



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Glycosylation signatures of type 2 diabetes complications and metabolic syndrome

Memarian, E.

Citation

Memarian, E. (2026, September 17). *Glycosylation signatures of type 2 diabetes complications and metabolic syndrome*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4309777>

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/1887/4309777>

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

Nederlandse Samenvatting

Glycosylering is een complexe biochemische modificatie op zowel eiwitten als lipiden en speelt een cruciale rol in tal van biologische processen zoals cel-cel communicatie, immuuninteracties en signaaloverdracht. Dit complexe proces draagt bij aan adhesie, cel-matrix interacties en modulatie van het immuunsysteem en vormt de basis van veel fysiologische en pathologische gebeurtenissen. Afwijkende glycosylering wordt gezien als een kenmerk van verschillende ziekten, waaronder kanker, stofwisselingsziekten en type 2 diabetes (T2D), waarbij het de aanvang, progressie en uitkomst van het ziektebeloop beïnvloedt. Veranderingen in glycaanstructuren hebben significante gevolgen voor celgedrag, zoals tumorinvasie, angiogenese en metastase bij kanker of ontsteking en immuundisregulatie bij chronische stofwisselingsziekten.

Het doel van het onderzoek in dit proefschrift was het onderzoeken van glycosyleringskenmerken die verband houden met T2D-complicaties en metabool syndroom (MetS). Met het oog op de potentiële toepassing van glycaan biomarkers in diagnostiek en therapie richtte dit onderzoek zich op het benutten van geavanceerde technieken om ziektespecifieke glycosyleringspatronen te ontdekken. Door glycaanprofielen te integreren in de context van chronische stofwisselingsziekten beoogt het onderzoek de kloof in vroegdetectie en risicostratificatie te overbruggen. Teneinde deze doelen te bereiken werden vier glycoanalytische methodologieën toegepast, elk afgestemd op de specifieke doelen van de afzonderlijke hoofdstukken. **Hoofdstuk 2** maakte gebruik van *ultra-performance liquid chromatography* (UPLC) voor diepgaande analyse van eiwit *N*-glycosylering. In **Hoofdstuk 3** werd een *high-throughput* plasma *N*-glycaan profiling uitgevoerd met behulp van *matrix-assisted laser desorption/ionization* (MALDI) *time-of-flight* (TOF) *Fourier transform ion cyclotron resonance* (FTICR) massaspectrometrie (MS). **Hoofdstuk 4** gebruikte een innovatieve benadering voor Immunoglobuline G (IgG) *N*-glycosyleringsanalyse, waarbij geautomatiseerde *workflows* werden ingezet om veranderingen van *N*-glycanen in verband met dysregulatie bij T2D-complicaties te onderzoeken. Tot slot richtte **Hoofdstuk 5** zich op de toepassing van deze methoden op opgedroogde bloedvlekken (DBS) met behulp van UPLC.

Om een uitgebreid inzicht te krijgen in de klinische uitdagingen die gepaard gaan met MetS en T2D-complicaties biedt het eerste deel van dit proefschrift een grondige verkenning van deze onderwerpen (**Hoofdstuk 1**). Hierin wordt de biologische relevantie van glycosylering beschreven, met specifieke aandacht voor de rol ervan in MetS en T2D-complicaties. Daarnaast worden de beperkingen van traditionele biomarkers, zoals nuchtere plasmaglucose (FPG), hemoglobine A1c (HbA1c), enz., bij de diagnose en het beheer van deze aandoeningen besproken. *N*-glycosylering wordt geïntroduceerd als een veelbelovende weg voor het identificeren van nieuwe biomarkers. Bovendien biedt dit hoofdstuk een overzicht van technieken voor glycosyleringsanalyse, waaronder *hydrophilic interaction liquid chromatography*

(HILIC) gekoppeld aan UPLC en MALDI MS, om hun toepassingen te contextualiseren. Door gegevens van eiwitglycosylering uit diverse populaties te integreren biedt het onderzoek waardevolle inzichten in T2D-complicaties en MetS.

In **het daaropvolgende hoofdstuk** werd de relatie tussen MetS en een suboptimale gezondheidstoestand (SHS) onderzocht door middel van *N*-glycosyleringsprofielen in een Ghanese populatie. Met behulp van UPLC en geavanceerde statistische methoden werden specifieke glycaanpatronen geïdentificeerd die MetS en SHS met opmerkelijke nauwkeurigheid voorspellen, wat de mogelijkheden voor vroegdetectie en interventie benadrukt. Genetische en omgevingsfactoren bleken de glycosyleringspatronen te beïnvloeden, waarbij vergelijkingen tussen Ghanese, Chinese, Kroatische en Orcadiaanse populaties zowel gedeelde als unieke kenmerken benadrukten. Deze bevindingen onderstrepen de noodzaak van op maat gemaakte benaderingen bij de studie van stofwisselingsziekten. **Hoofdstuk 2** onderzocht de link tussen SHS en MetS, waarbij SHS werd geïdentificeerd als een mogelijke voorloper van chronische aandoeningen. Complexe *N*-glycaanstructuren bleken geassocieerd met MetS-progressie, wat hun bruikbaarheid als biomarkers voor risicovolle individuen suggereert. Ook werden genderspecifieke verschillen in glycosyleringspatronen onderzocht, wat mogelijke hormonale invloeden op deze eigenschappen aan het licht bracht.

