouden. De studie leverde voor dit effect nog een tweede argument op. Omdat we graag wilden weten wat het effect van interferon is op de antilichaamproductie bij de mens besloten we de proefpersonen met een vreemd virus, in dit geval het paarde-influenzavirus, te vaccineren. Het vaccin gaf én in de controle én in de met interferon behandelde patiënten gedurende enkele uren aanleiding tot hoge koorts. In die periode werd zowel bij de met interferon behandelde patiënten alsook bij de controlepatiënten vastgesteld dat er een daling optrad in het virusenzym. Zou het zo kunnen zijn dat het effect van interferon op chronische dragers van hepatitis-B-virus niet het gevolg is van de virusremming door interferon zelf, maar door de temperatuurstijging die door interferon veroorzaakt wordt? De laatste tijd komen er berichten uit de Verenigde Staten dat een combinatie van interferon en Ara-AMP, een chemisch antiviraal middel, bij een aantal chronische dragers het virus volledig heeft geëlimineerd.

Andere chronische virusziekten

Een bijzondere vorm van chronische virusbesmetting zijn de zgn. *slow viruses*. Dit type virus wordt gekenmerkt door het zeer lange tijdsinterval tussen de besmetting en het begin van de verschijnselen. Soms bedraagt de incubatietijd wel 20 tot 30 jaar. Slow virussen kan men in twee groepen onderscheiden: de groep bizarre en de groep gewone virussen. Ze zijn op de een of andere manier in staat om aan het afweerapparaat van een organisme te ontsnappen. Het schoolvoorbeeld van een bizar virus is het Kuru-Kuruvirus. Het kan het centrale zenuwstelsel binnendringen en tot vroegtijdige dementie en de dood leiden. De ziekte komt alleen voor bij

bepaalde stammen in het hoogland van Nieuw-Guinea en alleen bij de vrouwen en kinderen van die stammen. Waarom het virus zich tot deze groepen beperkt, hangt sterk samen met hun 'culinaire' gewoonte. Het is bij deze stammen de gewoonte dat vrouwen en kinderen de organen van overleden familieleden consumeren waarbij vooral de hersenen zeer in trek zijn. Het zijn juist die hersenen die het Kuru-Kuruvirus bevatten. Het kan van 4 tot 20 jaar duren voor de ziekte zich manifesteert.

Een voorbeeld van een slow-virusinfectie waarbij een 'normaal' virus in het spel is, is de *subacute scleroserende panencefalitis*, meestal afgekort met *SSPE*. Deze ziekte komt voor bij kinderen en jonge volwassenen. Ook bij deze ziekte worden de hersenen aangetast met als eerste symptomen de aftakeling van de intellectuele functies, gevolgd door dementie en tenslotte de dood. De ziekte wordt zeer waarschijnlijk veroorzaakt door het mazelenvirus. Kennelijk ontstaat de ziekte bij die patiënten die niet in staat zijn na een infectie met mazelen het virus volledig uit hun lichaam te verwijderen.

Een andere ziekte die wel met mazelen in verband wordt gebracht is *multiple sclerose*. Bij patiënten die aan deze ziekte lijden, zijn vaak hoge antilichaamtiters tegen mazelenvirus aantoonbaar. Het is een ziekte die vooral optreedt bij jonge volwassenen en gekenmerkt wordt door *demyelinisatie* van het zenuwweefsel. De myelinescheden omhullen de zenuwen en spelen een essentiële rol bij de prikkelgeleiding. De ziekte begint meestal met zwakke stoornissen van het zenuwstelsel, zoals dubbelzien, duizeligheid, tintelingen in armen en benen en krachtverlies. Zij heeft een zeer wisselend verloop, de patiënt kan na een eerste aanval van multiple sclerose soms wel 20 jaar symptomvrij blijven. De meeste mensen leven na het begin van de ziekte nog zo'n 25 jaar. Multiple sclerose is nog niet te behandelen. Er komen weliswaar steeds meldingen van nieuwe medicijnen, maar omdat de ziekte zo ontzettend wisselend kan verlopen is het erg moeilijk om de waarde van deze middelen ondubbelzinnig vast te stellen. Men kan dit eigenlijk alleen maar doen in goed opgezette grote dubbelblinde, placebogecontroleerde, studies.

Het lag voor de hand dat ook het effect van interferon bij deze ziekte zou worden nagegaan, omdat er geen behandeling voor is en er een virusinfectie in het spel lijkt te zijn. Eind 1981 is een dubbelblinde studie gepubliceerd waarbij patiënten werden behandeld met interferon in het ruggemergkanaal. Het aantal aanvallen in de met interferon behandelde groep was significant afgenomen in vergelijking met controlepatiënten. Zoals gezegd, men moet vooral niet te vroeg juichen dat er nu een behandeling voor multiple

sclerose bestaat. Maar de aanwijzingen dat interferon een positieve uitwerking heeft zijn van dien aard dat meer onderzoek op dit terrein gerechtvaardigd lijkt.

Interferon en de behandeling van kanker bij de mens

Voorop op dit gebied heeft het grote tekort aan interferon zich pijnlijk doen voelen. Om het effect bij kanker te bestuderen zijn zeer langdurige behandelingen nodig die gigantische hoeveelheden interferon vereisen, wil men goede gecontroleerde studies uitvoeren. Wat interferon betreft, men is dan ook bij lange na nog niet in staat geweest de verschillende fasen te doorlopen die gebruikelijk zijn bij het testen van nieuwe middelen tegen kanker. Nadat van een nieuw middel het effect en de eventuele schadelijkheid bij proefdieren is vastgesteld volgt de zgn. *fase-I-studie* bij de mens. Bij een standaard fase-I-studie worden patiënten met steeds oplopende doseringen van een nieuw middel behandeld tot een dosering wordt bereikt die de patiënt niet meer verdraagt. Bij een fase-I-studie let men alleen op de bijwerkingen van het middel en niet op het eventuele effect op tumoren. Dat gebeurt in een *fase-II-studie*. Wordt een dergelijk effect vastgesteld, dan gaat men over op *fase-III* en wordt het middel, liefst in een dubbelblinde gecontroleerde studie, vergeleken met de tot dan toe beste behandelingsmethode van een bepaalde tumor. In een *fase-IV-studie* wordt tenslotte nagegaan of het nieuwe middel gecombineerd kan worden met al bestaande behandelingen.

Het meeste interferon dat tot nu toe bij kankerpatiënten is uitgeprobeerd is het alfa-interferon, veelal afkomstig uit Helsinki, waar het door Kari Cantell uit buffy coats wordt geëxtraheerd. Met dit interferon is men in de fase-II blijven steken, omdat niet genoeg materiaal beschikbaar was om tot fase-III over te gaan. Ernst Falcoff was in 1966 de eerste die het effect van interferon op kanker bestudeerde. Hij gebruikte interferon dat verkregen was uit leukocyten en bindweefselcellen, dus alfa- en beta-interferon,

Tabel 13.4. Fasen in de studies van nieuwe geneesmiddelen bij patiënten.

<i>Fase I</i>	Bepalen van de eventuele bijwerkingen van het nieuwe middel en welke doseringen worden getolereerd.
<i>Fase II</i>	Vaststellen bij welke ziekten het nieuwe middel effect heeft.
<i>Fase III</i>	Het vergelijken in een dubbelblinde gerandomiseerde studie van het nieuwe middel met de tot dan toe beste behandeling.
<i>Fase IV</i>	Vaststellen of het nieuwe middel gecombineerd kan worden met andere middelen of behandelingswijzen.

en behandelde daarmee gedurende langere tijd 18 patiënten met acute leukemie. Het interferon dat hij gebruikte was nogal onzuiver en niet erg actief. Ook was de studie niet gecontroleerd. Falcoff kon alleen maar concluderen dat de behandeling een gunstige indruk gaf.

Het heeft lang geduurd voordat er een tweede soortgelijke studie werd verricht. In 1971 startte Hans Strander een studie naar het effect van interferon bij osteosarcoompatiënten. Het is deze studie geweest die anderen tot studies bij kanker hebben geïnspireerd en die de hoop hebben doen ontstaan dat interferon een rol zou kunnen gaan spelen bij de bestrijding van bepaalde vormen van kanker.

Osteosarcomen

Osteosarcoom is een kwaadaardige woekering van het bot. Het is een tumor die meer bij mannen dan bij vrouwen voorkomt en die vooral optreedt tussen het 10e en 20e levensjaar wanneer de sterkste botgroei plaatsvindt. De tumor uit zich door pijn, zwelling en soms door spontane botbreuk. Het zijn vooral de beenderen onder en boven de knie die door deze tumor worden aangeast. De behandelingsmogelijkheden zijn beperkt. Vaak moet tot amputatie van het been worden overgegaan. Ondanks de operatie is het vooruitzicht voor de meeste patiënten niet goed. Na een of twee jaar overlijden de meeste patiënten aan uitzaaiingen in de longen. Blijkbaar komt het moment waarop de tumor ontdekt en verwijderd wordt te laat en zijn uit de tumor al cellen losgelaten die zich in de longen genesteld hebben. Vaak probeert men na de operatie deze kankercellen kwijt te raken door de patiënt te behandelen met chemische middelen. Een dergelijke behandeling, die wordt aangeduid als *adjuvanttherapie*, heeft bij osteosarcoompatiënten meestal weinig effect.

In 1971 besloot Hans Strander te proberen of hij met interferon iets voor dit soort patiënten kon doen. In Helsinki had hij Cantell geholpen met het opzetten van zijn produktie van alfa-interferon en hij kon langs deze weg beschikken over die hoeveelheden interferon die voor betrouwbare kankerstudies noodzakelijk zijn. Hans Strander heeft vanaf 1971 iedere patiënt die zich in het Karolinska Ziekenhuis in Stockholm aandiende met een osteosarcoom dat operatief verwijderd kon worden en nog niet was uitgezaaid, behandeld met interferon. Onmiddellijk nadat de tumor operatief was verwijderd, behandelde hij de patiënt een maand lang met drie miljoen units per dag. Daarna kregen de patiënten 17 maanden lang drie keer in de week drie miljoen units. Om de resultaten van interferon te toetsen heeft Strander zijn patiënten

vergeleken met twee controlegroepen. De ene controlegroep bevatte de zgn. historische controles, dat waren alle patiënten die tussen 1952 en 1971 in het Karolinska Ziekenhuis voor osteosarcoom waren behandeld. Vergeleken met deze groep leefden de interferonpatiënten aanzienlijk langer en bleven ze ook langer vrij van uitzaaiingen. Door een aantal in deze ziekte gespecialiseerde centra in de wereld is echter vastgesteld dat door nog onbekende oorzaken de overleving van osteosarcoompatiënten in de tijd is toegenomen. Als dat zo is, wordt het nut van historische controlegroepen, die toch al moeilijk interpreteerbare resultaten geven, twijfelachtig. Strander heeft zijn resultaten evenwel ook vergeleken met de resultaten van patiënten die elders in Zweden in diezelfde tijd voor osteosarcoom werden behandeld. Deze patiënten werden meestal na hun operatie behandeld met chemische anti-kankermiddelen. Vergeleken met deze groep doen de patiënten van Strander het significant beter wat betreft overleving en kans op uitzaaiing. Tegen de tweede controlegroep kan men ook bezwaren aanvoeren, omdat er allerlei verschillen kunnen bestaan tussen patiënten uit Stockholm en patiënten uit de rest van Zweden. De enig juiste manier voor Strander om aan te tonen dat zijn behandeling beter is, is een *gerandomiseerde trial*, waarbij patiënten die zich in het Karolinska Ziekenhuis melden met een osteosarcoom, aselekt worden verdeeld in twee groepen, waarna de ene groep wordt behandeld met interferon en de andere met de beste alternatieve behandelingsmethode.

Maar zelfs al zou uit zo'n studie blijken dat interferon even goed is als de behandeling met cytostatica zoals methotrexaat, verdient de behandeling met interferon toch de voorkeur, omdat het minder bijwerkingen geeft en de patiënten voor de behandeling niet in het ziekenhuis hoeven te worden opgenomen, hetgeen bij behandeling met methotrexaat wel het geval is. Er zijn patiënten van Hans Strander die zich net zoals diabetici zelf met interferon inspuiten. De waarde van deze studie is ook geweest dat Strander heeft aangetoond dat lange behandelingen met interferon mogelijk zijn zonder dat er sprake is van blijvende bijwerkingen. Bovendien bleken de patiënten van Strander beschermd te zijn tegen virusinfecties. De frequentie van virusbesmetting bij de met interferon behandelde patiënten werd vergeleken met het aantal ziekten die de familieleden opliepen. Het aantal virusziekten dat de patiënten opgaven bleek beduidend kleiner te zijn. Men kan nu wel constateren dat zonder de studie van Hans Strander andere studies naar het effect van interferon op kanker bij de mens nooit waren gestart.

Multiple myeloom

Multiple myeloom is een tumor die ontstaat door woekering van B-lymfocyten, ook wel plasmacellen die de antilichamen produceren. De tumor komt vooral voor in botten die rijk zijn aan beenmerg (waar de bloedvorming plaatsvindt), zoals de ruggewervels, het bekken, de ribben en de schedel. Deze tumor treedt vooral op als men ouder is dan 60 jaar en komt bij vrouwen evenveel voor als bij mannen. De ziekte begint meestal met vage klachten zoals algehele malaise, gewichtsverlies en verminderde eetlust. Men wijt deze symptomen wel aan de hoge calciumspiegel in het bloed die veroorzaakt wordt door de botafbraak, die optreedt als de tumor gaat uitgroeien. Meestal komen deze patiënten bij de arts met klachten over botpijn, soms ook omdat ribben of wervels spontaan zijn gebroken. In het laatste geval kunnen de zenuwen bekneld raken, waardoor verlammingen optreden. Omdat de woekerende B-lymfocyten meestal nog gewoon in staat zijn antilichamen te produceren, vinden we in het bloed en de urine van deze patiënten hele hoge concentraties antilichamen of stoffen waaruit de antilichamen zijn opgebouwd. De normale behandeling van multiple myeloom bestaat uit bestraling van het bot waarin de tumor zich bevindt en uit chemotherapie.

