



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **extinguishing metaflammation: mechanisms and therapeutic opportunities for immunological control of metabolic dysfunctions**

Zande, H.J.P van der

### **Citation**

Zande, H. J. P. van der. (2023, January 26). *extinguishing metaflammation: mechanisms and therapeutic opportunities for immunological control of metabolic dysfunctions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3513911>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3513911>

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

# APPENDICES

---

Nederlandse samenvatting

Curriculum vitae

List of publications

Dankwoord / acknowledgements



---

## Begrippenlijst

**Adipocyten:** Vetcellen

**Antigenen:** Stukjes van cellen of ziekteverwekkers waar het immuunsysteem op kan reageren

**ATP citraat lyase (Acy):** Enzym betrokken bij het metabolisme, belangrijk voor het maken van vetten en cholesterol, en het reguleren van de expressie van genen

**Acy-deficiënte macrofagen:** Macrofagen die geen Acy kunnen maken

**Cytokines/chemokines:** Signaalstofjes die gemaakt worden door cellen om met elkaar te communiceren

**DC<sup>LKB1</sup> muizen:** Muizen waarvan de dendritische cellen geen LKB1 kunnen maken

**Dendritische cellen:** Cellen van het specifieke immuunsysteem die gespecialiseerd zijn in het controleren van hun omgeving op ziekteverwekkers en het instrueren van T cellen

**Genen:** Stukje DNA dat de code beschrijft voor het maken van eiwitten

**Genexpressie:** De mate van uitlezen van een gen, wat de hoeveelheid te maken eiwit bepaald

**Glycanen:** Koolhydraatstructuren verbonden aan eiwitten en vetten

**Glycoproteïnen:** Eiwitten waaraan koolhydraatstructuren verbonden zijn

**Helminthen:** Groep parasitaire wormen die bekend staan als sterkste natuurlijke opwekkers van type 2 immunoreacties

**Homeostase:** Gezonde balans

**Immunomoduloire moleculen:** Moleculen die het immuunsysteem kunnen beïnvloeden

**Inflammatie:** Ontstekingsreactie

**Insulineresistentie:** Ongevoeligheid voor het hormoon insuline, wat de bloedsuikerspiegel reguleert

**In vitro:** Type onderzoek wat zich afspeelt buiten een levend wezen, bijvoorbeeld in een reageerbuis in het laboratorium

**In vivo:** Type onderzoek wat zich afspeelt in een levend wezen, bijvoorbeeld een muis

**Lever kinase B1 (LKB1):** Eiwit betrokken bij het metabolisme dat in dendritische cellen een rol speelt bij T cel priming

**Macrofagen:** Veelzijdige cellen van het specifieke immuunsysteem die hun omgeving beschermen door (delen van) cellen en ziekteverwekkers op te eten en onschadelijk te maken. Spelen ook een rol bij het behouden van homeostase

**Metabole homeostase:** Gezonde balans van het metabolisme, waarin metabole weefsels gevoelig zijn voor insuline

**Metabole weefsels:** Weefsels betrokken bij het metabolisme, zoals vetweefsel, de lever en spieren

**Metaflammatie:** Ontsteking in metabole weefsels die leidt tot insulineresistentie

**pLe<sup>X</sup>- $\omega$ 1:** Belangrijk immunomoduloir glycoproteïne dat voorkomt in SEA en type 2 immunoreacties induceert. Geproduceerd in gemodificeerde planten waardoor de glycanen meer lijken op het  $\omega$ 1 uit SEA

**Pro-inflammatoir:** Ontstekingsbevorderend

**Schistosoma mansoni:** Soort binnen de helminten

**SEA:** 'Soluble egg antigens', een mix van (immunomoduloire) moleculen uit *Schistosoma mansoni* eitjes

**sMR:** Oplosbaar extracellulair gedeelte van de mannose receptor dat afgeknipt kan worden en in verband gebracht is met ontstekingsziekten

**Stat6<sup>-</sup> muizen:** Muizen die geen STAT6 maken en zodoende geen type 2 immunoreactie kunnen starten

***T cel priming:*** Het instrueren van T cellen door dendritische cellen, waardoor ze vermenigvuldigen en een specifieke immunoreactie opwekken tegen hetgeen de dendritische cel ze presenteert

***T cellen:*** Cellen van het specifieke immuunsysteem die een specifieke immunoreactie kunnen opwekken op basis van instructies van dendritische cellen

***Totum-63:*** Voedingssupplement op basis van plantextracten ontwikkeld voor het voorkomen van diabetes type 2 in mensen met een hoog risico op het ontwikkelen van diabetes type 2

***Type 2 immunoreactie:*** Soort immunoreactie waarbij type 2 T helper cellen, eosinofielen en alternatief geactiveerde macrofagen een rol spelen. Wordt onder andere opgewekt door helminten en lijkt gunstig voor het behouden van insulinegevoeligheid in metabole weefsel

