Universiteit
Leiden
The Netherlands

Immune modulation by helminths and the impact on the development of type 2 diabetes

Ruiter, K. de

Citation
Ruiter, K. de. (2019, March 26). *Immune modulation by helminths and the impact on the development of type 2 diabetes*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/70477

Version:	Not Applicable (or Unknown)
License:	Leiden University Non-exclusive license
Downloaded from:	https://hdl.handle.net/1887/70477

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page

Universiteit Leiden

The handle http://hdl.handle.net/1887/70477 holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Ruiter, K. de
Title: Immune modulation by helminths and the impact on the development of type 2 diabetes
Issue Date: 2019-03-26

&

NEDERLANDSE SAMENVATTING
DANKWOORD / ACKNOWLEDGEMENTS
CURRICULUM VITAE
LIST OF PUBLICATIONS

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Parasitaire worminfecties en het immuunsysteem

Naar schatting is een kwart van de wereldbevolking geïnfecteerd met parasitaire wormen. Deze infecties worden voornamelijk aangetroffen in tropische landen, in gebieden met slechte hygiënische omstandigheden. De meest voorkomende parasitaire wormen leven in het maag-darm kanaal, zoals mijnwormen (*Necator*, *Ancylostoma*), spoelwormen (*Ascaris*) en zweepwormen (*Trichuris*). Een geïnfecteerd persoon kan via zijn/haar ontlasting de bodem besmetten met wormeieren. Nieuwe personen worden vervolgens geïnfecteerd wanneer ze de wormeieren inslikken via besmet voedsel of vieze handen. Sommige wormlarven, zoals die van mijnworm, kunnen de intacte huid binnendringen. Zowel kinderen als volwassenen kunnen op deze wijze geïnfecteerd raken als zij bijvoorbeeld geen schoenen dragen. De levenscyclus van de wormen wordt in stand gehouden doordat de eieren en larven zich in de darmen van een geïnfecteerd persoon ontwikkelen tot volwassen wormen die weer nieuwe eieren produceren. Hoewel de wormen soms tot tien jaar in de darmen aanwezig blijven, verlopen de infecties vaak zonder klachten.

Het afweersysteem, ook wel immuunsysteem genoemd, beschermt ons tegen ziekteverwekkers zoals virussen, bacteriën en parasitaire wormen. De ziekteverwekkers die het lichaam weten binnen te dringen worden opgewacht door een gemengde verzameling van witte bloedcellen (immuuncellen) met verschillende functies (bijv. T-helpercellen, B cellen, dendritische cellen, monocyten, macrofagen, 'killercellen', eosinofielen en neutrofielen). Het type ziekteverwekker bepaalt welke witte bloedcellen in actie komen. Virale of bacteriële infecties activeren veelal T-helper-1 (Th1) cellen, terwijl parasitaire wormen Th2 cellen activeren en een type 2-afweerreactie opwekken. Het is van groot belang dat de verschillende componenten van het afweersysteem in balans zijn en dit wordt aangestuurd door onder andere regulatoire T (Treg) cellen. Bij een worminfectie is deze immuunregulatie in het voordeel van zowel de geïnfecteerde persoon (de gastheer) als van de worm. In de gastheer zorgt immuunregulatie er namelijk voor dat de schade aan de omliggende weefsels die gepaard gaat met afweerreacties beperkt blijft, terwijl de worm niet wordt aangevallen door een sterke afweerreactie en dus langer kan overleven.

Wormen en diabetes type 2

Studies hebben aangetoond dat de door een worminfectie geactiveerde type 2 en regulatoire afweercellen, mogelijk een beschermend effect hebben op de ontwikkeling van andere ziektes waarbij het immuunsysteem ontregeld is. Dit betreft bijvoorbeeld allergieën en auto-immuunziekten. Ook bij mensen met overtollig vetweefsel (obesitas) zijn de verschillende componenten van het afweersysteem uit balans en dit vergroot de kans op diabetes type 2. Patiënten met diabetes type 2 zijn minder gevoelig voor insuline, het hormoon dat ervoor zorgt dat glucose uit het bloed kan worden opgenomen

door lichaamscellen, zodat het gebruikt kan worden om energie van te maken. Als cellen echter niet meer reageren op insuline, oftewel insuline resistent zijn geworden, blijven bloedsuikerspiegels hoog en dit kan op lange termijn zenuwen en bloedvaten beschadigen. In muizen is aangetoond dat gezond vetweefsel wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van type 2-afweercellen die de werking van insuline bevorderen. In het vetweefsel van muizen met overgewicht daarentegen, ontstaat een chronische ontsteking die gepaard gaat met een type 1-afweerreactie. Deze type 1-afweercellen belemmeren de werking van insuline. Zie figuur 2 in hoofdstuk 1 voor een illustratie waarin bovenstaande wordt samengevat.