Ook bij deze ziekte heeft men in het Karolinska Ziekenhuis het effect van interferon bestudeerd. De voornaamste beweegreden om juist deze tumor te kiezen, was het feit dat door het nauwkeurig volgen van de bloed- en urinespiegels van de door de tumorcellen geproduceerde antilichamen, de ontwikkeling van de ziekte nauwkeurig kan worden gevolgd. Bij de eerste vier patiënten werd een gehele of gedeeltelijke onderdrukking van de tumor gevonden. In de studie die daarop volgde werd hetzelfde gevonden bij zeven van de acht patiënten die tevoren niet waren behandeld en die een gemiddelde tumormassa hadden. Geen effecten werden geconstateerd bij vier eveneens onbehandelde patiënten die echter een hoge tumormassa hadden. Een gedeeltelijke onderdrukking trad op bij vier patiënten die eerder waren behandeld met chemotherapie. Uit deze studie zou men dus kunnen besluiten dat het effect van interferon beter is bij lagere tumormassa. Dit verband wordt door ander onderzoek bevestigd.

In een studie over multiple myeloom, uitgevoerd onder de verantwoordelijkheid van de American Cancer Society in de Verenigde Staten, werd maar bij vier van de veertien patiënten een effect gevonden. Er wordt wel gesuggereerd dat deze teleurstellende resultaten het gevolg waren van een verlies in activiteit dat in sommige zendingen interferon was opgetreden.

Juveniel larynxpapilloom

Het juveniel larynxpapilloom is een wratachtige tumor rondom de stembanden, die in principe niet kwaadaardig is. Door de ongelukkige plaats kan zo'n tumor vaak aanzienlijke problemen ge-

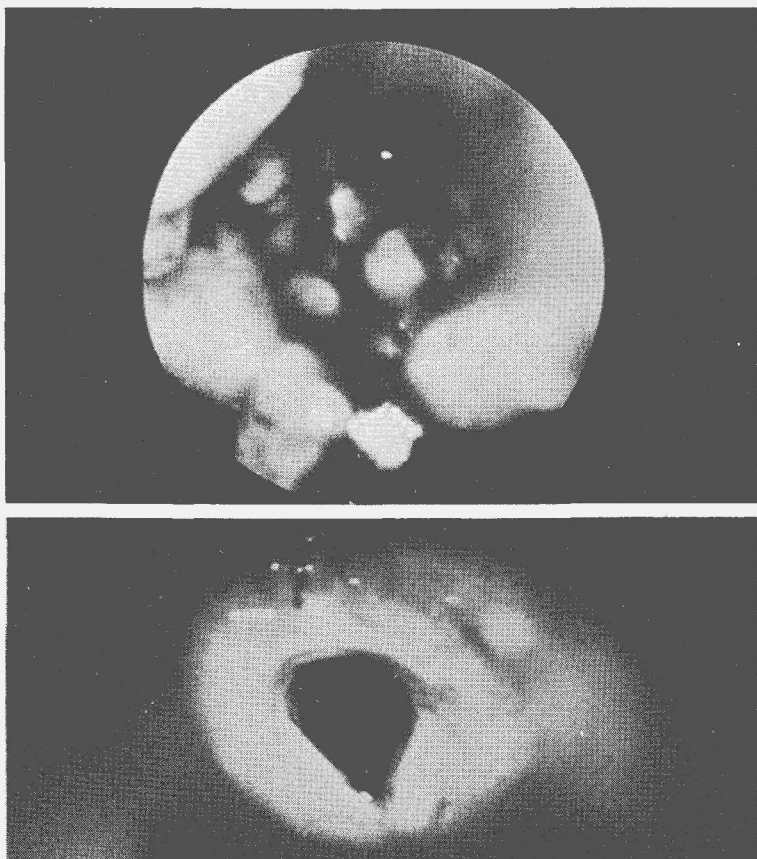


Fig. 13.2. Juvenile larynxpapilloom behandeld met interferon. Juvenile larynxpapilloom is een wratachtige aandoening van de stembanden die bij kinderen voorkomt en waarbij interferonbehandeling vaak dramatische resultaten geeft. Boven een foto van de luchtpijp van een kind met deze aandoening. De hele luchtpijp is volledig dichtgegroeid met papillomen. Het kind kon niet praten en moest ademen door een kunstmatige opening in de luchtpijp. Onder een foto van hetzelfde gebied enkele maanden nadat met interferonbehandeling was begonnen. Er is nauwelijks nog iets van de afwijking te zien. De stembanden zijn weer normaal zichtbaar en bruikbaar en het kind kan weer normaal ademhalen.

ven. Het is een afwijking, die eigenlijk alleen bij kinderen voorkomt. Als ze voor het eerste levensjaar begint, loopt het vaak slecht af omdat de patiëntjes overgevoelig zijn voor infecties. Papillomen kunnen de luchtweg afsluiten, zodat een gat in de luchtpijp moet worden gemaakt om de patiëntjes te laten ademen. De spraak van de kinderen is ook vaak aangetast. Als oorzaak van de ziekte denkt men aan een virus. Met de elektronenmicroscopie is in de papillomen een virus aangetoond. Er bestaat geen gerichte behandeling voor deze tumor. Als de papillomen problemen geven, kan men ze chirurgisch of met laserstralen verwijderen. Dit helpt maar even, omdat de tumoren steeds terugkeren. Er zijn kinderen die wel zo'n 200 tot 300 maal in hun leven zijn geopereerd. Men kan zich voorstellen dat dit voor een kind ook psychisch een zeer grote belasting is. Vaak verdwijnt de ziekte vanzelf als de kinderen hun puberteit bereiken. Interferonbehandeling is bij deze ziekte uitermate succesvol gebleken. Bij alle kinderen die tot nu toe in Nederland, Duitsland en Zweden met interferon zijn behandeld, verdwenen de papillomen binnen enkele maanden. Bij de meeste kinderen kon het gat in de luchtpijp worden gedicht en keerde het spraakvermogen terug. Het effect van interferon is zo indrukwekkend dat ondanks het ontbreken van dubbelblinde, gecontroleerde studies bij deze ziekte, iedereen ervan overtuigd is dat interferon hier werkt. In Nederland heeft de Ziekenfondsraad besloten dat voor deze ziekte interferon mag worden toegepast. Het is de eerste officiële erkenning van interferon als geneesmiddel, al is van genezing in strikte zin geen sprake. De behandeling moet worden voortgezet. Stopt men, dan keren ook de papillomen terug. Men hoopt nu dat het voldoende is om tot de puberteit door te gaan, waarna de tumoren uit zichzelf zouden verdwijnen.

Recombinant-DNA-interferon

Behalve bij genoemde tumoren is interferon toegepast bij de behandeling van *lymfomen* (tumoren van het lymfeklierweefsel, waartoe ook de ziekte van Hodgkin behoort), bij leukemie, bij longkanker, bij uitgezaaide borstkanker, bij hersentumoren en bij nog verschillende andere soorten kanker. Bij al deze studies werd wel enig effect van interferon geconstateerd, maar de studies waren nooit gecontroleerd en betroffen meestal kleine groepjes patiënten. De grote hoeveelheden interferon die nodig zijn om betrouwbare studies van voldoende omvang bij kanker te kunnen doen, kunnen alleen worden gefabriceerd met de recombinant-DNA-methode. Er zijn op dit moment een flink aantal laboratoria

die kunnen beschikken over micro-organismen, waarin de genen voor de verschillende typen en subtypen menselijk interferon zijn ingebouwd en die interferon produceren. Nu kunnen dan ook eindelijk de officiële testen worden gedaan die noodzakelijk zijn om interferon als geneesmiddel aanvaard te krijgen. Uit toxiciteitsproeven met proefdieren is gebleken dat recombinant-DNA-interferon geen onverwachte bijwerkingen heeft. Ook de eerste fase-I-studies met menselijk alfa-interferon bij de mens zijn gedaan. In Nederland is de eerste fase-I-studie met recombinant-DNA-interferon in Europa (alfa-2-interferon, geproduceerd door Schering Plough-Biogen) verricht. Deze studie is uitgevoerd door Mark Edelstein van het Rotterdamsch Radiotherapeutisch Instituut bij tumorpatiënten, waarbij patiënten met tumoren aan de bloedvormende organen waren uitgesloten. Interferon heeft een effect op de bloedvorming, en men wilde patiënten hebben waarbij deze bloedvorming ongestoord verliep. Andere criteria waaraan de patiënten moesten voldoen waren dat ze nog een levensverwachting moesten hebben van minstens vier maanden, geen verschijnselen mochten hebben van andere ernstige ziekten en geen medicijnen gebruikten die met de werking van interferon konden interfereren. Ze mochten niet zijn bestraald, niet met chemische middelen zijn behandeld gedurende vier weken voorafgaande aan het onderzoek en geen extreme afwijkende waarden hebben in de bloedvorming. Zo waren er nog een aantal criteria. Uiteraard moesten ze toestemming geven om in de proef opgenomen te worden. De patiënten kregen één injectie met steeds oplopende doseringen, dit om te bepalen wat de maximale dosering was die de patiënt kon tolereren.

In de oorspronkelijke opzet werd begonnen met 300000 eenheden en vervolgens 1 miljoen, 3 miljoen, 10 miljoen, 50 miljoen, 100 miljoen, tot de maximale dosering van 200 miljoen eenheden. Om de week werden vier patiënten bij de studie betrokken, waarvan er drie de voor die week vastgestelde dosering kregen en één van de vier als controle 10000 eenheden kreeg. De behandelende arts wist niet welke van de vier patiënten deze lage dosering kreeg om te controleren welke van de bijwerkingen door welke interferon-dosering werd veroorzaakt. Tot en met de dosering van 3 miljoen eenheden waren er weinig problemen, bij 10 miljoen eenheden voelden de patiënten zich ziek en kregen koorts. Daarom werd besloten de voor de volgende week vastgestelde 50 miljoen eenheden te verlagen tot 30 miljoen eenheden. Toen de daarop volgende week een dosis van 100 miljoen eenheden werd gegeven, voelden drie van de vier patiënten zich hondsberoerd en hadden hoge koorts. Men besloot te stoppen en de laatste stap met 200 miljoen

eenheden achterwege te laten. Wel werden de volgende week nog drie patiënten met 100 miljoen eenheden behandeld. De maximale tolereerbare dosis van dit recombinant-DNA-interferon blijkt 100 miljoen eenheden te zijn. Bij een aantal patiënten reageerde ook de tumor op de interferonbehandeling, ofschoon het de bedoeling van de studie was om alleen de bijwerkingen van het interferon vast te stellen. Maar de patiënten waarbij een effect werd waargenomen, werden opgenomen in de fase-II-studie, zodat ze volledig konden profiteren van het mogelijk nut van interferon. In de fase-studie wordt vastgesteld welke soort tumoren gevoelig zijn voor dit type interferon.

Ongeveer gelijktijdig met bovengenoemd onderzoek liep in de Verenigde Staten in Houston en in Stanford een studie waaraan 24 kankerpatiënten deelnamen met hetzelfde subtype interferon, gemaakt in *E. coli*. De studie was enigszins anders van opzet. Met tussenpozen van drie tot vier dagen werden daar aan één patiënt van 3 tot 198 miljoen eenheden gegeven. De resultaten waren vergelijkbaar met die in Rotterdam. Ook hier traden de neveneffecten, die vrij indrukwekkend waren, op bij een dosering boven de 10 miljoen eenheden. Bij de helft van de 24 patiënten gaf de tumor een regressie te zien. Wat dit laatste betreft kan de Amerikaanse studie moeilijk met die in Rotterdam worden vergeleken, omdat de Rotterdamse patiënten in plaats van één interferoninjectie wekenlang met interferon werden behandeld. Een opvallend verschijnsel in de Amerikaanse studie was de productie van antilichamen tegen het recombinant-DNA-interferon door een groot deel van de patiënten. Kennelijk wordt het menselijk interferon uit *E. coli*, dat in Amerika wordt gemaakt, door het lichaam als lichaamsvreemd ervaren. Voor de patiënt is dit een zeer gevaarlijke situatie. Men kan zich overigens best voorstellen dat deze antilichamen ook reageren op het natuurlijk interferon en op deze manier de patiënt in staat stellen in ieder geval gedeeltelijk zijn eigen interferonsysteem uit te schakelen. We weten uit studies met proefdieren, bijv. muizen die met anti-muize-interferonserum waren ingespoten, dat deze antilichamen een onschuldige virusinfectie tot een dodelijke aangelegenheid kunnen maken. Tot nu toe zijn in de patiënten die in Rotterdam zijn behandeld met interferon uit een geheel andere bacteriekloon, nog geen antilichamen tegen het ingespoten interferon aangetroffen.

Bijwerkingen van interferonbehandeling bij de mensen

Men heeft lange tijd gemeend dat interferon geen bijwerkingen zou hebben, omdat het een lichaamseigen produkt was. Men hoopte dat de neveneffecten die in de eerste studies aan het licht kwamen, werden veroorzaakt door verontreinigingen. De eerste studies bij de mens met interferon van Cantell werden uitgevoerd met preparaten die maar 1% interferon bevatten. Latere studies, die gedaan zijn met zuiver interferon gemaakt uit buffy coats of via de recombinant-DNA-techniek, hebben aangetoond dat de bijwerkingen wel degelijk een gevolg kunnen zijn van het interferon zélf. Bij bijna elke studie trad koorts op, behalve bij niertransplantatiepatiënten, omdat daar de immuunsuppressieve middelen ook de koorts onderdrukken. Koorts treedt alleen maar op na de eerste injecties. Als de behandeling wordt voortgezet, verdwijnt deze bijwerking meestal. De koorts is vrij gemakkelijk te bestrijden met eenvoudige geneesmiddelen als aspirine.

Een veel gemelde bijwerking is de daling van het aantal witte cellen in het bloed (*leukopenie*). Over het algemeen wordt dat geweten aan de remming van de celdeling in de bloedvormende organen. Leukopenie is echter enkele uren na interferoontoediening al aantoonbaar. Het is niet aannemelijk dat dit het gevolg is van cel-

Tabel 13.5. *Vergelijking antiviraal effect van natuurlijk HuIFN α uit witte bloedcellen en recombinant HuIFN α 2 uit bacteriën in met vacciniavirus besmette resusapen.* In dit experiment werd de antivirale activiteit van beide soorten interferon gemeten bij resusapen besmet met vacciniavirus. Dit virus geeft aanleiding tot de ontwikkeling van poklesies in de huid. Deze ontwikkeling kan worden voorkomen of geremd door menselijk interferon. Het effect van interferon wordt gemeten door zeven dagen na besmetting met het virus de ontstane pokken te screenen op een schaal van 0 tot 4, afhankelijk van grootte en ernst van de pok. 0 wil daarbij zeggen: geen pok ontstaan en complete bescherming; en 4: een compleet ontwikkelde pok en geen bescherming. In de drie toegepaste doseringen gaven beide soorten interferon dezelfde bescherming. Het eerste bewijs dat interferon gemaakt d.m.v. recombinant-DNA-technieken in bacteriën even actief kan zijn in vivo als 'natuurlijk' interferon gemaakt door cellen.