---

## Nederlandse samenvatting

### Obesitas, diabetes type 2 en metaflammatie

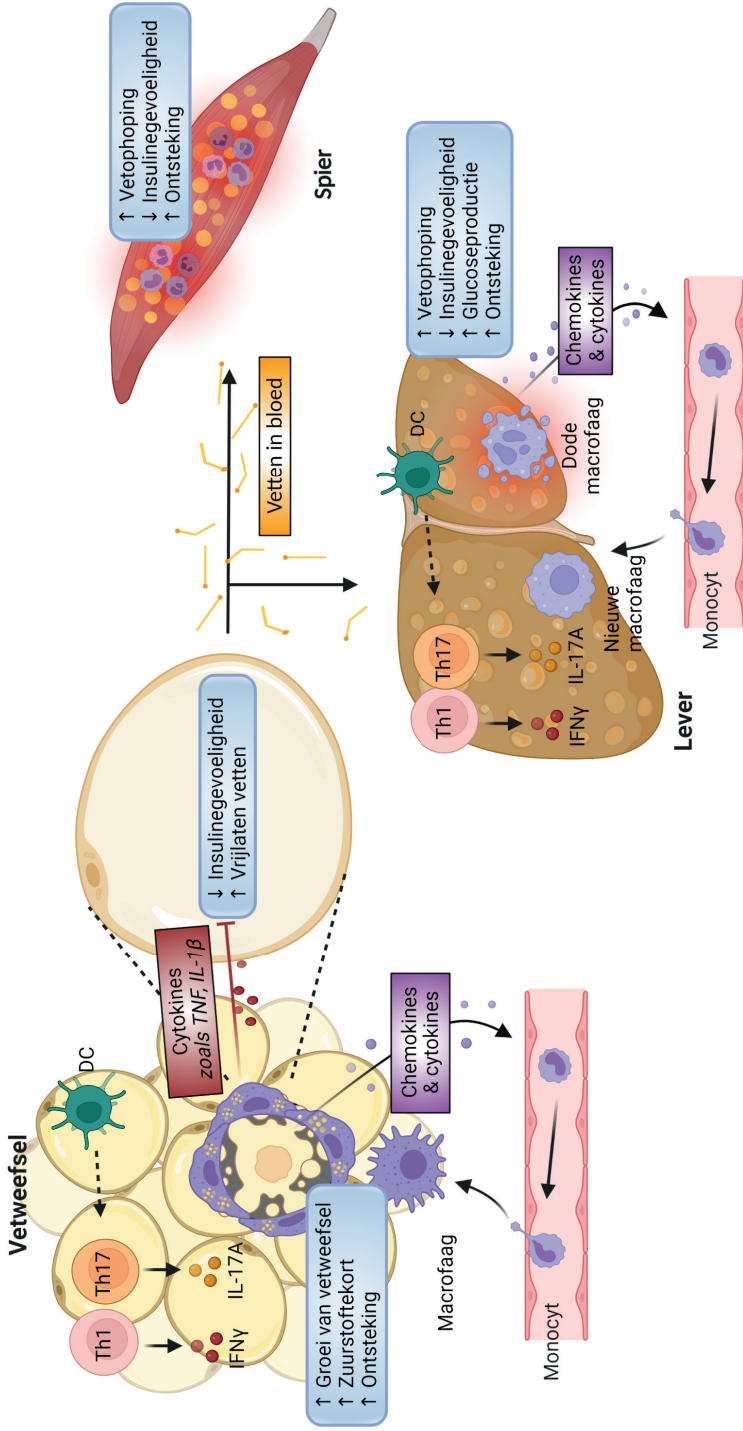
Een chronisch hogere energie-inname dan -verbruik leidt tot overgewicht en obesitas, en verhoogt het risico op het ontwikkelen van verschillende ziekten zoals diabetes type 2, hart- en vaatziekten, en sommige vormen van kanker. Obesitas is momenteel een epidemie ondanks dat het voorkomen kan worden. Volgens de laatste cijfers van de World Health Organisation leden in 2016 wereldwijd 650 miljoen volwassenen aan obesitas, en 450 miljoen volwassenen in 2019 aan diabetes type 2. Leefstijlinterventies – zoals aanpassingen in het dieet, meer bewegen, psychologische begeleiding of een combinatie daarvan – hebben bewezen effect op het verlagen van de risico's van obesitas en het verbeteren van de kwaliteit van leven. Het behouden van gewichtsverlies is voor velen echter een grote uitdaging. Mensen die zijn afgevallen hebben zelfs een verhoogd risico op versnelde gewichtstoename, wat de voordelen van eerder gewichtsverlies teniet doet. Er wordt veel onderzoek naar obesitas en diabetes type 2 gedaan, en diabetes type 2 is dan ook behandelbaar met medicijnen. Helaas pakken deze behandelingen vooral symptomen aan en niet de oorzaak, en zijn we nog niet in staat het tij te keren. Daarom zijn nieuwe, innovatieve behandelmethoden nodig die (betere) alternatieven bieden voor de huidige medicijnen, en/of die leefstijlinterventies ondersteunen om de druk van de ziekte op de maatschappij te verlichten.