Aangezien worminfecties een type 2-afweerreactie opwekken en geassocieerd worden met een versterkte immuunregulatie, hebben wij onderzocht of worminfecties, of moleculen afkomstig van wormen, een beschermend effect hebben op de ontwikkeling van diabetes type 2. Tevens is onderzocht hoe worminfecties de activatie van verschillende soorten witte bloedcellen beïnvloeden. Dit onderzoek is uitgevoerd in de vorm van een klinische studie en daarnaast is er gebruik gemaakt van een muismodel.

Het effect van ontwormen op de ontwikkeling van diabetes type 2

Het effect van worminfecties op de ontwikkeling van diabetes type 2 kan worden onderzocht door de ene helft van een onderzoeksgroep te behandelen tegen worminfecties en de andere helft met een placebo. Dit hebben wij gedaan in een gebied waar veel mensen met wormen zijn besmet, in het 'SugarSPIN' project op Flores, Indonesië. **Hoofdstuk 2** beschrijft het studieprotocol dat is gebruikt om te onderzoeken of worminfecties een gunstig effect hebben op insuline resistentie, een veelgebruikte indicator en voorspeller voor de ontwikkeling van diabetes type 2. Gedurende 1 jaar is de onderzoeksgroep behandeld en deelnemers ontvingen hiervoor elke 3 maanden, 3 dagen achter elkaar medicatie tegen worminfecties (albendazole) of een placebo. Naast het uitvoeren van antropometrische metingen (lengte, gewicht, heup- en tailleomvang), zijn er voor en na de behandeling bloed, urine en feces monsters verzameld om veranderingen in insuline resistentie (en andere metabole parameters) en afweersysteem te kunnen meten. **Hoofdstuk 3** beschrijft de onderzoeksresultaten van deze studie. De behandeling tegen wormen heeft ertoe heeft geleid dat het aantal worminfecties na 1 jaar sterk verlaagd was. Toen we het effect van de behandeling op insuline resistentie onderzochten, bleek dat er een kleine, maar significante toename in insuline resistentie was opgetreden in de groep mensen die voor aanvang van de behandeling geïnfecteerd waren. Dit resultaat is het eerste directe bewijs in mensen dat worminfecties een beschermend effect kunnen hebben op insuline resistentie, en dus op de ontwikkeling van diabetes type 2. Daarnaast bleek dat de toename in insuline resistentie voornamelijk was toe te wijzen aan een toename in Body Mass Index (BMI) en een afname in het aantal eosinofielen, een bepaald type witte bloedcellen dat betrokken is bij type 2-afweerreacties.

Het mogelijk beschermende effect van parasitaire wormen op insuline resistentie is ook onderzocht in muizen met overgewicht. Ten opzichte van het SugarSPIN project,

bieden deze experimenten meer mogelijkheden om het onderliggende mechanisme te onderzoeken. Het is bijvoorbeeld mogelijk om de compositie van immuuncellen in het vetweefsel te bekijken, iets wat in mensen een stuk lastiger is. Daarnaast is het muismodel erg geschikt om onderzoek te doen naar moleculen afkomstig van wormen, die in staat zijn om het gunstige effect van een worminfectie te reproduceren om de ontwikkeling van diabetes type 2 in obesitas tegen te gaan. Om die reden is in **hoofdstuk 4** onderzocht of omega-1, een eiwit van *Schistosoma*-eitjes dat sterke Th2-sturende capaciteiten heeft, de insulinegevoeligheid in muizen met overgewicht kan bevorderen. Muizen op een hoog-vet-dieet die herhaaldelijk werden geïnjecteerd met omega-1 werden minder dik, de cellen in het lichaam namen glucose sneller op en de muizen waren gevoeliger voor insuline, in vergelijking met soortgenoten die niet met omega-1 werden behandeld. Dit ging gepaard met een type 2-afweerreactie in het vetweefsel. Om te onderzoeken of het positieve effect van omega-1 op insulinegevoeligheid echt veroorzaakt wordt door de type 2-afweerreactie, hebben we dit experiment ook uitgevoerd in zogenaamde STAT6-*knockout* muizen op een hoog-vet-dieet. Deze muizen zijn genetisch gemanipuleerd waardoor er geen type 2-afweerreactie kan worden opgewekt. Tegen de verwachting in, bevorderde omega-1 de insulinegevoeligheid ook in deze muizen wat aantoont dat het effect onafhankelijk is van de type 2-afweerreactie. Zowel de normale als de STAT6-*knockout* muizen, beide behandeld met omega-1, aten minder dan hun soortgenoten die niet met omega-1 werden behandeld. Dit resultaat suggereert dat dit eiwit mogelijk een effect heeft op de signalering in de hersenen die de voedselinname reguleert. Om deze hypothese te toetsen is echter verder onderzoek nodig.

Zie figuur 1 in hoofdstuk 9 voor een illustratie die de resultaten van hoofdstuk 3 en 4 samenvat.