<i>dosis interferon</i>	<i>natuurlijk HuIFN</i>	<i>recombinant HuIFN</i>
500 000 U/kg ⁻¹	0,7	1,2
150 000 U/kg ⁻¹	1,5	1,5
50 000 U/kg ⁻¹	2,2	2,4
Onbehandelde controle	4,0	

Tabel 13.6. Een aantal bijwerkingen van interferon.

Zeer frequent

koorts
pijn op de injectieplaats

Soms

malaise
koude rillingen
vermoeidheid
spierpijn

Zo nu en dan, vooral bij hoge doseringen

lage rugpijn
gewrichtspijn
eetlustverlies
misselijkheid
overgeven
nekstijfheid
trillende handen
bleke handen
verwardheid
pijn achter de ogen

Afwijkingen in het bloed

leukopenie (zeer frequent)
verschijnselen van leverstoornissen (zelden)
antilichamen tegen interferon (zelden)

groeiremming omdat het enkele dagen duurt voordat zo'n remming gevolgen heeft voor de opbouw van het perifere bloed. Waarschijnlijk vindt er een redistributie van de witte bloedcellen plaats vanuit het bloed naar bepaalde organen.

Als men de volledige lijst van bijwerkingen van interferon beziet, dan valt op dat die grote overeenkomst vertoont met die van een flinke griepaanval. De boeiende veronderstelling dient zich hier aan dat de verschijnselen die bij griep optreden wel eens minder het gevolg zouden kunnen zijn van de aanwezigheid van het griepvirus, maar meer van het interferon dat het griepvirus in het lichaam induceert. Overigens is de therapeutische werking van interferon niet altijd onlosmakelijk verbonden met zijn bijwerkingen. In het resusapenmodel dat in het instituut van de auteur wordt gehanteerd voor het testen van menselijke interferonen, blijkt interferon duidelijk een antiviraal effect te hebben zonder dat in de resusaap de bekende bijwerkingen optreden. Het is wellicht mogelijk gewenste en ongewenste effecten van interferon te ontkoppelen. Werking en de bijwerking van interferon hoeven

bijvoorbeeld niet door hetzelfde gedeelte van het interferonmolecuul te worden veroorzaakt. Dit maakt het misschien mogelijk via de recombinant-DNA-techniek een interferonmolecuul te maken dat wel effectief is, maar geen bijwerkingen heeft.

XIV. Epiloog

In 1980, begin 1981 is er veel publiciteit geweest rond interferon. Het werd door een aantal journalisten voorgesteld als een nieuw wondermiddel tegen kanker. Deze publiciteit is vanuit de Verenigde Staten overgewaaid naar Europa. De resultaten die door Hans Strander in het Karolinska Ziekenhuis in Stockholm bereikt waren bij patiënten met osteosarcoom, waren voor een aantal Amerikaanse onderzoekers aanleiding om de American Cancer Society geld te vragen om in Finland interferon aan te kopen. Het was de bedoeling met dit interferon in een aantal centra in Amerika te onderzoeken wat de toepassingsmogelijkheden waren bij kanker. Ze vroegen om interferon voor een redelijk aantal patiënten, maar omdat de produktiemethode vanuit celculturen, die op dat moment nog de enige beschikbare methode was, zo ontzettend arbeidsintensief en kostbaar was, vroegen zij om een nogal groot bedrag. Het verzoek werd door de American Cancer Society ingewilligd. Bovendien werd het bedrag nog eens aangevuld door een gift van het National Cancer Institute van Amerika en door de Amerikaanse vestiging van Shell. De miljoenen dollars die op deze manier waren bijeengebracht was het grootste bedrag dat ooit aan één onderwerp binnen het kankeronderzoek was besteed. Dit feit plus de soms erg tot de verbeelding sprekende eigenschappen van interferon die in dit boek zijn beschreven, hebben een enorme hausse aan publiciteit in de Verenigde Staten veroorzaakt. Ook niet vreemd aan deze ontwikkeling is de opkomende bio-technologische industrie geweest. Op dat moment richtten in de Verenigde Staten een aantal wetenschappers bedrijfjes op, die zich uitsluitend met bio-technologie moesten gaan bezighouden. Het enthousiasme over interferon werd nog eens extra aangewakkerd door de aankondiging dat ze zich allen op de produktie van interferon zouden gaan concentreren. De bedoeling hiervan was meestal het aantrekken van kapitaal om de bedrijven van de grond te krijgen. Als men dan ook nu terugkijkt welke van deze bedrijven er inderdaad zich met interferonproduktie zijn gaan bezighouden, zijn dat er toch niet zoveel.

Een middel dat zo moeilijk was te produceren, dat zo kostbaar was, en waarvoor gevestigde kankerinstellingen, zoals de American Cancer Society en de National Cancer Institute, bereid waren zoveel geld op tafel te leggen en dat kennelijk in een zeer grote belangstelling van de wetenschap en de industrie stond, moest wel



Fig. 14.1. Flash Gordon. De originele Flash-Gordonstrip uit het begin van de jaren '60 laat zien dat al snel na de ontdekking de medische mogelijkheden van interferon werden overschat.

erg sterk tot de verbeelding spreken. Er verschenen grote artikelen in tijdschriften als *Time* en *Life* en zo waaide de belangstelling over naar Europa. Vooral in Engeland en in Duitsland is er in de pers een ware hysterie over interferon ontstaan. Op een paar uitzonderingen na zijn we in Nederland dit gelukkig bespaard gebleven. We hadden het geluk dat rond deze tijd het grote internationale interferoncongres, georganiseerd door TNO, in Nederland werd gehouden. Dat gaf de experts de mogelijkheid zelf een genuanceerd beeld van de situatie te geven. We hebben slechts na rijp beraad met de media samengewerkt. Het is een moeilijk probleem. Aan de ene kant moet je steeds de menselijke problemen in het oog blijven houden. Voor iemand die zelf aan kanker lijdt, is het maar moeilijk te accepteren dat er misschien wel een middel is, maar door allerlei omstandigheden, voornamelijk financiële, niet te verkrijgen is. Men kan dan nog zo'n relativerend beeld van interferon schetsen, toch zal men dan proberen het middel op een of andere manier in handen te krijgen, zelfs al zou de kans 1 op 100000 zijn dat het middel werkt. Bij een uitzichtloze ziekte zal men elke kans om te overleven aangrijpen. Het zou ongewenst zijn geweest om interferon als een volkomen nutteloos middel af te schrijven. Het is nu eenmaal zo dat voor het doen van weten-



Fig. 14.2. Een aantal koppen van artikelen in de pers begin 1981.

schappelijk onderzoek geld nodig is en in het geval van het interferononderzoek veel geld. En wie beslist over het financieren van een wetenschappelijk project moet natuurlijk wel overtuigd zijn dat er aan iets met een zekere toekomst wordt gewerkt.

Onze belangrijkste drijfveer om onze medewerking te verlenen aan de publiciteit, is het feit dat men hierdoor in het algemeen de problemen die zich bij wetenschappelijk onderzoek op het gebied van kanker voordoen, kan verduidelijken. Men kan duidelijk maken dat kanker een verzamelnaam is voor allerlei soorten ziekten, die alleen maar met elkaar gemeen hebben dat ze veroorzaakt worden door de ongeremde groei van een of andere cel, en dat men niet hoeft te verwachten dat er ooit één middel gevonden zal worden dat al deze ziekten kan genezen. Dat dit idee leeft is niet alleen de schuld van bepaalde weekbladen, die hele artikelen wijden aan het Moerman-dieet, Beres-druppels en andere zogenaamde wondermedicijnen. Men kan ook een bestraffende vinger naar het kankeronderzoek zelf opheffen. Men wekt te veel de indruk dat het kankerprobleem wel even opgelost kan worden, als er maar genoeg geld op een bepaald gironummer wordt gestort of in een collectebus gedaan. De werkelijkheid is iets anders. De afgelopen tientallen jaren is er geen werkelijke vooruitgang in de kankerbestrijding en -behandeling geboekt bij de echt veel voorkomende kankersoorten, en we zijn eigenlijk ook geen stap dichterbij de beantwoording van de vraag wat kanker nu precies is. We hebben ook via de publiciteit duidelijk proberen te maken in welke fasen het wetenschappelijk onderzoek verloopt. Als men een vermoeden heeft dat een stof een bepaalde werking heeft, kan men het niet zomaar op de markt brengen of het bij iedereen waarbij het misschien werkt toedienen. De vraag waarom interferon nog niet bij de apotheek te verkrijgen is als het dan zo'n belangrijk anti-kankermiddel is, werd natuurlijk gesteld. Het is echter de verantwoordelijkheid van de wetenschap om bij zorgvuldig uitgekozen patiënten in gerandomiseerde dubbelblinde studies vast te stellen of een middel inderdaad de verwachte werking heeft, en dat men tot die tijd het middel niet zomaar aan patiënten ter beschikking kan stellen, hoe tragisch zijn omstandigheden ook vaak zijn. Op dit moment (1982) gaat men bij de publiciteitsmedia een beetje van het tegenovergestelde uit. Interferon zou maar niks zijn. Men is daarbij bezig de door de journalistiek zelf geschapen draak te bestrijden. Ook dit is een gevaarlijke ontwikkeling. Zoals gezegd, zal het kankerprobleem maar met kleine stappen worden opgelost. Misschien is interferon een van die kleine stappen, en het is de verantwoordelijkheid van de media om mogelijk te maken dat deze stappen ook inderdaad gedaan kunnen worden.

Behalve door de publiciteit wordt op dit moment het interferononderzoek ook nogal beheerst door de farmaceutische industrie. Grote firma's, zoals Schering-Plough of Hoffman la Roche en Shell, hebben veel in interferon geïnvesteerd met de overigens legitieme wens om er straks geld aan te verdienen. Deze vercommercialisering heeft het interferononderzoek stellig beïnvloed. Een jaar of vijf geleden waren er over de wereld zo ongeveer 30 onderzoekers die zich volledig met interferononderzoek bezighielden. Tussen deze wetenschappers bestond een bijzonder hechte relatie en het was de gewoonte om gegevens, cellen, virussen en andere materialen die van belang waren voor het onderzoek niet voor zichzelf te houden maar te delen met de rest van de interferononderzoekers. Deze openheid is echter bij een aantal onderzoekers die voor of met een farmaceutische industrie werken een beetje aan het verwateren.

Deze situatie kan ook een te hoge druk gaan leggen op het verkrijgen van resultaten. Het te vroeg op de markt brengen van een behandeling van een bepaalde ziekte, waarbij men de kans loopt dat bij later onderzoek het toch niet zo waardevol blijkt, kan ernstige gevolgen hebben voor interferon en interferononderzoek. Ongetuigd heeft het geld dat de farmaceutische industrie in het interferononderzoek gestoken heeft de laatste jaren ook een positief effect gehad. Zonder dat geld was men er nooit in geslaagd op zulke snelle wijze interferon uit bacteriën te verkrijgen. Het is op dit gebied dat we de grootste vorderingen in de toekomst van het interferononderzoek verwachten. We kunnen nu elk gewenst type en subtype interferon in elke hoeveelheid die nodig is produceren en door het manipuleren van genen kunnen we nieuwe subtypen interferon ontwikkelen die niet in de natuur voorkomen en die belangrijke biologische effecten kunnen hebben. Deze ontwikkelingen scheppen grote mogelijkheden. Het zal echter jaren van onderzoek vergen, voordat we deze kennis ook daadwerkelijk kunnen gaan toepassen. Het is te hopen dat de farmaceutische industrie en andere financiers van dit soort onderzoek het geduld kunnen opbrengen.

Een interferontype waarvoor veel belangstelling bestaat op dit moment is het menselijke gamma-interferon. Dit interferon wordt gemaakt door T-lymfocyten die behandeld zijn met lectinen of antigenen. In 1965 werd voor het eerst beschreven dat er interferonactiviteit werd waargenomen in weefselkweekvloeistof waarin zich de witte bloedcellen bevonden die met lectinen waren behandeld. Het zou echter jaren duren voordat erkend werd dat men hier met een nieuw type interferon te doen had. Omdat dit interferon door T-cellen gefabriceerd wordt bij bepaalde immuunreacties, is dit

interferon ook wel immuun- of T-cel-interferon genoemd. Het bijzondere aan dit interferon is dat het niet door virussen wordt geïnduceerd, maar alleen door behandeling met andere inductoren en dat dit interferon maar door een heel bepaald soort type cellen werd gefabriceerd. Dit type interferon is in tegenstelling tot het alfa- en beta-interferon niet resistent tegen behandeling met pH2. Het molecuulgewicht van dit interferon wordt geschat op 22000 dalton. Het lijkt erop dat er maar een subtype van dit interferon bestaat. Cellen schijnen een eigen receptor voor dit type interferon te hebben. Op de cel komen dus kennelijk twee soorten interferon-receptoren voor: receptoren voor alfa- en beta-, en receptoren voor gamma-interferon. Gamma-interferon is ook qua antigeen verschillend van de andere typen, dus antilichamen opgewekt tegen gamma-interferon zijn niet in staat om alfa- of beta-interferon te binden en andersom. De belangstelling voor dit type interferon wordt niet zozeer ingegeven door deze verschillen in structuur, maar door de verschillen in biologische activiteit. Er zijn bepaalde studies die erop wijzen dat dit type tien- tot honderdmaal actiever is dan alfa- of beta-interferon. Het heeft een zeer uitgesproken werking op het immuunapparaat, het remt de celdeling en oefent antivirale activiteit uit in uitermate minieme concentraties. Er zijn ook berichten dat gamma-interferon de activiteit van alfa- en beta-interferon potentieert. Zo is een mengsel van alfa- en gamma-interferon veel actiever dan de beide typen apart. Ook oefent gamma-interferon anti-tumoractiviteit uit op cellen die resistent zijn tegen de werking van alfa- en beta-interferon. Men rekent gamma-interferon wel tot de *lymfokinen*. Dat zijn stoffen die door lymfocyten gefabriceerd worden onder allerlei omstandigheden en die betrokken zijn bij de regulering van het afweerapparaat. De grote interesse die voor gamma-interferon bestaat, vindt niet zijn weerslag in de aantallen gedane studies. Dit geldt trouwens voor het hele interferononderzoek. Er zijn op dit moment maar drie studies gepubliceerd over het effect van gam-

Tabel 14.1. Problemen die nog opgelost moeten worden betreffende de toepassing van interferon bij de mens.