Een beter begrip van de mechanismen achter obesitas en bijbehorende complicaties draagt mogelijk bij aan het ontwikkelen van zulke behandelmethoden. Langdurig te veel voeding consumeren zorgt ervoor dat vetcellen (de *adipocyten*) groeien en dat nieuwe adipocyten worden gemaakt. In het vetweefsel wordt hierbij een ontstekingsreactie aangewakkerd, ook wel *inflammatie* genoemd. Hierdoor worden cellen van het immuunsysteem geactiveerd en produceren zij signaalstofjes (zogenaamde *cytokines en chemokines*) die ervoor zorgen dat meer immuuncellen zich verplaatsen naar het ontstoken vetweefsel. Hoe meer immuuncellen, hoe meer cytokines en chemokines. Zo ontstaat een vicieuze cirkel waarbij er steeds meer immuuncellen ophopen in het vetweefsel. Daarnaast verminderen bepaalde cytokines de gevoeligheid van adipocyten voor insuline, het hormoon dat de bloedsuikerspiegel reguleert. Hierdoor neemt het vetweefsel minder glucose op uit het bloed en laat het meer vetten vrij in het bloed. Deze vetten kunnen zich ophopen in spieren en de lever, wat de gezonde balans (*homeostase*) en functie van deze organen belemmerd. Een dergelijke verstoring van de homeostase zorgt voor inflammatie zoals in het vetweefsel, ongevoeligheid van de spieren en de lever voor insuline (*insulineresistentie*), en verhoogde glucoseproductie door de lever. Tezamen leidt dit tot een verhoogde bloedsuikerspiegel en het is deze chronisch verhoogde bloedsuikerspiegel in diabetes type 2 die schade met zich meebrengt, zoals aan bloedvaten

en zenuwen, met alle gevolgen van dien. Diabetes type 2 als gevolg van obesitas wordt dus veroorzaakt door chronische inflammatie in weefsels betrokken bij het metabolisme (*metabole weefsels*), zoals het vetweefsel, spieren en de lever. Dit fenomeen noemen we *metaflammatie*.

Om metaflammatie te begrijpen is een basaal begrip van het immuunsysteem nodig. Dit systeem is essentieel voor de bescherming van het lichaam voor gevaren van buitenaf, maar ook van binnenuit. Zo beschermt het immuunsysteem tegen infecties met bacteriën, virussen, schimmels en parasieten, maar ruimt het ook dode cellen en zelfs tumorcellen op. Het immuunsysteem kan grofweg worden onderverdeeld in twee takken: het aspecifieke immuunsysteem en het specifieke immuunsysteem. Zoals de naam aangeeft, beschermt het aspecifieke immuunsysteem op een niet specifieke manier tegen ziekteverwekkers. Dat wil zeggen dat verschillende ziekteverwekkers op een soortgelijke manier aangepakt worden. Neutrofielen, eosinofielen, monocytten en macrofagen zijn enkele cellen van deze tak van het immuunsysteem die ziekteverwekkers kunnen opeten en/of onschadelijk maken. *Dendritische cellen* (DCs) zijn bijzondere cellen van het aspecifieke immuunsysteem omdat ze de schakel vormen tussen het aspecifieke en specifieke immuunsysteem. Zij doen dit door hun omgeving te scannen op ziekteverwekkers en kleine stukje hiervan, zogenoemde *antigenen*, te presenteren aan *T cellen*. Dit noemen we *T cel priming*. T cellen zijn cellen van het specifieke immuunsysteem, die na priming door DCs alleen een ontstekingsreactie in gang zetten tegen deze specifieke antigenen. Mits zij de juiste signalen ontvangen van DCs, kunnen T cellen zich snel vermenigvuldigen en het immuunsysteem helpen om ziekteverwekkers efficiënt op te ruimen. Daartoe zijn er verschillende typen T cellen die specifiek zijn voor verschillende soorten ziekteverwekkers, en allen hun eigen cytokines produceren. Naast de rol van immuuncellen in bescherming tegen ziekteverwekkers, zijn ze ook in veel gezonde weefsels aanwezig om weefselfunctie te ondersteunen, bijvoorbeeld door dode of beschadigde cellen op te ruimen.