Het effect van ontwormen op de verschillende componenten van het afweersysteem

In de volgende hoofdstukken hebben we het effect van worminfecties op de verschillende type witte bloedcellen in mensen verder onderzocht, omdat dit het positieve effect van wormen op insuline resistentie mogelijk zou kunnen verklaren. Tijdens een veldstudie zoals het SugarSPIN project zijn de onderzoeks-voorzieningen beperkt. Hierdoor zijn er methodes nodig waarmee we cellen kunnen invriezen zodat ze naar Nederland kunnen worden getransporteerd voor verder onderzoek. **Hoofdstuk 5** beschrijft de ontwikkeling van de methode om bepaalde soorten witte bloedcellen, namelijk eosinofielen en neutrofielen, in te vriezen tijdens een veldstudie zodat de activatie status van deze cellen later gemeten kan worden. Het is bekend dat eosinofielen onderdeel uitmaken van de type 2-afweerreactie, terwijl neutrofielen over het algemeen meer betrokken zijn bij type 1-afweerreacties. Deze methode is toegepast tijdens het SugarSPIN project in Indonesië en **hoofdstuk 6** beschrijft de studie waarin we in een deel van de totale onderzoeksgroep hebben onderzocht of worminfecties resulteren in een verhoogde activatiestatus van eosinofielen en neutrofielen. Hoewel het aantal eosinofielen in het

bloed sterk afnam in de groep mensen die behandeld was tegen wormen, was er tegen de verwachting in geen verschil in de activatiestatus van de eosinofielen en neutrofielen. Dit kan worden verklaard door het feit dat dit type witte bloedcellen zich voornamelijk in de weefsels bevindt. Het is daarom mogelijk dat de activatiestatus van de cellen in het bloed geen goed beeld geeft van wat zich afspeelt in de weefsels. Daarnaast kan het zijn dat de activatiestatus toch nauwkeuriger kan worden bepaald in cellen die niet ingevroren zijn geweest.

Naast Th2 cellen en eosinofielen, wordt de type 2-afweerreactie ook gekenmerkt door een toename van IgE, een antilichaam geproduceerd door B cellen, en bepaalde cytokines (eiwitten die belangrijk zijn voor de communicatie tussen cellen) zoals IL-4, IL-5 en IL-13. **Hoofdstuk 7** beschrijft dat de behandeling tegen wormen verschillende effecten kan hebben op de verschillende componenten van de type 2-afweerreactie. In vergelijking met de groep mensen die een placebo-behandeling kregen, resulteerde de behandeling tegen wormen namelijk in een afname in de concentratie van IgE, terwijl de productie van IL-5 niet significant veranderde en eerder leek toe te nemen. Het is de eerste keer dat deze verschillende effecten zijn aangetoond in één onderzoeksgroep. Het resultaat is een aanwijzing dat men rekening moet houden met de verschillende effecten op de type 2-afweerreactie in studies naar de invloed van parasitaire wormen op de ontwikkeling van ontstekingsziekten.

Tot slot is er in **hoofdstuk 8** gebruik gemaakt van een recentelijk ontwikkelde techniek genaamd 'Massa cytometrie' (CyTOF), waarmee het mogelijk is om de expressie van 37 specifieke eiwitten (markers), cel voor cel, te bestuderen en zo de complexiteit van het afweersysteem in detail te onderzoeken. Door de cellen van Indonesische mensen met een worminfectie voor en na behandeling met elkaar te vergelijken, hebben we onderzocht welke specifieke cellen binnen de type 2-afweerreactie en de Treg cellen een rol spelen tijdens worminfecties. Daarnaast hebben we het afweersysteem van deze Indonesische mensen vergeleken met een groep gezonde Europeanen. De geconstateerde verschillen in het afweersysteem tussen Europeanen en Indonesiërs kunnen van belang zijn voor het begrip van de toenemende hoeveelheid mensen met diabetes type 2, en mogelijk bijdragen aan de ontwikkeling van oplossingen voor dit probleem. Daarnaast is deze kennis van belang voor de ontwikkeling van vaccins. Er zijn namelijk wereldwijd verschillen in de werkzaamheid van vaccins en dit wordt deels toegewezen aan veranderde levensomstandigheden (verbeterde hygiëne, minder blootstelling aan bacteriën en parasieten) in Westerse landen, waardoor er vermoedelijk plaatsgebonden verschillen in het afweersysteem zijn opgetreden.

Conclusie

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift biedt nieuwe inzichten in de interactie tussen parasitaire wormen, het afweersysteem en de ontwikkeling van diabetes type 2. De studies laten zien dat zowel worminfecties in mensen, als de toediening van wormmoleculen in muizen met obesitas, een positief effect hebben op de insulinegevoeligheid en hierdoor het

risico op diabetes type 2 verkleinen. Hoewel dit werk aantoont dat de type 2-afweerreactie en Treg cellen belangrijke en complexe onderdelen van ons afweersysteem vormen, zal toekomstig onderzoek moeten uitwijzen hoe cruciaal de rol van deze afweerreacties is in de ontwikkeling van ontstekingsziektes waarbij een type 2-afweerreactie wenselijk is, zoals diabetes type 2. De verwachting is dat studies waarbij gezonde proefpersonen onder gecontroleerde omstandigheden worden geïnfecteerd met parasitaire wormen ("Controlled Human Infections") hier aan bij zullen dragen.