-
- Bij welke ziekten heeft toediening zin?
 - Hoe werkt het precies?
 - Moet het lokaal of systemisch worden toegediend?
 - Welke (sub)typen of combinaties zijn het best?
 - Zijn alle patiënten even gevoelig?
 - Hoe veilig is vooral langdurige behandeling?
 - Hoelang, hoeveel, langs welke weg moet het worden toegediend en met welke frequentie?
-

ma-interferon bij proefdieren. Zeer recentelijk kwam uit de Verenigde Staten ook het bericht dat een klein aantal patiënten met dit type interferon waren ingespoten. De aantallen waren echter te klein om te kunnen concluderen of de verwachtingen over dit gamma-interferon inderdaad juist waren. Ook dit type interferon wordt op dit moment via de recombinant-DNA-techniek geproduceerd in micro-organismen. Ook dit interferon zal dus in de toekomst voldoende beschikbaar zijn om goed opgezette studies bij de mens te kunnen doen. Het grote probleem dat nog opgelost moet worden is de stabiliteit. Als men het produceert en opslaat, schijnt het snel zijn activiteit te verliezen, maar dit is een technisch probleem dat naar verwachting wel kan worden opgelost.

Interferononderzoek in Nederland

In Nederland wordt al meer dan tien jaar aan interferon gewerkt. De inspanningen van Nederland op dit gebied worden ook internationaal erkend. Een bewijs hiervoor is dat het laatste internationale congres in Nederland heeft plaatsgevonden. De eerste grote studies in Nederland waren studies naar antivirale effecten bij de mens. Deze onderzoeken zijn in hoofdstuk VI beschreven. Hieruit werd duidelijk dat nog heel wat onderzoek bij proefdieren noodzakelijk was. Specifiek voor Nederland zijn de onderzoeken die gedaan worden bij ratten en apen. Een ervan betrof het antivirale effect van interferon bij niertransplantatiepatiënten. Een van de dingen die we graag wilden weten was het effect van interferon op de getransplanteerde nier. Voor dit onderzoek hadden we ratte-interferon nodig, omdat in tegenstelling tot de muis, het bij de rat technisch mogelijk is nieren te transplanteren. Over de productie en eigenschappen van ratte-interferon was nauwelijks iets bekend; we hebben nogal veel moeite moeten doen om genoeg ratte-interferon te produceren. Het heeft ons twee jaar gekost om een productiemethode te ontwikkelen om interferon te produceren uit weefselkweken. Dat het na die twee jaar gelukt is, is voornamelijk te danken aan mevr. Gerrie de Wilde van de Erasmus Universiteit. Toen de productie van ratte-interferon eenmaal op gang was, lag het natuurlijk voor de hand om dit niet alleen maar te gebruiken voor het onderzoek bij niertransplantatiepatiënten. Dank zij subsidies van het Koningin Wilhelmina Fonds en het Preventiefonds, die ook bereid bleken interferononderzoek te subsidiëren voordat het zo in de publiciteit kwam, konden en kunnen wij nog steeds ratte-interferon produceren om ook de anti-kanker- en antivirale eigenschappen te bestuderen. De productie van ratte-interferon

uit celkweken is erg arbeidsintensief en bijzonder duur. In samenwerking met het Medisch Biologisch Laboratorium TNO is dr. Rein Dijkema al vergevorderd met het construeren van een bacterie die in staat is ratte-interferon te produceren. Uit dit onderzoek weten we dat er, net zoals bij de mens, ook een stuk of tien subtypen alfa-interferon bij de rat moeten zijn. Dit werk moet het mogelijk maken om ook in een proefdiermodel de activiteiten van de verschillende subtypen te bestuderen, iets wat zeer belangrijk is voor de toepassing van interferon bij de mens.

We hebben ook een reputatie opgebouwd met het onderzoek aan interferon bij resusapen. In deze apen is menselijk interferon actief en op die manier kunnen de preparaten getest worden die daadwerkelijk ook in de kliniek worden toegepast. Om de antivirale effecten van interferonpreparaten te bekijken, bestuderen wij het effect op vaccinia-infectie. We dienen dit virus bij de resusapen in de huid toe. Als ze niet met interferon worden behandeld, ontwikkelen de resusapen een pok. Deze besmetting verloopt zeer onschuldig bij de resusapen en ze hebben er ook weinig last van. Dit vormt een acceptabele methode om interferon te bestuderen bij apen, maar ook een relatief goedkope. Bovendien is het effect van interferon gemakkelijk vast te stellen, men hoeft alleen maar even naar de huid te kijken of de pok zich ontwikkeld heeft of niet. In dit model testen wij op dit moment welke typen interferon het meest actief zijn, hoe ze zouden moeten worden toegediend en hoeveel er zouden moeten worden toegediend. Dit zijn vragen die allemaal zeer belangrijk zijn voor de toepassing van interferon bij de mens. Interferononderzoek in Nederland is dan ook voornamelijk praktisch en gericht op de toepassing van interferon bij de mens. Het is duidelijk dat voordat het tot een daadwerkelijke toepassing van interferon bij de mens komt, en wij zijn ervan overtuigd dat het zover komt, er nog heel wat interferononderzoek noodzakelijk is, onderzoek waarbij ook Nederland zeker een voorname plaats inneemt.

Verklarende woordenlijst

Adenovirus DNA-virus, ongeveer 70-80 nm in dwarsdoorsnede.

Er bestaan meer dan 30 typen. Veroorzaken bij de mens luchtweg- en ooginfecties.

Adsorptiefase De eerste interactie tussen het virus en de te besmetten cel.

Affiniteitschromatografie Methode om mengsels van verschillende stoffen, meestal eiwitten, van elkaar te scheiden door gebruik te maken van substanties die bepaalde eiwitten selectief kunnen binden. De bindende substantie wordt daarvoor gehecht aan dragermateriaal en het mengsel langs het dragermateriaal geleid. De bindende substantie zal dan de bepaalde stof uit het mengsel oppikken. Later kan dan de gebonden stof van de drager worden losgemaakt. Als bindende substantie worden vaak antilichamen gebruikt.

Agammaglobulinemie Aangeboren afwijking waarbij men niet in staat is om antilichamen te maken.

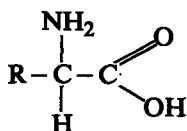
Agglutineren Het samenklonteren van cellen (rode bloedcellen, bacteriën, enz.).

AKR-muizen Muizestam die in hoge frequenties op jonge leeftijd spontaan een leukemie ontwikkelt.

Allel Een, twee of meer alternatieve vormen waarin een gen kan voorkomen.

Allergie Overgevoeligheid. Een overreactie van het lichaam op bepaalde antigenen.

Aminozuur Chemische verbindingen die de bouwstenen vormen van de eiwitten. Er zijn 20 verschillende aminozuren die alle de volgende chemische verbinding gemeen hebben:



Ze verschillen in de R-groep. Aminozuren (en dus eiwitten) kunnen zowel positief als negatief geladen zijn, afhankelijk van de zuurgraad.

Aminozuursequentie De volgorde waarin aminozuren in een eiwit voorkomen.

Amnioncellen Cellen gekweekt uit vruchtvliezen. Een veel gebruikte celsoort in de virologie omdat deze uit placenta's die gemakkelijk verkrijgbaar zijn, worden gehaald.

Anafylaxis Zeer snel verlopende overgevoeligheidsreactie op een vreemd eiwit na inspuiting, waarbij zelfs shock kan optreden. De reactie ontstaat omdat het eiwit wordt gebonden door antilichamen. De patiënt moet dus eerder met het eiwit in contact zijn geweest.

Anekdotische studie Studie verricht bij maar een paar patiënten. Soms voldoende om een eerste indruk van een toestand of effect te krijgen, maar niet voor definitieve conclusies.

Aneuploïde cellen Cellen die niet het normale aantal chromosomen hebben.

Antibiotica Een substantie die door een micro-organisme wordt gemaakt en in staat is om andere micro-organismen in groei te remmen of te doden. Voorbeeld is penicilline dat door de schimmel *Penicillium* gemaakt wordt en gebruikt wordt bij de behandeling van bepaalde bacteriële besmettingen.

Antigeen Stoffen die door een lichaam als vreemd worden herkend en waartegen het antilichamen en immuuncellen produceert.

Antigene determinant Chemische structuren die door antilichamen worden herkend. Op antigenen kunnen verschillende antigenen determinanten voorkomen.

Antilichaam Beschermende eiwitten die door een organisme gemaakt worden nadat er contact met vreemde substanties heeft plaatsgehad (antigenen).

Aspecifieke afweer Afweer die algemeen gericht is en niet tegen één bepaald organisme. Oefent zijn werking al uit bij het eerste contact ermee.

Assemblage Het stadium van de virusvermenigvuldiging in de cel waarbij van de gevormde viruseiwitten en viraal nucleïnezuur de nieuwe virussen worden gevormd.

Attenueren Verminderen van het ziekmakend vermogen van een micro-organisme, bijv. door deze met chemische middelen te behandelen, te verhitten, enz. Deze verzwakte organismen kunnen als ze geen ziekte meer veroorzaken maar wel immuniteit opwekken, als vaccin worden gebruikt.

Australië-antigeen Antigeen dat voorkomt op de buitenkant van het hepatitis-B-virus en ook wel vrij in het bloed van patiënten die met dit virus besmet zijn. Wordt tegenwoordig ook wel het hepatitis-B-surface-antigen genoemd (hepatitis-B-oppervlakte-antigeen). Dankt zijn naam aan het feit dat het als eerste in het bloed van een Australische inboorling is gevonden.

Auto-immuunziekte Ziekte die ontstaat omdat het lichaam lichaamseigen antigenen als vreemd beschouwt en daartegen antilichamen en of immuuncellen produceert.

Bacteriofaag Virus dat een bacteriecel als gastheer heeft.

Base-pairing Het verschijnsel waarbij een dubbelstrengs nucleïnezuur adenine altijd een paar vormt met thymidine (of uracil) en guanine met cytosine.

Bestralingschimaera Zie chimaera.

B-lymfocyt Bepaalde cel (lymfocyt) die in staat is om antilichamen te produceren.

Bioassay Bepaling van de hoeveelheid van een stof door een bepaalde biologische activiteit te meten. Zo wordt de hoeveelheid interferon in een preparaat gemeten door vast te stellen tot welke verdunning dat preparaat in staat is om een bepaalde bescherming van cellen tegen virussen te geven.

Blocking Verschijnsel dat in cellen voorbehandeld met hoge concentraties interferon, de produktie van interferon is geblokkeerd.

Boodschapper-RNA RNA dat de genetische boodschap die gelegen is in het DNA in de celkern overbrengt naar de ribosomen, waar de boodschap wordt vertaald in de bepaalde aminozuurvolgorde van een eiwit.

Boosterreactie Versnelde en verhoogde antilichaamproduktie na hernieuwd contact met een bepaald antigeen.

Buffy coat Als men onstolbaar gemaakt bloed op een bepaalde snelheid centrifugeert, dan zakken de rode cellen sneller naar beneden dan de witte. Bovenin het bloed zal een laag ontstaan die rijk is aan witte cellen. Deze laag heet de buffy coat.

Bursa Een orgaan bij vogels waar de B-lymfocyten ofwel de antilichaamproducerende cellen worden gevormd. Het is niet bekend waar bij zoogdieren deze cellen vandaan komen.

Carcinogene stof Kankerverwekkende stof.

Cel Kleinste levensvorm die tot zelfstandige reproductie in staat is.

Cellusie Vorming van cellen (hybride cellen) door het laten versmelten van kernen en cytoplasma van verschillende cellen.

Celgebonden immuniteit (cellulaire immuniteit). Immuniteit die berust op de activiteit van T-lymfocyten en niet op produktie van antilichamen.

Cellweek Kweek van cellen buiten het lichaam op glas of plastic.

Cellijn Kweek van cellen die het vermogen hebben zich oneindig te delen (getransformeerde cellen).

- Centraal dogma** Geeft relatie tussen DNA, RNA en eiwit. DNA, drager van erfelijke informatie. DNA is de mal voor productie van nieuw DNA en RNA. En RNA is de mal voor eiwitsynthese.
- Chemotaxis** Aantrekking van cellen en bacteriën door bepaalde stoffen.
- Chimaera** Een monster uit de mythologie met een geitelichaam maar een leeuwepoot en van achter een slang. In wetenschappelijke zin een dier opgebouwd uit verschillende dieren. Zo kan men door bestraling het beenmerg van een rat vernietigen en hem daarvoor in de plaats muizebeenmerg geven. Het resultaat is een bestralingschimaera.
- Cholera** Maagdarminfectie veroorzaakt door cholera bacteriën, die zeer besmettelijk is en in epidemieën voorkomt. Een ziekte die hoort bij slechte sanitaire voorzieningen. Kan fataal verlopen als de patiënt via de diarree zeer veel vocht verliest.
- Chromosoom** Draadvormige structuren in celkernen waarin het erfelijk materiaal is verankerd.
- Complement** Een serie elkaar activerende eiwitten die in serum voorkomen, en cellen en virussen kunnen vernietigen.
- Complementairstructuur** Structuren die elkaars opbouw bepalen. Bijvoorbeeld de twee strengen in het DNA.
- Complementbindingsreactie** Methode om hoeveelheid antigeen of antilichaam te bepalen, berustend op het feit dat bij bepaalde antilichaam-antigeenbindingen complement wordt gebruikt. Als voorbeeld: om van een bepaald serum de hoeveelheid antilichaam op deze wijze te meten, wordt bij verdunningen van het serum een vaste hoeveelheid complement en antigeen gevoegd. Is in een verdunning nog antilichaam aanwezig, dan wordt complement gebruikt.
- Confluente celkweek** Cellen in een kweek die een aaneensluitende cellaag vormen. Vaak groeien cellen als ze de confluente staat hebben bereikt niet meer ten gevolge van contactinhibitie.
- Contactinhibitie** Celgroeiremming die optreedt als cellen elkaar raken.
- Cytomegalievirus** Een van de herpesvirussen. Veroorzaakt celfusie, zodat reuzencellen ontstaan (*cyto* = cel; *megalo* = groot). Geeft lever- en longontsteking vooral bij patiënten met gestoorde afweer.
- Cytopathogeen** Schade in de cel veroorzakend. Met cytopathogene virussen worden virussen bedoeld die tot zichtbare celschade en/of celdood leiden.
- Cytoplasma** Cellichaam wordt begrensd door kernmembranen en celmembranen. In cytoplasma vindt eiwitsynthese plaats en energieoverdracht.