Bij metaflammatie is de homeostase van het immuunsysteem in metabole weefsels dus verstoord. Bij het meeste onderzoek naar metaflammatie is gekeken naar het vetweefsel, aangezien dit wordt beschouwd als de oorsprong van een ontstekingsreactie die leidt tot insulineresistentie. Zowel cellen van ons aspecifieke als specifieke immuunsysteem hopen zich op in het vetweefsel tijdens obesitas, en spelen een rol bij het ontwikkelen van insulineresistentie. Eén van de belangrijke concepten hierbij is de verplaatsing van monocytten uit het bloed naar het obese vetweefsel die zich aldaar ontwikkelen tot *macrofagen* in de inflammatoire omgeving. De cytokines die geproduceerd worden door deze inflammatoire macrofagen, zoals tumor necrose factor (TNF) en interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), remmen de werking van insuline in adipocyten (zie **Figuur 1**). Net als in het vetweefsel, zorgt obesitas in de lever voor activatie van de macrofagen aldaar. Langdurige obesitas zorgt voor celdood van deze macrofagen, waardoor opnieuw monocytten worden aangetrokken die zich ontwikkelen in macrofagen om de ontstane niche op te vullen.



**Figuur 1. Processen van metaflammatie bij obesitas die leiden tot complicaties.** Zie tekst voor details. Th: T helper cell, DC: dendritische cel, IFN $\gamma$ : interferon gamma, IL: interleukine, TNF: tumor necrose factor. Figuur gemaakt met BioRender.com.

Deze nieuwe macrofagen, afkomstig van monocytën, zijn echter ontstekingsbevorderend (*pro-inflammatoir*), wat bijdraagt aan ophoping van vet in de lever, insulineresistentie en uiteindelijk het ziektebeloop van diabetes type 2 (zie **Figuur 1**). De precieze omgevingsfactoren in het vetweefsel en de lever, en veranderingen in de macrofaag die zorgen voor activatie van macrofagen tijdens obesitas en het bevorderen van metaflammatie, zijn tot op heden nog niet volledig bekend. Het bepalen van deze omgevingsfactoren en/of veranderingen kan leiden tot aanknopingspunten voor nieuwe of verbeterde behandelmethoden.

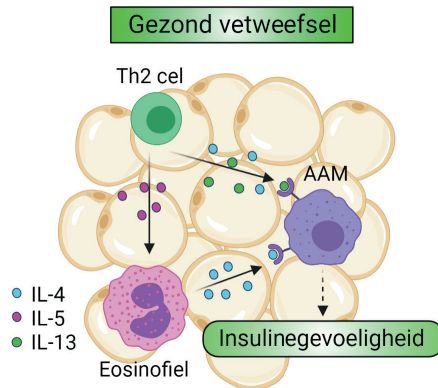
Naast macrofagen dragen ook DCs bij aan het ziektebeloop van obesitas en bijbehorende complicaties. De hoeveelheid DCs in metabole weefsels stijgt tijdens obesitas, en muizen die geen DCs hebben of waarvan DC migratie is verstoord, zijn beschermd tegen metaflammatie en insulineresistentie. De DCs in metabole weefsels zorgen voor priming van T cellen, die ook in grote mate aanwezig zijn in metabole weefsels. Obesitas vergroot het aandeel T cellen in deze weefsels die de pro-inflammatoire cytokines interferon gamma (IFN $\gamma$ ) en IL-17A produceren. Deze cellen worden type 1 T helper cellen (Th1 voor IFN $\gamma$ -producerende T helper cellen) en Th17 cellen (voor IL-17A-producerende T helper cellen) genoemd. Deze Th1 en Th17 cellen worden beschouwd als cellen die bijdragen aan insulineresistentie (zie **Figuur 1**). Welk type T cel ontstaat na activatie door DCs wordt onder andere bepaald door het metabolisme van de DCs. Voor het maken van cytokines en andere moleculen die een rol spelen bij T cel priming heeft de DC bouwstenen/nutriënten nodig. Deze komen uit de omgeving, van moleculen die al aanwezig zijn in de cel, of een combinatie daarvan. Als gevolg hiervan weten we dat de omgeving waarin de DC zich bevindt en de aanwezigheid van nutriënten invloed heeft op T cel priming. Tijdens obesitas is de beschikbaarheid van nutriënten in metabole weefsels anders dan tijdens homeostase, wat dus invloed kan hebben op DCs en T cel priming. De exacte mechanismen die ten grondslag liggen aan T cel priming in metabole weefsels tijdens obesitas zijn echter nog niet volledig bekend.

## **Type 2 immuunreacties, metabole homeostase en parasitaire wormen**

Het behoud van insulinegevoeligheid van metabole weefsels wordt gecontroleerd door het immuunsysteem. In gezond vetweefsel bevinden zich met name T cellen die de cytokines IL-4, IL-5 en IL-13 produceren. Dit zijn de type 2 T helper cellen (Th2 cellen). Van deze cytokines zorgt IL-5 ervoor dat eosinofielen behouden blijven in het vetweefsel. Deze eosinofielen zijn cellen van ons specifieke immuunsysteem die onder andere bijdragen aan de bescherming tegen parasieten, maar in het vetweefsel zijn zij de belangrijkste producent van IL-4 en daarmee het behoud van weefsel homeostase. IL-4 zorgt namelijk samen met IL-13 voor het alternatief activeren van macrofagen. Deze alternatief geactiveerde macrofagen worden beschouwd als ontstekingsremmende cellen en één van de hoofdrolspelers in het behoud van



insulinegevoeligheid van het vetweefsel, ook wel *metabole homeostase* genoemd (zie **Figuur 2**). Terwijl dit in de lever niet zo uitvoerig is bestudeerd, is er bewijs voor vergelijkbare processen die aldaar metabole homeostase behouden. Deze *type 2 immuunreactie* in metabole weefsels verdwijnt tijdens obesitas. Het herstellen van deze (type 2) immuunreactie in personen met obesitas zou mogelijk de insulinegevoeligheid kunnen verbeteren, en de complicaties van obesitas kunnen verminderen.



**Figuur 2. Type 2 immuunreactie in gezond vetweefsel.** Zie tekst voor details. Th: T helper cel, IL: interleukine, AAM: alternatief geactiveerde macrofaag. Figuur gemaakt met BioRender.com.

*Helminthen*, een groep parasitaire wormen, zijn de belangrijkste natuurlijke opwekkers van type 2 immuunreacties. Onderzoek wijst uit dat obesitas minder vaak voorkomt bij mensen die in gebieden wonen waar infecties met helminthen veel voorkomen. Het is zelfs zo dat het ontwormen van mensen die geïnfecteerd zijn met helminthen de insulinegevoeligheid van deze mensen vermindert. Dit geeft aan dat er mogelijk een omgekeerd verband is tussen infectie met helminthen en de complicaties van obesitas. Infectie van muizen met helminthen zorgt dus voor een type 2 immuunreactie, ook in het vetweefsel van obese muizen. Deze immuunreactie is gericht tegen antigenen van deze helminthen, maar zorgt ook voor het verbeteren van de insulinegevoeligheid. Het injecteren van de antigenen van de eitjes of de wormen zelf, in afwezigheid van levende parasieten, wakkert ook een type 2 immuunreactie in het vetweefsel aan en verbetert de insulinegevoeligheid van muizen met obesitas. Tegenwoordig suggereert dit dat het opwekken van een type 2 immuunreactie, door helminthen of hun antigenen, een veelbelovende strategie kan zijn voor het bestrijden van obesitas en diabetes type 2. Of de type 2 immuunreactie daadwerkelijk belangrijk is voor het verbeteren van de insulinegevoeligheid en hoe dit precies werkt is nog niet bekend.

## Onderzoek beschreven in dit proefschrift

Dit proefschrift beschrijft hoe immuuncellen metabole homeostase controleren. Om dit goed te kunnen bestuderen is onderzoek in muizen nodig. Voor dit onderzoek is dan ook met name gebruik gemaakt van een muismodel voor obesitas, insulineresistentie en diabetes type 2. Hierbij worden muizen een dieet gevoerd met veel vetten, waardoor ze overgewicht en insulineresistentie ontwikkelen.

Dit proefschrift bestaat uit twee delen. In deel 1 wordt beschreven hoe cellen van het specifieke immuunsysteem, met name macrofagen en dendritische cellen, metabole homeostase bewaken. Als we beter begrijpen hoe dit mis gaat tijdens obesitas, kan dit leiden tot nieuwe behandelmethoden voor obesitas en bijbehorende complicaties. De functie van immuuncellen wordt gefaciliteerd door hun metabolisme. Het enzym *ATP citraat lyase (Acly)* vormt een link tussen het metabolisme van macrofagen en hun activatie. Acly zorgt er namelijk voor dat geactiveerde macrofagen voldoende Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) hebben, wat een bouwsteen is om nieuwe vetten en cholesterol te maken, en om expressie van *genen* te beïnvloeden. Genen zijn stukken DNA die de blauwdruk vormen van eiwitten, zoals cytokines of enzymen. De informatie in deze genen moet worden gelezen en vertaald, en de mate waarin genen worden afgelezen noemen we *expressie*, wat uiteindelijk bepaald hoeveel eiwit wordt gemaakt. Recent onderzoek wijst uit dat macrofagen die het enzym Acly niet kunnen maken (aangeduid als *Acly-deficiënte macrofagen*), meer genen tot expressie brengen die coderen voor cytokines en bepaalde eiwitten betrokken bij ontstekingsreacties. De verhoogde productie van deze cytokines en eiwitten duidt op inflammatoire activatie. In **hoofdstuk 2** hebben we de consequenties van het verwijderen van Acly uit macrofagen bestudeerd in verschillende inflammatoire ziekten, waaronder metaflammatie. We bevestigen dat activatie van Acly-deficiënte macrofagen in het laboratorium (*in vitro*) leidt tot sterkere inflammatoire activatie vergeleken met controle macrofagen. Dit zou er toe kunnen leiden dat *in vivo*, oftewel in een compleet levend lichaam, ontstekingen verergeren. Echter, buikvliesontsteking, multiple sclerose en metaflammatie waren allen onveranderd in muizen met Acly-deficiënte macrofagen. Dit geeft aan dat het pro-inflammatoire profiel van Acly-deficiënte macrofagen *in vitro* zich niet vertaalde tot verergering van verschillende inflammatoire ziekten in de muis. Mogelijk compenseren Acly-deficiënte macrofagen voor het verlies van Acly, om zo toch aan voldoende Acetyl-CoA te komen voor belangrijke processen in de cel. Dit zou de discrepantie van onze resultaten met eerdere studies kunnen verklaren. Om dit vast te kunnen stellen is meer onderzoek nodig.