- Dalton** Gewichtseenheid gelijk aan het gewicht van een waterstofatoom. Wordt gebruikt om molecuulgewichten aan te geven.
- Delayed type hypersensitivity** Een vorm van allergie die niet veroorzaakt wordt door immuunglobulinen, maar door T-lymfocyten. Reactie verloopt niet zo snel als bij een overgevoeligheid waarbij antilichamen een rol spelen.
- Demyelinisatie** Verdwijnen van de myelinescheden rond de zenuwen. Belangrijkste verschijnsel van multiple sclerose.
- Desensibiliseren** Behandelingsmethode voor een allergie waarbij de patiënt de stof waarvoor hij overgevoelig is enige tijd krijgt toegediend, in de hoop dat hij immuunglobulinen van het type IgG tegen het antigeen gaat maken, dat alle antigenen door IgG bedekt worden, en het IgE-type immuunglobuline niet meer bij het bepaalde antigeen kan komen.
- Dialyse** Als men een bepaalde oplossing in een semi-permeabele huls in een andere oplossing brengt, komt een transport door de wand op gang, om een evenwicht tussen de twee oplossingen aan te brengen. Wordt gebruikt om bepaalde laagmoleculaire stoffen, meestal zouten, uit een oplossing te verwijderen.
- Diploïde cel** Cel met normaal aantal chromosomen, d.w.z. paren van ieder type chromosoom.
- DNA** Structuur waarin de erfelijke informatie van alle cellen ligt opgeslagen.
- Dominante eigenschap** Eigenschap die in een nakomeling tot uitdrukking wordt gebracht, onafhankelijk of die eigenschap van beide ouders of alleen van vader of moeder afkomstig is. Dit in tegenstelling tot een recessieve eigenschap.
- Down-syndroom** (trisomie 21) Mongoloïde idiotie. Aangeboren afwijking, die ontstaat omdat men drie chromosomen 21 heeft. Opvallend kenmerk is de geestelijke onderontwikkeling.
- Dubbelblinde studie** Studie waarbij het effect van twee geneesmiddelen wordt vergeleken die zodanig wordt uitgevoerd dat noch de patiënt noch de behandelende arts weet wie het ene en wie het andere middel krijgt. Dit om te voorkomen dat de arts onbewust de patiënt beïnvloedt.
- Ehrlich-ascites** Experimentele kwaadaardige tumor die van muis tot muis wordt overgeplant, door tumorcellen in de buikholte te spuiten.
- Eiwit** Molecuul bestaande uit aminozuren. Eiwitten reguleren in de vorm van enzymen alle chemische processen in de cel.
- Elektroforese** Methode om mengsels van stoffen met verschillende elektrische lading te scheiden door deze in een elektrisch veld te brengen.

Elektronenmicroscop Een microscoop die gebruik maakt van elektronenstralen, en objecten die te klein zijn om met de gewone lichtmicroscop te kunnen worden gezien zichtbaar maakt. Het oplossend vermogen is afhankelijk van de golflengte. Hoe kleiner de golflengte, hoe groter het oplossend vermogen. De golflengte van een elektronenstraal is kleiner dan die van het zichtbare licht.

Empirisch Berustend op ondervinding en niet theoretisch onderbouwd.

Endemie Een ziekte die in een bepaalde streek voorkomt.

Enzymen Eiwitten in de cel die alle chemische processen reguleren.

Epidemie Een over een groot gebied zich uitbreidende, meestal besmettelijke ziekte, waarbij een groot aantal mensen de ziekte ontwikkelen.

Epidemiologie Wetenschap die de verspreiding van ziekten bestudeert.

Epstein-Barrvirus Een van de herpesvirussen. Verwekker van de ziekte van Pfeiffer. Ook in verband gebracht met het lymfoom van Burkitt, een vooral bij Afrikaanse kinderen voorkomend kwaadaardig gezwel van de lymfeklieren.

Evolutie(theorie) De theorie dat alle levende organismen zijn ontstaan uit één oervorm en door natuurlijke selectie zich ontwikkeld hebben tot de soorten die we nu kennen.

Fagocytosis Proces waarbij sommige cellen voorwerpen in de cel halen.

Fibroblasten Bindweefselcellen. Cellen met een spoelvorm, die gemakkelijk buiten het lichaam in celkweek kunnen worden gebracht.

Gele koorts Ziekte veroorzaakt door het gele-koortsvirus, die in epidemieën kan voorkomen in gebieden waar niet gevaccineerd wordt en die zich kan manifesteren in een milde vorm met koorts en hoofdpijn, maar ook fataal kan verlopen, waarbij de patiënt overal bloedingen krijgt. De geelzucht waaraan de ziekte zijn naam dankt, komt maar zelden voor. Komt voornamelijk in Afrika en Zuid-Amerika voor.

Gen Een stuk DNA (of RNA in het geval van RNA-virussen) dat de erfelijke informatie bevat van één produkt (meestal een eiwit).

Genetica Leer van de erfelijkheid.

Genetische informatie De erfelijke informatie die ligt opgeslagen in de nucleïnezuurvolgorde van een DNA- (of RNA-) molecuul.

Genoom Alle genen van een bepaald organisme bij elkaar.

Glycoproteïne Eiwit met suikergroep.

Granulocyt Witte bloedcel met typische korrels (granula) in het cytoplasma.

Helix Een spiraalvormig molecuul opgebouwd volgens een zich herhalend patroon. Grote moleculen in de natuur hebben vaak deze vorm.

Hepatitis-B Een vorm van leverontsteking veroorzaakt door het hepatitis-B-virus. Wordt vooral door besmet bloed overgebracht.

Herpesvirussen Groep DNA-virussen met als voornaamste biologische kenmerk dat ze na besmetting in het lichaam kunnen onderduiken en onder bepaalde gevallen weer kunnen opvlammen. Bij de mens onderscheiden we o.a. het herpes-simplexvirus, verwekker van koortsuitslag, het Varicella-Zostervirus dat waterpokken en gordelroos veroorzaakt, en het Epstein-Barrvirus, de oorzaak van de ziekte van Pfeiffer.

Histocompatibiliteitsantigenen Bepaalde eiwitten op celoppervlak die betrokken zijn bij de immuniteit. Worden cellen met vreemde histocompatibiliteitsantigenen in een organisme ingebracht, dan zal tegen deze antigenen een afweerreactie in gang worden gezet.

Hormoon Stoffen gemaakt in een orgaan, maar die elders in het lichaam regulerend optreden. Interferon is dus per definitie ook een hormoon.

Humaan interferon alfa (HuIFN α). Type interferon dat gemaakt wordt door leukocyten. Is een mengsel van minstens 8 verschillende subtypen (HuIFN 1, HuIFN 2... HuIFN 8), die alle verschillende biologische activiteiten hebben.

Humaan interferon beta (HuIFN β). Type interferon dat gemaakt wordt door fibroblasten. Tot nu toe is maar één subtype (HuIFN1) beschreven.

Humaan interferon gamma (HuIFN γ). Type menselijke interferon gemaakt door T-lymfocyten behandeld met lectinen of na confrontatie met een antigeen waartegen ze zijn gesensibiliseerd. Tot nu toe is maar één subtype van gamma-interferon beschreven (HuIFN γ 1).

Humorale immuniteit De immuniteit die zich in serum bevindt (dus niet de cellen) ofwel de immunoglobulinen.

Hybride (letterlijk: bastaard). Een oel of organisme samengesteld uit verschillende soorten.

- Iatrogene ziekte** Ziekte veroorzaakt door medisch handelen. Een door de arts veroorzaakte ziekte.
- IgA** Antilichaam van het type A. Actief aan oppervlakte van het lichaam.
- IgD** Antilichaam van het type D. Zit vast aan T-lymfocyt. Zorgt dat deze cel 'zijn' antigeen herkent.
- IgE** Antilichaam van het type E. Betrokken bij allergische reacties en afweer tegen parasieten.
- IgG** Antilichaam van het type G. Meest voorkomende antilichaam. Doet zijn werk in het bloed en andere extracellulaire vloeistoffen.
- IgM** Antilichaam van het type M. Eerste type antilichaam dat na contact met een bepaald antigeen gevormd wordt. Sterk 'agglutinerend'.
- Immuniteit** Het niet meer bevattelijk zijn voor een bepaalde ziekte, omdat men de ziekte al eens heeft gehad of omdat men ertegen is gevaccineerd.
- Immunoglobulinen** = antilichamen (zie aldaar).
- Immunologie** Onderdeel van de wetenschap dat zich bezighoudt met de afweer van het lichaam tegen vreemde invloeden van buiten.
- Immunologische tolerantie** Afwezigheid van afweer van het lichaam tegen een bepaald antigeen.
- Immuunfluorescentie** Techniek waarbij eiwitten, virussen enz. worden aangetoond met antilichamen die gemerkt zijn met een fluorescerende stof.
- Immuunmodulatie** Beïnvloeding van het immuunapparaat. Kan zowel stimulering als vermindering inhouden.
- Immuunsuppressie** Het onderdrukt zijn van de afweer tegen infecties of spontaan ten gevolge van afweeronderdrukkende middelen (*immunosuppressiva*). Deze middelen worden o.a. gegeven na transplantaties om te zorgen dat het getransplanteerde orgaan wordt afgestoten.
- Inducer** Agens dat een cel kan aanzetten tot de produktie van bepaalde stoffen.
- Infectie** Het besmet zijn met ziekmakende micro-organismen.
- Influenza** Griep. Een epidemische vorm van luchtweginfectie. Wordt veroorzaakt door het influenzavirus.
- Internationale referentie-unit** Interferonactiviteit uitgedrukt in relatie tot de activiteit van internationale referentiepreparaten. Er zijn internationale referentiepreparaten van de verschillende typen menselijk interferon en enkele typen interferon van proefdieren.
- In vitro** (letterlijk: in het glas). Iets dat zich afspeelt onder experi-

Microfaag In het bloed voorkomende fagocyterende cel.

Miltvuur (Anthrax). Ziekte veroorzaakt door een bacterie. Zo genoemd vanwege de rode verkleuring van de milt die het bij vee kan veroorzaken. Kan op de mens overgaan en kwaadaardige zweren op de huid en aan inwendige organen veroorzaken, als de verwekker wordt geïnhaled of via voedsel binnenkomt.

Molair Zie *molariteit*.

Molariteit Concentratie van een stof in oplossing, aangeduid in mol per liter. Een mol is het molecuulgewicht van een stof in grammen en bevat 6×10^{23} moleculen. Het molecuulgewicht van NaCl (keukenzout) is 56. 1 molair NaCl in water betekent 56 gram NaCl opgelost in een liter water. Een dergelijke aanduiding van concentraties maakt het gemakkelijk relatieve concentraties van verschillende stoffen te vergelijken.

Moleculaire biologie Onderdeel van de wetenschap dat zich bezighoudt met levensprocessen op moleculair niveau, d.w.z. structuren en stofwisseling van DNA, RNA en eiwit.

Moleculaire filtratie Methode om eiwitten van elkaar te scheiden, berustend op verschil in molecuulgewichten. Men laat daartoe het mengsel eiwitten door een kolom lopen, waarbij de loop van de eiwitten meer wordt vertraagd naarmate het molecuulgewicht kleiner is. Grotere moleculen zullen daarbij het eerst aan het eind van de kolom aankomen en van de kleine gescheiden kunnen worden opgevangen.

Molecuulgewicht Gewicht van de molecuul berekend door de gewichten van alle atomen in een molecuul op te tellen. Wordt uitgedrukt in dalton. Dalton is gewichtseenheid gelijk aan het gewicht van één waterstofatoom. Als men zegt dat het molecuul van menselijk alfa-interferon 19 000 dalton is, wil dat zeggen dat een molecuul van dit interferon evenveel weegt als 19 000 atomen waterstof.

Monoclonale antilichamen Zuiver antilichaam gemaakt door één kloon B-cellen. Kunnen in het laboratorium worden gemaakt door één B-cel (die een bepaald antilichaam maakt) te fuseren met een kankercel, zodat de B-cel de eigenschap krijgt oneindig te kunnen delen en in elke gewenste hoeveelheid kan worden aangekweekt.

Monocyt Witte bloedcellen met een ronde kern. Voorlopers van de granulocyt.

Mononucleosis Infectiosa (ziekte van Pfeiffer, 'Kissing Disease'). Ziekte veroorzaakt door het Epstein-Barrvirus die gekenmerkt wordt door het verschijnen van grote aantallen typische monocytten in het bloed. Gaat gepaard met keelontsteking en stoornissen aan de lever. Verloopt bijna altijd goedaardig.

Multiple sclerose Een chronisch verlopende ziekte waarbij de zenuwen in het lichaam langzaam hun myelineschede kwijtraken en hun functie verliezen. Wordt wel beschouwd als een virusinfectie.

Mutatie Verandering in het DNA. Kan spontaan ontstaan, of ontstaan door invloeden van buitenaf, zoals bijvoorbeeld bestraling of door mitogene chemische stoffen. Het is mogelijk een mutatie over te erven.

Mycofaag Virus dat groeit op schimmels.

Myeloom of **multiple myeloom** Kwaadaardige woekering van B-lymfocyten, de cellen die antilichamen maken. Gaan uit van één cel en een myeloom maakt dan ook vaak een puur antilichaam of onderdeel daarvan. Deze tumoren worden onderverdeeld op basis van wat ze produceren: IgM-producerend myeloom, IgA-producerend myeloom, enz.

'Natuurlijk' interferon Interferon gemaakt door cellen en niet door micro-organismen waarin met recombinant-DNA-technieken een interferongen is ingebouwd.

Natural killer cell (NK-cel). Afweercellen gericht tegen tumorcellen of cellen besmet met virus. Zijn van 'nature' aanwezig en hoeven niet zoals de T-lymfocyten door bepaalde antigenen te worden geïnduceerd. Interferon speelt een zeer belangrijke rol bij de activiteit van deze cellen.

Niet-virale inductor Stoffen (behalve virussen) die cellen tot interferonproductie kunnen aanzetten).

Nucleïnezuur Kernzuren DNA en RNA. DNA komt alleen voor in de cellen, RNA komt zowel in de kern als in het cellichaam voor.

Nucleotiden Bouwstenen van DNA en RNA. DNA is opgebouwd uit de vier nucleotiden adenine, cytosine, guanosine en thymidine. RNA bevat i.p.v. thymidine, uridine.

Nucleus Celkern.

Nude muizen Muizestam met een erfelijke onderontwikkeling van het immuunsysteem. Worden vaak gebruikt als gastheer voor menselijke kankercellen, die in normale muizen worden afgestoten. Deze muizen hebben ook geen haargroei, vandaar de naam 'naakte' muizen.