Macrofagen hebben een grote verscheidenheid aan eiwitten op hun oppervlakte waarmee veranderingen in de omgeving kunnen worden gedetecteerd; informatie die door de macrofaag wordt gebruikt om homeostase te kunnen bewaken. Een van deze eiwitten is

---

de mannose receptor (MR), een eiwit dat moleculen kan binden en opnemen. Het gedeelte van de MR dat zich aan de buitenkant van de cel bevindt, heeft de eigenaardige eigenschap om afgeknipt te kunnen worden en op te lossen in vloeistoffen in de omgeving van de cel. Deze vorm van de MR (**sMR**) is recent in verband gebracht met verschillende inflammatoire ziekten en blijkt het beloop en de ernst van deze ziekten te kunnen voorspellen. De rol die de MR en sMR spelen bij macrofaag activatie is bestudeerd in **hoofdstuk 3**. We laten hier *in vitro* zien dat het behandelen van macrofagen met sMR de activatie van macrofagen versterkt, en we laten in detail zien welke eiwitten en processen in de cel hiervoor verantwoordelijk zijn. Zowel in muizen als in mensen met obesitas vonden we meer sMR in het bloed, en dit voorspelde de hoeveelheid vet in het lichaam. Muizen die geen mannose receptor kunnen maken, kregen wel obesitas na het voeren van een dieet hoog in vetten, maar bleken volledig beschermt tegen vervetting van de lever en insulineresistentie. Tegelijkertijd waren er minder pro-inflammatoire macrofagen in zowel het vetweefsel als de lever, en dit was voorspellend voor de mate van insulineresistentie. Tot slot resulteerde het injecteren van sMR in gezonde, slanke muizen in insulineresistentie en inflammatoire activatie van macrofagen in het vetweefsel. Tezamen toont dit aan dat de sMR macrofagen pro-inflammatoir maakt en dat dit een rol speelt bij metaflammatie. Welke cellen tijdens obesitas meer sMR produceren, en hoe dit precies werkt, moet nog onderzocht worden. Mogelijk is het remmen van de productie van sMR of het wegvangen van sMR een interessante nieuwe strategie om obesitas en bijbehorende complicaties tegen te gaan. De resultaten van hoofdstuk 3 en andere manieren die de MR en gelijksoortige receptoren gebruiken om ontstekingsreacties te beïnvloeden zijn geëvalueerd in **hoofdstuk 4**.

Voor macrofagen is dus een belangrijke rol weggelegd in metaflammatie, maar zoals eerder genoemd neemt ook het aandeel DCs toe in metabole weefsels tijdens obesitas. Daarnaast is er een verandering in het aantal en type T helper cellen in metabole weefsels tijdens obesitas, wat aangeeft dat de functie van DCs is veranderd. Recent onderzoek toont aan dat het eiwit **lever kinase B1 (LKB1)** de T cel priming door DCs beïnvloedt bij verschillende inflammatoire ziekten. **Hoofdstuk 5** beschrijft dat muizen waarvan de DCs geen LKB1 kunnen maken (**DC<sup>ALKB1</sup> muizen**) verergerde vervetting van de lever en insulineresistentie hadden na het ontwikkelen van obesitas. Daarnaast vonden we in vergelijking met controlemuizen met obesitas meer regulatoire T cellen (Tregs), die over het algemeen ontstekingsremmend zijn, en IL-17A-producerende Th17 cellen, met name in de lever van DC<sup>ALKB1</sup> muizen. DCs die geen LKB1 kunnen maken, produceerden meer cytokines die zorgen voor Th17 cel priming. Het wegvangen van IL-17A remde leververvetting en insulineresistentie af in DC<sup>ALKB1</sup> muizen. Dit toont aan dat Th17 cellen belangrijk zijn bij het ontwikkelen van metabole complicaties bij obese DC<sup>ALKB1</sup> muizen. Meer onderzoek is nodig

om aan te tonen welke processen in deze DCs zorgen voor verhoogde Th17 cel priming, en of deze processen gemanipuleerd kunnen worden om obesitas en bijbehorende complicaties tegen te gaan.

In deel 2 van dit proefschrift hebben we onderzocht of moleculen die het immuunsysteem beïnvloeden (*immunomodulatoire moleculen*), geproduceerd door helminthen of met een andere oorsprong, ingezet kunnen worden in de strijd tegen obesitas en bijbehorende complicaties. Tevens hebben we geprobeerd de processen die hieraan ten grondslag liggen te ontrafelen. Helminthen wekken een type 2 immuunreactie op in de gastheer. Deze type 2 immuunreactie vinden we tijdens homeostase in gezond vetweefsel, maar gaat verloren tijdens obesitas. De capaciteit van helminthen en hun immunomodulatoire moleculen om een type 2 immuunreactie aan te wakkeren, heeft geleid tot de ontwikkeling van een interessante nieuwe onderzoekslijn waarbij onderzocht wordt of dit obesitas en bijbehorende complicaties kan verbeteren. In **hoofdstuk 6** geven we een overzicht van wat hierover bekend is in de literatuur. Hierin beschrijven we onder andere eerder werk van onze groep waarin gebruik werd gemaakt van een helmint genaamd *Schistosoma mansoni*. Infectie van obese muizen met deze helmint, maar ook behandeling met de immunomodulatoire moleculen uit de eitjes (*SEA*), zorgden voor een type 2 immuunreactie in vetweefsel en de lever, en verbeterde de insulinegevoeligheid van de muizen. Er zijn bijna geen studies die bewijzen dat de gunstige effecten van helminthen op metabole homeostase daadwerkelijk afhankelijk zijn van de effecten van helminthen op het immuunsysteem. In **hoofdstuk 7** hebben we onderzocht of dit soort gunstige effecten van SEA inderdaad afhankelijk zijn van de type 2 immuunreactie, door gebruik te maken van muizen die geen type 2 immuunreactie kunnen opstarten (*Stat6<sup>-/-</sup> muizen*). Zoals verwacht was SEA in *Stat6<sup>-/-</sup>* muizen met obesitas niet in staat om een type 2 immuunreactie op te wekken in vetweefsel, in tegenstelling tot controlemuizen met obesitas. Echter, in *Stat6<sup>-/-</sup>* muizen had SEA ook geen gunstig effect op de metabole homeostase, wat aangeeft dat het opwekken van de type 2 immuunreactie door SEA inderdaad belangrijk is voor het verbeteren van de gezondheid van muizen. Hoewel dit past bij een model waarin alternatief geactiveerde macrofagen insulinegevoeligheid bewaken, moet nog bevestigd worden of deze cellen hier daadwerkelijk een rol bij spelen.

SEA wordt gemaakt door de eitjes van *S. mansoni* te breken en de eischalen te verwijderen. Hierdoor blijft een ongezuiverde mix van veel verschillende moleculen over die mogelijk uiteenlopende effecten hebben. Het isoleren en onderzoeken of afzonderlijke moleculen een type 2 immuunreactie kunnen opwekken en metabole homeostase kunnen verbeteren, zou tot nieuwe behandelstrategieën kunnen leiden. Het veroorzaken van een type 2 immuunreactie door SEA is voor een belangrijk deel afhankelijk van eiwitten waaraan koolhydraatstructuren verbonden zijn, die we ook wel *glycoproteïnen* noemen. Deze

---

glycoproteïnen worden opgenomen door DCs, die op hun beurt zorgen voor de priming van Th2 cellen. Eén van deze glycoproteïnen in SEA met sterke immunomoduloire eigenschappen is omega-1 ( $\omega 1$ ). Er zit te weinig  $\omega 1$  in SEA om voldoende materiaal te isoleren voor onderzoek, waardoor we afhankelijk zijn van productie in levende cellen. Eerder onderzoek heeft laten zien dat behandeling van obese muizen met  $\omega 1$  geproduceerd in humane embryonale niercellen leidde tot gewichtsverlies en verbeterde metabole homeostase. Echter, de immunomoduloire eigenschappen van  $\omega 1$  zijn voor een deel afhankelijk van de koolhydraatstructuren (*glycanen*) op het eiwit, en de soort glycanen op  $\omega 1$  geproduceerd in humane cellen verschilt significant van de glycanen op  $\omega 1$  uit SEA. Specifiek mist een koolhydraatstructuur op het eind van de glycanen dat we Lewis X ( $Le^X$ ) noemen, waarvan bekend is dat het een immuunreactie veroorzaakt. Aangezien glycanen belangrijk zijn voor het opwekken van een type 2 immuunreactie door SEA en  $\omega 1$ , is in **hoofdstuk 7** een andere strategie gebruikt voor het produceren van  $\omega 1$ . In samenwerking met onderzoekers van de Wageningen Universiteit hebben we  $\omega 1$  gemaakt in planten van de familie *Nicotiana benthamiana*. In deze planten is het bouwproces van deze glycanen gemanipuleerd, waardoor de glycanen op  $\omega 1$  uit *N. benthamiana* (*pLe<sup>X</sup>- $\omega 1$* ) meer lijken op de glycanen van  $\omega 1$  uit SEA.