Oligonucleotiden Moleculen opgebouwd uit enkele nucleotiden. Spelen een belangrijke rol bij de antivirale activiteit van interferon.

Oncogeen Kankerverwekkend.

Ontkapseling (uncoating). Het stadium van de virusinfectie van

de cel waarbij het binnengedrongen virus openbreekt en het virale nucleïnezuur vrijkomt.

Ontsteking Reactie van het lichaam op weefselschade. Hoeft niet altijd door een micro-organisme te worden veroorzaakt. Kan o.a. door chemische stoffen ontstaan. Men spreekt dan van een 'steriele' ontsteking.

Osteosarcoom Kwaadaardige bottumor.

Pandemie Een epidemie die de hele wereld omvat. Moderne voorbeelden zijn bepaalde influenza-epidemieën.

Parasieten Organismen die leven ten koste van andere organismen.

Pathogenese De wijze waarop de oorzaak van een ziekte leidt tot de verschijnselen van een ziekte.

Penetratiefase Stadium in de virusinfectie van een cel waarbij het virus het celmembraan binnendringt.

Penicilline Het eerst ontdekte antibioticum. Werkt door van bepaalde bacteriën de celwandopbouw te verstoren.

Periodiciteit Optreden van epidemieën van bepaalde infectieziekten met min of meer vaste intervallen. Bijvoorbeeld: epidemieën van waterpokken komen voor om de drie à vier jaar. Na een epidemie zijn in principe alle 'gevoelige' kinderen immuun. Na drie tot vier jaar zijn er weer voldoende 'verse' kinderen om een nieuwe epidemie mogelijk te maken.

Placebo Fopmiddel. 'Geneesmiddel' zonder actieve substantie. Wordt bij geneesmiddelenonderzoek gebruikt om effecten van nieuwe geneesmiddelen uit te proberen. Men vergelijkt daarbij het effect bij een groep patiënten die het nieuwe middel heeft gekregen met een groep die een placebo heeft gekregen. Dit om effecten die door de psychische beïnvloeding van de patiënten kunnen ontstaan uit te sluiten.

Plaque forming unit (PFU). Een *plaque* vormende eenheid. Maat voor hoeveelheid levend virus. Een plaque is een opheldering die ontstaat doordat door een virusbesmetting een gat ontstaat in een confluyente cellaag. Eén plaque wordt door één virus veroorzaakt. Door van een viruspreparaat te bepalen hoeveel PFU het bevat, kan men vaststellen hoeveel levend virus zich in dat preparaat bevindt.

Polio(myelitis) Ziekte veroorzaakt door poliovirus, waarbij de zenuwcellen in het ruggemerg die zorgen voor de spierbeweging worden geïnfecteerd. Daardoor treedt spiervlamming op. Polio is een kinderziekte, die epidemisch voorkomt maar door systematische vaccinatie in de Westerse wereld vrijwel is verdwenen. In Nederland komen nog wel kleine epidemieën voor

in gemeenschappen die zich om godsdienstige redenen niet laten vaccineren.

Poly I-C Een synthetisch dubbelstrengs-RNA. De meest krachtige niet-virale inductor van interferon.

Polymerasen Enzymen betrokken bij RNA- en DNA-synthesen.

Porte d'entrée De plaats waar een bepaald ziekmakend micro-organisme het lichaam binnengaat.

Precipiteren Uit een oplossing neerslaan. Men kan eiwitten met een oplossing neerslaan door bepaalde zouten toe te voegen, bijv. ammoniumsulfaat.

Primaire cellen Cellen die direct van het organisme in cultuur zijn gebracht. Worden deze cellen verder doorgekweekt, dan spreekt men van *secundaire cellen*.

Primen Verhogen van de produktie van een bepaalde stof door toevoeging van een kleine hoeveelheid van die stof. Zo wordt de produktie van interferon door cellen verhoogd door voorbehandeling van de cellen met wat interferon.

Pseudorabiesvirus Een virus uit de herpesgroep, dat bij varkens een besmettelijke vorm van hersenvliesontsteking veroorzaakt.

Rabies Hondsdolheid. Veroorzaakt door rabiesvirus, overgebracht door beten van besmette dieren als honden, vossen en vleermuizen. Is onbehandeld altijd dodelijk door aantasting van de hersenen. Typisch voor de ziekte is de angst voor water. Patiënt kan worden gered door snel te beginnen met vaccineren. Vaccinatie is ontwikkeld door Louis Pasteur, die gebruik maakte van hersenen van zieke honden. Door deze in formalinedamp te hangen, werd het virus geïnactiveerd.

Randomiseren Het via het lot indelen van de patiënten bij een studie waarbij groepen worden vergeleken. Dit voorkomt dat bepaalde patiënten bij voorkeur in één groep terechtkomen.

Receptor In dit boek duidt de term plaatsen op de celwand aan waar virussen cellen binnengaan of interferon door de cel gebonden wordt.

Recombinant Een organisme waarin het genetisch materiaal van twee verschillende soorten is gecombineerd. Zo'n organisme bevat dan eigenschappen die normaal gecombineerd voorkomen. Zo heeft een *E. coli*-bacterie waarin het gen voor menselijk interferon is ingebracht, behalve de normale bacterie-eigenschappen, de mogelijkheid om menselijk interferon te maken, iets waartoe normaal alleen menselijke cellen in staat zijn.

Recombinant-DNA-interferon Interferon gemaakt in micro-organismen waarin d.m.v. recombinant-DNA-technieken het erfelijk materiaal voor dat interferon is ingebouwd. Term wordt

gebruikt ter onderscheiding van 'natuurlijk' interferon, gemaakt door cellen na inductie.

Recombinant-DNA-techniek Techniek waarbij in allerlei micro-organismen vreemd genetisch materiaal wordt ingebracht met de bedoeling micro-organismen allerlei nuttige eiwitten te laten produceren, zoals vaccins, insuline, interferon enz.

Replicatie Vermenigvuldiging. In dit boek gebruikt als term die virusvermenigvuldiging in de cel aanduidt en als term voor dat stadium in de virusgroei waarin het RNA of DNA van het virus wordt gevormd, dat in de nieuwe viruspartikels terecht moet komen.

Reticulo-endotheliaal systeem (RES). Een verzamelterm voor alle cellen in welk orgaan dan ook, met fagocyterende eigenschappen. Vaak duidt men er de lever, milt en lymfeklieren mee aan.

Reumafactor Factor die bij reumapatiënten in het bloed wordt aangetroffen. Het is een antilichaam van het IgM-type, gericht tegen de antilichamen van het type IgG van de patiënt zelf. Dit doet vermoeden dat reuma een auto-immuunziekte is.

Reverse transcriptase Enzym dat van RNA een complementair DNA kan maken en van dit enkelstrengs-DNA vervolgens een dubbelstrengs-DNA. Komt in bepaalde kankervirussen voor.

Rhinovirussen Virussen uit de groep waar ook polio en mond- en klauwzeer toe behoren. Zijn de verwekkers van de gewone verkoudheid.

Ribonuclease Enzym dat RNA kan afbreken.

Ribosomen Smalle partikels bestaande uit RNA en eiwit, waarbij in de cel de produktie van eiwit plaatsvindt.

Richetsiëën Bacterie-achtige organismen die echter niet zelfstandig kunnen bestaan, maar parasitair in cellen groeien.

Rift Valley Fever Ziekte die vooral bij vee voorkomt in bepaalde streken. Wordt veroorzaakt door Rift-Valley-Fevervirus, een RNA-virus. Bij de mens kan het in zeldzame gevallen een lichte infectie veroorzaken.

RNA Nucleïnezuur in de cel, betrokken bij de produktie van eiwit. Bij sommige virussen de drager van de erfelijke eigenschappen.

RNA-polymerase Enzym dat vorming van RNA katalyseert met DNA als mal.

Rode hond (rubella). Besmettelijke kinderziekte veroorzaakt door het rubellavirus, gekenmerkt door milde verschijnselen als koorts, keelontsteking en de karakteristieke huidafwijkingen. Als zwangere vrouwen echter in een bepaald stadium van de zwangerschap besmet raken, bestaat er grote kans op een kind met ernstige aangeboren oogafwijkingen. Daarom worden in

Nederland alle 11-jarige meisjes tegen dit virus gevaccineerd.

Röntgendiffractietechniek Techniek waarbij door de afbuiging van röntgenstralen die door een zuivere (kristallijne) stof worden gestuurd, de ruimtelijke structuren van een stof kunnen worden afgeleid. Met deze techniek is o.a. de dubbelhelixstructuur van het DNA ontrafeld.

RIII-muizen Muizestam waarin de vrouwtjes bijna allemaal spontaan borstkanker ontwikkelen.

Secundaire celkweek Celkweeken afgeleid van primaire cellen. Meestal maar tot een bepaald aantal delingen in staat.

Self-limiting disease Ziekte die zonder ingrijpen van buitenaf overgaat.

Semliki-Forstvirus RNA-virus dat door insecten wordt overgebracht (zgn. *arbovirus*, *arthropode borne*) dat bij muizen een hersenontsteking kan veroorzaken, maar voor de mens ongevaarlijk is. Daardoor en omdat er nogal veel bekend is over de eigenschappen van dit virus, een veelgebruikt virus voor studie in het laboratorium.

Serumhepatitis Leverontsteking veroorzaakt door hepatitis-B-virus, dat door besmet bloed wordt overgebracht.

Serumtherapie Behandeling van een infectie met een bepaald organisme met antiserum gericht tegen dit organisme. Sinds de ontdekking van de antibiotica in onbruik geraakt.

Serumziekte Ziekte die ontstaat bij het vaak inspuiten van vreemde sera. Tegen deze sera maakt de patiënt antilichamen. De antilichaam-antigeencomplexen slaan in bepaalde organen, zoals de nieren, neer en storen de functie van die organen.

Slow viruses Virussen die pas jaren na besmetting tot ziekte leiden.

Specifieke activiteit Activiteit per gewichtseenheid. Bij interferon gebruikt als units per milligram eiwit.

Specifieke afweer Afweer gericht tegen één bepaald organisme. Is niet van nature aanwezig, maar moet worden opgebouwd na eerste contact met een organisme.

Spermidine Stof die in sperma is ontdekt en die zich kan hechten aan de wand van bacteriën en de functie van die bacterie verstoort. Is een onderdeel van de plaatselijke actieve specifieke afweer.

Sporenvorming De overgang van bacteriën in droge, inactieve vorm, die slechte omstandigheden kunnen overleven en die bij betere tijden weer tot actieve bacteriën kunnen opbloeien.

SSPE (subacute scleroserende panencefalitis). Ziekte van kinderen en jonge volwassenen met langzaam verlies van geestelijke

functies, met uiteindelijk de dood. Waarschijnlijk een (zeer zeldzame) late complicatie van mazeleninfectie.

Statolon Een mycofaag die groeit op de schimmel *Penicillium stoloniferum*. Bevat dubbelstrengs-RNA en is daarom in staat in cellen interferon te induceren.

Sterilisatie Doden van verontreinigende bacteriën op oppervlakten d.m.v. verhitting gedurende bepaalde tijd.

Superinductie Methode om cellen extra veel interferon te laten maken door ze volgens een bepaald schema tijdens inductie met bepaalde remmers van eiwit en DNA-synthese te behandelen. Deze methode wordt veel toegepast bij de grootschalige productie van menselijk beta-interferon.

Superinfectie Infectie die bovenop een bestaande infectie optreedt, vaak ook ernstiger dan de eerste infectie. Als men aan bijv. influenza sterft, dan is het meestal niet het influenzavirus, maar de superinfectie met bacteriën in de longen waaraan de patiënt sterft.

Synergie Wederzijdse versterking van de activiteit van twee middelen, zodat de gezamenlijke werking groter is dan de som van de activiteiten apart.

Tabaksmozaïekziekte Ziekte die bij tabaksplanten verkleining van de bladeren veroorzaakt. Het eerst ontdekte virus (door de Nederlander Beyerinck) en ook het virus dat als eerste werd gezuiverd (door Stanley).

Thymus Zwezerik. Een orgaan in het halsgebied gelegen, dat vooral actief is vroeg in het leven en dan betrokken bij de ontwikkeling van de T-lymfocyten.

T-lymfocyten De lymfocyten die verantwoordelijk zijn voor de celgebonden immuniteit.

Toxinen Stoffen waarmee bacteriën schade doen en ziekteverschijnselen veroorzaken. Men onderscheidt *exotoxinen*, toxinen die de bacterie gedurende zijn leven uitscheidt, en *endotoxinen*, die pas bij de dood van de bacterie vrijkomen.

Transferrine Een eiwit betrokken bij het transport van zware metalen in het lichaam, vooral van ijzer.

Transformeren Het aanbrengen van blijvende erfelijke verandering in een cel. Vaak wordt ermee bedoeld dat met een tumorigen virus of carcinogene stof een cel zodanig is veranderd dat hij kankereigenschappen heeft gekregen en oneindig kan delen.

Translatie Proces waarbij op de ribosomen de eiwitten worden gevormd op gebieden van boodschapper-RNA's.

Transcriptie Proces waarbij de erfelijke informatie van het DNA wordt omgezet in een RNA-streng. Deze RNA-streng wordt op

haar beurt op de ribosomen vertaald in een bepaalde aminozuurvolgorde van een eiwit.

Trigeminusneuralgie (aangezichtspijn of *tic douloureux*). Plotse-ling optredende onduldbare pijn in een gedeelte van het gelaat, waarschijnlijk veroorzaakt door het klemzitten van de aangezichts-zenuw in het bot van de schedel.

Trimethylcholantreen Een kankerverwekkende chemische ver- binding die vaak wordt gebruikt om in het laboratorium tumo- ren op te wekken bij proefdieren.

Trisomie 21 Zie onder *Down-syndroom*.

Ts-mutant (temperative sensitive mutant). Een mutant van een vi- rus die slechts in staat is zich bij een bepaalde temperatuur te vermenigvuldigen.

Tumor Gezwel. Hoeft niet kwaadaardig te zijn.

Tumovirus Virus in staat om gezwellen te veroorzaken.

Vaccin Dood of verzwakt micro-organisme of deel ervan dat wordt ingespoten met de bedoeling dat immuniteit wordt opge- wekt tegen schadelijke organismen. Afgeleid van het Latijnse woord *vacca* (koe), waarbij Jenner de koepokstof isoleerde en als bescherming tegen pokken toepaste.

Vaccinia Koepokken. Besmettelijke huidinfectie die bij runderen voorkomt en wordt veroorzaakt door het vacciniavirus. Van dit virus zijn de stammen afkomstig waarmee vroeger tegen de 'mensen'pokken werd gevaccineerd.

Vaccinia gangrenosa Complicatie van pokkenvaccinatie waarbij het vacciniavirus zich over het lichaam verspreidt en niet beperkt blijft tot de injectieplaats.

Varicella Waterpokken. Een zeer besmettelijke kinderziekte waarbij over het hele lichaam blaasjes ontstaan in de huid. Ver- oorzaakt door het Varicella-Zostervirus. Na waterpokken te hebben gegeven duikt het virus onder in het lichaam en kan na reactivatie gordelroos (zoster) veroorzaken.

Variola Pokken. Een vroeger zeer gevreesde besmettelijke ziekte, veroorzaakt door het variolavirus, waarbij in en op het hele li- chaam zweren ontstaan. Door een vaccinatieprogramma onder auspiciën van de Wereldgezondheidsorganisatie praktisch volle- dig van de aardbodem verdwenen.

Variolatie Een waarschijnlijk uit China afkomstige methode die in Europa in de 18e en 19e eeuw werd toegepast om mensen te immuniseren tegen pokken door gedroogde korstjes afkomstig uit pokken van lijders aan die ziekte in de huid te brengen. In onbruik geraakt door introductie van de vaccinatie ontwikkeld door Jenner.

Vesicular-Stomatitisvirus RNA-virus, dat een type mond- en klauwzeer veroorzaakt dat de laatste 50 jaar niet in Europa is voorgekomen. Het virus is gemakkelijk in het laboratorium te hanteren en zeer gevoelig voor interferon. Wordt veelvuldig gebruikt om interferon te toetsen.

Virale interferentie Verschijnsel dat in een organisme of weefsel dat met één type virus is besmet, niet nog een ander type virus kan groeien.

Viremie Aanwezigheid van virus in het bloed.

Virulentie Het ziekmakend vermogen van een micro-organisme.

Virus (contagium vivax fluidum), filtreerbaar agens. Kleinste organisme dat we kennen en dat is opgebouwd uit DNA of RNA omgeven door een kapsel, en die voor hun vermenigvuldiging levende cellen nodig hebben. Worden onderverdeeld in RNA- of DNA-virussen naar hun erfelijk materiaal, of in bacteriofagen, mycofagen of animale virussen, naar hun gastheer.

Virusenvelop Een virusmantel, vnl. bestaande uit lipiden die bij een aantal typen virussen om het eiwitkapsel van het virus voorkomt.

Virusneutralisatietest Test waarbij men het effect van een virus tracht te beïnvloeden door toevoeging van antiserum. Wordt gebruikt om virussen en antisera te kwalificeren en te kwantificeren.

Waterpokken Zie *Varicella*.

Weefselkweek Techniek waarbij weefsels buiten het organisme worden gekweekt. Wordt in de virologie op grote schaal toegepast.

Zoster Gordelroos. Huidinfectie veroorzaakt door het *Varicella-Zostervirus*. Als men in de kinderjaren waterpokken heeft, duikt het virus na herstel onder in het centraal zenuwstelsel. Daar kan het op latere leeftijd opvlammen en via een zenuw de huid bereiken en daar een sterk op waterpokken lijdende infectie veroorzaken. In tegenstelling tot waterpokken beperkt gordelroos zich tot het verzorgingsgebied van één zenuw (dermatoom).

Bronnen van het fotomateriaal

- | | | |
|------------|---------------------------------|--|
| Fig. 1.4 | <i>Sporenvormer</i> | C.W. de Groot/Dr. P.J. Heidt,
RBI-TNO |
| Fig. 1.5. | <i>Bacteriefilter</i> | Firma Millipore, Bedford, USA |
| Fig. 1.6. | <i>Tabaksmozatekvirus</i> | Mevr. dr. J. Dijkstra, Landbouw-
hogeschool Wageningen |
| Fig. 1.7. | <i>Bacteriofaag</i> | Dr. J.P. Jore en dr. A.M. de
Leeuw, REP-TNO |
| Fig. 2.1. | <i>Cel</i> | Dr. A.M. de Leeuw, IVEG-TNO |
| Fig. 2.3. | <i>Chromosomen</i> | Dr. A. Hagemeyer-Hausman,
Erasmus Univ., Rotterdam |
| Fig. 2.9. | <i>Budding</i> | Dr. P. Bentvelzen, RBI-TNO |
| Fig. 2.10. | <i>Transformatie</i> | Dr. V. Krump-Konvalinkova, RBI-
TNO |
| Fig. 3.2. | <i>Jean Lindenmann</i> | Dr. J. Lindenmann, Univ. Zürich,
Zwitserland |
| Fig. 3.3. | <i>Alick Isaacs</i> | Mevr. S. Isaacs-Elmhirst, Londen,
UK |
| Fig. 4.3. | <i>Interferon electroforese</i> | Dr. K. Zoon, NIH, Bethesda, USA |
| Fig. 4.4. | <i>Interferonkristal</i> | Dr. S. Pestka, Roche Inst., Nutley,
USA |
| Fig. 8.3. | <i>Macrofagen</i> | Dr. S.I. Hamburg, New York
Univ., Sch. of Medicine, USA |
| Fig. 8.4. | <i>Natural-killer-cellen</i> | Dr. E. Saksela, Univ. Helsinki,
Finland |
| Fig. 8.5. | <i>Toxiciteit poly I-C</i> | Dr. W.E. Stewart II, Univ., Mia-
mi, USA |
| Fig. 10.4. | <i>Gordelroos</i> | } Audiovisuele dienst, Oogzieken-
huis Rotterdam |
| Fig. 10.5. | <i>Herpes keratitis</i> | |
| Fig. 10.6. | <i>Primaire herpes</i> | |
| Fig. 10.7. | <i>Hepatitis-B-virus</i> | |
| Fig. 11.1. | <i>Kari Cantell</i> | Dagblad <i>De Telegraaf</i> , Amster-
dam |
| Fig. 11.2. | <i>Aanmaak interferon</i> | Dr. K. Cantell, Helsinki, Finland |
| Fig. 11.4. | <i>Microcarrier</i> | Firma Nunc, Roskilde, Denemar-
ken |
| Fig. 13.1. | <i>Keratitis dendritica</i> | Audiovisuele Dienst, Oogzieken-
huis R'dam |

Fig. 13.2. *Juvenile
larynxpapilloom*

Dr. J.H. Bos, Den Haag

Microscopische opnamen

A.A. Glaudemans, IVEG-TNO

De rest van het fotomateriaal werd vervaardigd in het laboratorium van de schrijver, afdeling virologie van het Primatencentrum TNO.

Register

- aangezichtspijn 175
acridine 74
actinomycine-D 76, 150
acycloguanosine 174
acyclovir 157
adamantine 139
adenine 32
adenovirus 168, 124, 125
adjuvanttherapie 184
Aedes Aegypti 19
affiniteitschromatografie 57, 59,
63, 100
agammaglobulinaemie 117
agarose 60
agglutineren 116, 127, 128
Agromonto, A. 19
AKR-muis 165, 166
alanine 30
albumine 63
alfa-interferon 53, 58, 146, 155,
172, 189, 199
allergie 99
American Cancer Society 186,
194
aminozuur 29, 30, 48
amoëbe 95
amoëbendifterie 15
ammoniumsulfaat 55
ammoniumsulfaatprecipitatie 59
anafylaxis 91
anekdotische studie 169
aneuploïde cel 76, 77
Animalculi 10
Anthrax 14
antigeen 58, 71, 90, 92
antigeen-antilichaam complex 94
antigene determinant 92, 96
anti-interferon 120
antilichaam 93, 94, 114, 116, 190
antilichaamproductie 121
antiserum 126
ara-AMP 181
arginine 30
asparagine (aspn) 30
asparaginezuur 31
aspecifieke afweer 107
assemblagefase 36
astma 95
Atanasio 165
attenuatie (attenuering) 11, 87
Australië-antigeen 140, 141
auto-immuniteit (-proces, -ziekte)
98, 109, 91
Avery 32
Bacillus anthracis 87
bacteriofaag 19, 20, 35, 74
bacteriefilter 15
base-pairing 32, 35
B-cel (zie B-lymfocyt)
BCNU 167
BDF/1-muis 166
Bedson 131
beenmergtransplantatie 117
Behring, E. von 89
Behringwerke 89
Beres-druppels 197
bestralingschimeren 66
Beta-interferon 53, 58, 76, 147,
177, 178, 199
Beyerink 17
bilirubine 141
bindweefselcel 55
bioassay 51, 54
biogen 189
B-lymfocyt 92, 93, 98, 102, 116,
120, 186
blocking (effect) 105, 107, 109
bloedplaatje 146
bloedplasma 146
Blumberg 141
boodschapper-RNA 29, 33, 35,
75, 80, 83
boosterreactie 90, 92

- B388-leukemiecel 167
 budding(-smechanisme) 38, 80, 84
 buffy coat 146
 Burke, D.G. 159
 bursa 93
 Buyanamera-virus 160

 c-AMP 79
 Cantell, K. 144, 170, 183
 carboxylmethylcellulose 143
 Carroll, J. 19
 celdelingsremming 102, 104, 164
 celdifferentiatie 109
 cellulaire immuniteit 92, 97
 celmobiliteit 109
 celtheorie 22
 celtransformatie 40
 celwand 48
 centrale dogma 29
 Chargaff 32
 chemotaxis 96, 97
chlamydiae 74, 109
 cholera 12, 13, 15, 87
 cholera toxine 78
 chromatografie 56
 chromosoom 23, 29
 chromosoom 5 75
 chromosoom 2 75
 chromosoom 21 77
 chronische drager 141, 179
 cibacron-blauw 63
 CM Sephadex 59
 complement 93, 116
 complementactivatie 97
 complementaire structuur 32
 complementbinding(-sreactie) 88, 127
 complementsysteem 95, 96
 complexvorming 93
 concanavale A 74
 contactinhibitie 39, 40
 continue cellijn 39
 correns 28
cotagium vivax fluidum 17
 Crick 32
 cycloheximide 76, 148
 cysteine 30

 cytochrome 32
 cytomegalievirus (CMV) 68, 129, 171
 cytopathogeen 123
 cytoplasma 22

 Dane-particle 139, 140
 Darwin, Ch. 22
 Davaine, C. J. 14
 DBA/2-muis 167
 DEAE Sephadex 59
 delayed type hypersensitivity 91, 98, 109, 111
 demyelinisatie 182
 dermatoom 134, 135
 desensibiliseren 99
 Desmijter, J. 180
 diagnostiek 123
 dialyse 55
 difterie 89
 difterietoxine 109
 Dijkema, R. 201
 diploide fibroblast 47
 DNA (desoxyribonucleinezuur) 29, 32, 50, 53
 DNA polymerase 152
 DNA virus 65
 dominant(e eigenschap) 27, 28
 down-syndroom 78
 dubbelblind 169, 177
 dubbele helix 33
 dubbelstrengs-RNA 68
 dubbelstrengs-RNA theorie 72
 Dumas, A. 12

 Edelstein, M. 189
 Ehrlich, P. 90
 Ehrlich-ascitescel 166
 eiwit 21, 48, 53
 elektroforese 60, 61
 elektronenmicroscop 19, 38, 41, 126
 EMC-virus 80, 160
 endemisch 131
 endonuclease 79
 endotoxine 74
 enkelstrengs-RNA 67
 enkelstrengs-RNA-virus 35

- enzym 29, 48, 53
 epidemiologie 123, 127
 epitheelcel 24
 Epstein-Barr-virus 129, 147
 erfelijkheidsleer 24
 eukaryotische cel 65
 Eurotransplant 178
 evolutie 22
 expressie tumorantigeen 109
- fagocyt 89, 92
 fagocyterende activiteit 108, 109
 Falcoff, E! 165, 171, 183
 Falcon 149
 Fase-I-studie 183, 189
 Fase-II-studie 183
 Fase-III-studie 183
 Fase-IV-studie 183
 fibroblasteninterferon 58
 filtreerbaar agens 17
 Finter, N. 161
 Findlay 46
 Flash Gordon 195
 Fleming 143
 fosfokinase 83, 85
 fosfolide 48
 Fracastoro, G. 9
 Friend-leukemievirus 166
 fuseren 75, 77
 fytohomeagglutine 74
- Galactose 49
 gamma-interferon 52, 53, 58, 71,
 156, 167, 198, 199
 geelzucht 141
 geënuceerde cel 81
 Gele koorts(-virus) 17, 46, 68,
 123, 126, 127
 gen 28
 genenbibliotheek 155
generatio spontanea 10, 11
 genetische code 34
 gerandomiseerde trial 185
 gisting 12
 genetica 24
 genetische manipulatie 142
 geslachtscel 25
 getransformeerde cel 103, 109
- glucose 49
 glutamine(-zuur) 30, 31
 glycerol 48
 glycine 30
 glycoproteïne 52, 58, 155
 glycolyse 49
 Goodpasture 37
 gordelroos (Herpes zoster) 133,
 135, 176
 granulocyten 92, 115
 Gresser, I. 144, 162, 165
 griepvaccin 130
 griepvirus, zie influenzavirus
 groeihormoon 151
 groeiremming 109
 guanosine 32
- Haedel 25
Haemophilus influenzae 138
 Harvard-universiteit 179
 H-chains 88, 94, 95
 helenine 71, 74
 Henle, F. 13
 hepatitis-A 139
 hepatitis-B (infectie) 126, 130,
 139, 140
 hepatitis-B-surface antigeen 140
 hepatitis-non-A-non-B 139
 hepatitis-B-virus 160, 179
 d'Herelle, F. 19
 herpes(-virus) 43, 125, 133, 160,
 171
 herpes(-virus)infectie 120, 136,
 161
 herpeskeratitis 173
 herpes-B-virus 129
 herpes simplex 136, 175
herpes zoster, zie gordelroos
 heterologe cel 79
 heterozygoot 27
 histamine 95, 109
 histidine 31
 historische controle 184
 H-keten 96
 Ho, Monte 175, 176
 Hoffmann-la Roche 198
 homologe cel 79
 homozygoot 27