Behandeling van obese muizen met pLe<sup>X</sup>- $\omega 1$  veroorzaakte een type 2 immuunreactie in metabole weefsels, verlaagde de vetmassa en verbeterde de insulinegevoeligheid. Echter, in tegenstelling tot SEA verbeterde pLe<sup>X</sup>- $\omega 1$  ook metabole homeostase in *Stat6*<sup>-/-</sup> muizen met obesitas die geen type 2 immuunreactie kunnen opwekken. pLe<sup>X</sup>- $\omega 1$  verminderde de voedselinname, maar niet de beweeglijkheid van de muizen, wat aangeeft dat het onwaarschijnlijk is dat ongerief de eetlust heeft beïnvloed. Deze lagere energie-inname verklaarde voor een belangrijk deel de verbeterde metabole homeostase. Het ontrafelen van de processen die hieraan ten grondslag liggen, kunnen mogelijk leiden tot nieuwe behandelmethoden voor obesitas-gerelateerde complicaties.

In **hoofdstuk 8** hebben we de effecten van een recent ontwikkeld voedingssupplement op metabole homeostase in muizen met obesitas onderzocht. Ons dieet heeft invloed op ontstekingsziekten, onderzoek naar voedingssupplementen om immuunreacties te beïnvloeden is daarom in trek. Het gebruik van voedingssupplementen voor het verbeteren van metabole gezondheid is niet nieuw, maar is wel een interessante, niet-invasieve manier om obesitas-gerelateerde complicaties te voorkomen of verbeteren. Aangezien sommige voedingssupplementen immunomoduloire eigenschappen hebben, zouden ze twee vliegen in één klap kunnen slaan: zowel het verminderen van metaflammatie, als het verbeteren van de insulinegevoeligheid van adipocyten, spiercellen en/of levercellen. *Totum-63* is een mix van plantextracten met mogelijk immunomoduloire eigenschappen dat recent is

ontwikkeld voor het voorkomen van diabetes type 2 in mensen met een verhoogd risico op het ontwikkelen van diabetes type 2. In **hoofdstuk 8** is onderzocht of het voedingssupplement ook metabole homeostase kan verbeteren wanneer diabetes type 2 reeds is ontwikkeld, en op welke manier(en) Totum-63 dit doet. Totum-63 suppletie in muizen met obesitas leidde tot gewichtsverlies, verlies van vetmassa en verbetering van insulinegevoeligheid. Het voedingssupplement had effect op meerdere metabole weefsels, zoals de darmen, de lever, de spieren, vetweefsel rond de organen en onderhuids vetweefsel. In deze organen verminderde Totum-63 ontsteking en verbeterde het de insulinegevoeligheid. Daarnaast activeerde Totum-63 bruin vetweefsel. Bruin vetweefsel is een type vetweefsel dat niet primair dient als opslag voor vetten, maar als orgaan dat warmte produceert door glucose en vetten te verbranden. Het lijkt er daarom op dat Totum-63 op veel verschillende manieren werkt, wat mogelijk verklaard wordt door de samenstelling, bestaande uit verscheidene plantextracten. Desalniettemin is Totum-63 een veelbelovend voedingssupplement dat mogelijk kan bijdragen aan het bestrijden van obesitas en bijbehorende complicaties.

## Conclusie

Dit proefschrift beschrijft nieuw ontdekte manieren die immuuncellen gebruiken om insulinegevoeligheid te behouden. Daarnaast laten we zien dat immunomodulatoire moleculen, bijvoorbeeld van helminten, het immuunsysteem beïnvloeden en complicaties van obesitas verbeteren. Hoewel we de effectiviteit van leefstijlinterventies niet over het hoofd moeten zien, is het manipuleren van het immuunsysteem met helminten, de moleculen van helminten, of andere immunomodulatoire moleculen een veelbelovend aanknopingspunt in de strijd tegen obesitas en bijbehorende complicaties, waarvoor meer onderzoek nodig is.