- hondsdolheid 11, 12, 65, 68, 87,
 125, 160
 hoornvliesontsteking 147, 170,
 171
 Hoskins 43
 Houston 190
 HuIFN-alfa-2 63
 humorale immuniteit 92
 hybride 75, 77
 hybride cel 100
- iatrogene ziekte 139
 IF 1h 66
 IF 1-1 66
 IFN-receptor 79
 IgA 88, 95
 IgD 88
 IgE 88, 95
 IgG 88, 90, 95
 IgM 88, 90, 95
 immunisatie 86
 immuniteit 86
 immunofluorescentie 126
 immunogene werking 91
 immunologie 86
 immunologische tolerantie 92
 immuun(type) interferon, *zie*
 gamma-interferon
 immuunfluorescentie 176
 immuunglobuline, *zie*
 antilichaam
 immuunmodulatie 110
 immuunsuppressie(ve
 therapie) 99, 111
 immuunsuppressiva 179
 incubatietijd 117
 inducer 107
 inductiefase 74
 inductor-replacing-theorie 72
 infectieuze geelzucht 128
 influenza 68, 80, 124, 138, 160
 influenza-infectie 119
 influenzavirus 46, 125, 127, 159,
 161, 172
 initiatiefactor 79, 83
 insuline 151
 interferon
 -, aminozuursamenstelling 62
 -, bijwerkingen 192
 interferonassay 54
 interferonkristal 64
 interferonreceptor 78
 internationale standaardpreparaat
 52, 158
 ionenwisselingschromatografie
 57, 59, 62
 Isaacs, A. 45, 159
 iso-elektrisch focuseren 61
 iso-elektrisch punt 53
 isoleucine 30
 Ivanowski 17
- Jenner 86, 130, 131, 133
 juveniel larynxpapilloom 187
- kaliumthiocyanaat 146
 Kappa-type 93
 Karolinska Ziekenhuis 184, 186,
 194
 keratitis, *zie* hoornvlies-
 ontsteking
 keratitis dendritica 173, 174
 kernzuur 21, 29
 kippe-embryo 120
 'kissing-disease', *zie* Pfeiffer
 Koch, R. 13, 89
 koepokvirus 112, 130, 133, 156,
 159, 170
 Koning 174
 Koningin Wilhelmina Fonds 149,
 200
 koolhydraat 21
 koorts 109, 114, 181
 koortssuitslag 133, 173
 korte keten 93
 kraamvrouwenkoorts 12, 13
 Kuru-Kuruvirus 181
- labdatype 93
 laboratoriumstandaard 54
 latentie 136
 Lazear, W. 19
 L-chain 88, 93, 94
 LCM-virus 164
 Leeuwenhoek, A. van 9
 lectine 49, 58, 63, 69, 71, 156

- lepra 133
 leucine 30
 leukemie 84, 165
 leukemiecel 166
 leukemievirus 38, 80
 leukocyt 55, 144, 146
 leukocyteninterferon 58
 leukopenie 103, 109, 191
 levercirrhose 179
 lichte keten (zie L-chain)
 Ligand 63
 Lindenmann, Jean 45, 159
 lipide 21, 48
 lipopolysaccharide 74
 Lister, J. 12
 lokaal ontstekingsverschijnsel
 114
 LSTRA-leukemiecel 167
 L-1210-cel 81, 167
 lymfoblast 147
 lymfoblasteninterferon 58
 lymfocyt 23
 lymfokine 97, 199
 lysine 30
 lysozyme 92
- MacCullum 46
 macrofaag 92, 94, 97, 109, 114,
 115, 121, 122, 168
 Magrassi 43
 major histocompatibility complex
 118
 malaria 9
 matrix 63
 maturatie 36
 mazelen 68, 87, 130
 Medisch Biologisch Laboratorium
 201
 Meister, J. 89
 membraanfiltratie 55
 Mendel, J. (Gregor) 25
 Mengo 80
 menselijke tumorcel 166
 Merigan, T. 176, 180
 messenger-RNA (m-RNA), zie
 boodschapper-RNA
 mestcel 95
 Metchnikoff, E. 89
- methionine 30
 methotrexaat 167, 185
 MHC-restrictie 118
 microcarrier 147, 148
 microfaag 92
 miltvuur 12, 13, 14, 87
 'Misinterpreton' 51
 Moerman-dieet 197
 moleculaire biologie 33
 moleculaire filtratie 56
 moleculaire gelfiltratie 59, 60
 mond- en klauwzeer 17
 mond-en-klauwzeervirus 129
 mongoloïde idiotie 78
 monoclonale antilichaamtechniek
 101
 monoclonaal antilichaam 63, 99,
 100
 monolayer 39
 monosaccharide 49
 Montague, M. W. 133
 MS2 phaag 125
 muizeleukemiecel 81
 multiple myeloom 186
 multiple sclerose 182
 mutant 22
 mutatie 22
 MW 25 73
 mycofaag 35, 71, 74
 mycoplasmata 74
 myeloom 100
- National Cancer Institute 194
 natural-killer-cel (NK-cel) 109,
 110, 114, 121, 122, 165, 168
 'natuurlijk' interferon 191
 Nelmes, S. 87
 neonatale groeiremming 106
Nervus trigeminus 175
 Newcastle-Disease virus 58
 niertransplantatie 117
 niet-specifieke afweer 92
 niet-virale inductoren 70, 143
 NK-cel, zie Natural-Killer-cel
 non-permissive temperature 67
 NIII-muis 165
 nucleïnezuur 21, 29, 50, 53
 nucleotide 29, 50

- nucleus 22
nude-muis 165
 Nuttal 89
 NZB-muis 164
- oligo(A)synthetase 83, 85, 103
 oligonucleotide 80
 oncogeen herpesvirus 166
 ontkapseling 35
 ontstekingscentrum 115
 oppervlaktelading 109
 orthomyxovirus 138
 osteosarcoom 184
 osteosarcoomcel 166
- paarde-influenzavirus 181
 pandemie 137
 panencefalitis 182
 Paracelsus 9
 para-influenza 68
 parasiet 43, 95
 Pasteur, L. 11, 87
 pasteuriseren 12
 pathogenese 123
 Paucker, K. 102
 pectine 49
 penetratie 36
 penicilline 43, 143
Penicillum funiculosum 71
Penicillum stoloniferum 70
 periodiciteit 128
 permissive temperature 67
 Pettenkofer, M. von 16
 Pfeiffer(-, ziekte van) 89, 129, 133
 phenylalanine 30
 Phipps, J. 87
 placebogecontroleerd 169, 177
 plasmacel 186
 plasmide 152, 153, 154
 plaque 20
 plaque forming unit 21
 pokken 86, 130, 131
 pokkenvirus 86, 87, 132
 polio 68, 87, 126
 poliovirus 65, 117, 124, 125, 127
 polyacrylamidegel electroforese 61
- polyacrylic acid 74
 poly I-C 58, 63, 71, 109, 111, 143, 148, 158
 polylysine 143
 polyomavirus 166
 polynucleotide 74
 polysaccharide 49
 polyvinyl 74
 'porte d'entree' 123, 124
 postherpetische neuralgie 177
 precipitatie 55
 preventiefonds 149
 primaire cultuur 39
 primaire infectie 137
 primaire infectieplaats 113
 primaire viremie 115
 priming 105, 109
 prokaryoten 65
 proline 31
 prostaglandinen 109
 proteïnekinase 79
 protozoën 74, 109
 pseudo-rabies 129, 160
 Pyran 74
 publiciteit 194
 purine 50
 pyrimidine 50
- Rabies(-virus), zie hondsdolheid
 Ramon 91
 Ramses V 131
 randomisering 169
 ratte-interferon 82, 200
 Rauscher-leukemievirus 166
 reacteren 175
 receptoren 46, 199
 receptormolecuul 78
 recessief(-, eigenschap) 27, 28
 recombinant-DNA-interferon 188, 190
 recombinant-DNA-techniek 62, 144, 151
 recombinant HuIFN alpha 2 191
 Redi, F. 10
 Reed, W. 19
 refractoire toestand 143
 Rega Instituut 177
 reïncultuur (-kweek) 13, 14

- reovirus 67, 80
 replicatie 36
 repressor 69, 75
 repressor-replacing hypothese 68, 72
 resusaap 127, 129, 156, 163, 191
 reticulo-endotheliaal systeem 115
 retrovirus 29
 reumafactor 98
 reverse transcriptase 29, 84, 152, 154
 rhinovirus 68, 124
 Richet 91
Rickettsiae 74, 109
 Rift-Valley-Fevervirus 46
 RNA (ribonucleïnezuur) 29, 32, 53
 RNA-polymerase 67
 RNA-virus 18, 29, 65
 RNA-tumorvirus 84
 rode bloedcel 146
 rode hond 68, 126, 130
 rollerfles 147
 rollermachine 149
 röntgendiffractiemethode 32, 37
 röntgendiffractiepatroon 32
 rotavirus 41
 Rotterdamsch Radiotherapeutisch Instituut 139
 Rous-sarcomavirus 166
 RSV 68
 RIII-muis 166
- Schering-Plough 189, 198
 schildklier stimulerend hormoon 78
 Schleiden 22
 Schwamm 22
 Scientific Committee 170, 171
 secundaire infectie 137
 secundaire viremie 115
 selectieve groei-media 12
 self-limiting 113
Seminaria contagiosa 9
 Semliki-Forestvirus 67, 160, 162
 Semmelweis, I. 12
 Sendaivirus 58, 146, 160
 serine 31
- serumhepatitis, zie hepatitis-B
 serumtherapie 89
 serumziekte 91
 SFV 80
 Shell 194, 198
 'Shot-gun'-methode 154
 Sindbis 67
 slow viruses 181
 S1-nuclease 152
 Soloviev 171
 soortspecifiek 52
 specifieke activiteit 64
 specifieke afweer (immunitet) 107
 spermidine 92
 spiercel 24
 sporen 14
 sporenvorming 13
 SSPE 182
 Stanford 190
 Stanley, W. 21
 statolon 70, 74
 sterilisatie 12
 Strander, H. 144, 184, 194
 streptokokken 99
 subacute scleroserende panencefalitis (SSPE) 182
 subklinisch 139
 subtype 64
 suikers 49
 suikerverbindingen 53
 superinductie (-productie) 75, 76, 148
 superinfectie 124, 132, 135
 Sutton 28
 SV40 80
 syfilis 133
 synergistisch effect 167
 synthetisch (dubbelstrengs) RNA 63, 71
- tabaksmozaïekvirus (TMV) 18, 21, 125
 tabaksmozaïekziekte 17
 T-cel, zie T-lymfocyt
 T-cel interferon 199
 temperatuurgevoelige mutanten 67

- terminaal transferase 152
 tetanus 89
 3-Methylcholanthreen 166
 TFT (trifluorothymidine) 173, 174
 threonine 31
 thymidine 32
 thymus 93
 tilorone 73, 74
 Time (tijdschrift) 195
 T-lymfocyt 55, 58, 71, 92, 93, 97,
 98, 111, 114, 116-118, 156, 198
 TNO 195
 Tommilla 171
 toxine 91, 96
 transcriptie 36, 80, 83
 transferrine 92
 transformeren 39, 40, 41
 transfusie 145
 translatie 36, 80, 83
 transplantabele tumor 166
 transplantatie-antigeen 118
 transport-RNA (t-RNA) 34, 80
 trial 185
 trichloorazijnzuur 55
 trigeminus-neuralgie 175
 trilhaarepitheel 138
 Triplet 34
 trisomie-21 78
 t-RNA, *zie* transport-RNA
 trypsine 39, 78
 tryptofaan 30
 Tsermach 28
 Ts-mutant 67
 T2-phaag 125
 tuberculose 13
 tuberkelbacterie 14, 71
 tumor 41, 164
 tumorantigeen 165, 168
 tumorvirus 130, 164, 168
 2P-5P 103
 Twort, W. 19
 type I-interferon 58
 type II-interferon 58, 167
 tyrosine 30

 uitputting(sverschijnsel) 70, 73
 uitzouting 55
 uncoating 35, 36, 83

 uridine 32

 vaccin 87
 vaccinatie 86, 87, 130
 vaccinia 68, 80, 125, 160, 161,
 163, 191
Vaccinia gangrenosa 170
 valine 30
 varicella-zoster 68, 133, 159
 varicella-zoster-achtig virus 160
 variola(-virus), *zie* pokken(-virus)
 variolatie 86, 133
 Varro, M. 9
 vesicular-stomatitis virus 35, 44,
 68, 80, 123, 160, 162
 vetten 53
 vetzuur 48
 virale interferentie 43
 viremie 132
 virulentie 65, 123
 virusantigeen 121
 viruskapsel 48
 virusneutralisatietest 127
 VSV, *zie* vesicular-stomatitis
 virus

 waterpokken, *zie* varicella-zoster
 weefselkweek 38
 Weimar, W. 178, 180
 Weissmann, Ch. 153
 Wereldgezondheidsorganisatie
 (WHO) 130, 133
 Wet van de Onafhankelijke
 Segregatie 27
 Wilde, Mevr. G. de 200
 Witebsky 91
 witte bloedcel, *zie* leukocyt
 Wright 90

 X-chromosoom 26
Xenopus laevis 155

 Y-chromosoom 26

 zelftolerantie 92, 98
 zenuwcel 24
 Ziekenfondsraad 188
 zinkacetaatprecipitatie 59

zuurgraad 53
zware keten, *zie* H-chain
zwavelbrug 94

Interferon

Ontdekking, werking, toepassing

In de jaren '30 stuitte men in de medische wetenschap op de zogenaamde *virale interferentie*: het verschijnsel dat een weefsel of organisme dat met één virus is besmet, niet nog eens door een andere virussoort besmet kan worden. In 1957 ontdekten Isaacs en Lindenmann een stof, geproduceerd door de geïnfecteerde cel, met een sterk interfererende werking. Ze noemden de stof *interferon*. Interferon bleek het belangrijkste middel van allerlei organismen (tot planten tõe) om zich te beschermen tegen aanvallen van virussen.

Sinds 1957 is er veel onderzoek gedaan aan interferon met als voornaam doel het toepasbaar maken als geneesmiddel voor de mens. De weg naar dit doel bleek versperd door een onverwacht groot aantal obstakels. Het heeft tot het midden van de jaren '70 geduurd voordat de eerste echte proefnemingen bij de mens op beperkte schaal konden beginnen. De eerste resultaten zijn hoopgevend; ook bij de behandeling van kanker kan interferon wellicht worden toegepast.

Dit boek over de ontdekking, de produktie en de toepassing van interferon is bestemd voor medische studenten, wetenschappelijk onderzoekers en artsen, maar is zo geschreven dat iedere geïnteresseerde het zonder problemen kan volgen.

Dr. Huub Schellekens, arts en microbioloog, promoveerde op een proefschrift over interferon en is werkzaam op het primatencentrum van TNO te Rijswijk.