Hoofdstuk 3 onderzoekt de *N*-glycosyleringspatronen van plasma-eiwitten in relatie tot T2D-complicaties, waaronder cardiovasculaire aandoeningen (CVD), nefropathie en retinopathie. Met behulp van geavanceerde massaspectrometrische technieken werden 68 individuele glycaancomposities en 45 afgeleide eigenschappen die structurele kenmerken van glycanen vertegenwoordigen geanalyseerd. Significante verbanden werden geïdentificeerd tussen glycaaneigenschappen en diabetescomplicaties. Voor cardiovasculaire aandoeningen werd een toename van α 2,6-sialylering waargenomen, een kenmerk dat vaak wordt geassocieerd met ontsteking en acute-fase reacties. Veranderingen in fucosylering- en galactosyleringspatronen, die verband houden met immuunmodulatie, waren ook prominent aanwezig. Specifieke glycaanvertakkings- en bisectiepatronen correleerden met nefropathie en retinopathie, wat inzichten gaf in de mechanismen achter deze complicaties. Deze bevindingen benadrukken het potentieel van specifieke glycosyleringspatronen als biomarkers voor vroege detectie en voorspelling van diabetes-gerelateerde complicaties.

Op basis van eerdere bevindingen (**Hoofdstuk 3**) waarin totale plasma *N*-glycaanpatronen werden gekoppeld aan T2D-complicaties, gaat **Hoofdstuk 4** dieper in op de glycosylering van immunoglobuline G (IgG) en de specifieke associaties met microvasculaire en macrovasculaire complicaties. Het identificeert significante verbanden tussen IgG *N*-glycaan-eigenschappen en complicaties zoals nefropathie, retinopathie en cardiovasculaire aandoeningen. IgG-galactosylering is negatief geassocieerd met zowel prevalentie als incidentie diabetische nefropathie en macrovasculaire aandoeningen, wat suggereert dat hogere niveaus van

galactosylering een beschermend effect kunnen hebben tegen deze complicaties. Evenzo wordt sialylering gekoppeld aan een verminderd risico op incidente nefropathie, wat de rol ervan ondersteunt bij het verminderen van ontsteking, een sleutelfactor in diabetes-gerelateerde vasculaire schade. Bij retinopathie vertoont galactosylering een negatieve associatie in cross-sectionele en prospectieve analyses, hoewel de significantie afneemt wanneer wordt gecorrigeerd voor aanvullende klinische factoren. Deze bevindingen ondersteunen het potentieel van IgG *N*-glycanen als biomarkers van ontsteking en voorspellers van vasculaire complicaties bij T2D. Door gegevens uit drie diverse cohorten te integreren en robuuste meta-analyses toe te passen, wordt de betrouwbaarheid van de bevindingen verzekerd. De waargenomen associaties met galactosylering en sialylering suggereren dat deze glycaan-eigenschappen kunnen dienen als biomarkers voor vroege detectie en risicobeoordeling.

Het volgende hoofdstuk (**Hoofdstuk 5**) onderzoekt het potentieel van opgedroogde bloedvlekken (DBS) als een betrouwbare en praktische methode voor *N*-glycaanprofilering. DBS-monsters bieden een handige, niet-invasieve, kosteneffectieve alternatieve methode voor traditionele bloedafname, met voordelen bij het verzamelen, transporteren en opslaan van monsters. Dit onderzoek richtte zich op het evalueren van de betrouwbaarheid van DBS voor *N*-glycaananalyse over verschillende bloedvoorbereidingen, waaronder vers bloed, ingevroren volbloed en mengsels van gescheiden bloedcellen en plasma. Uit het onderzoek bleek dat DBS *N*-glycaanprofielen consistent zijn onder verschillende voorbereidings- en droogomstandigheden, wat hun robuustheid ondersteunt voor *N*-glycaananalyse, zelfs in opgeslagen of hergebruikte monsters. Vergelijkende analyses tussen DBS- en plasmamonsters toonden grote overeenkomsten, met slechts kleine verschillen, wat DBS valideert als een betrouwbare bron voor onderzoek aan glycosylering. Daarnaast werden verschillen in *N*-glycaanprofielen tussen pre-diabetische en diabetische individuen onderzocht. De studie observeerde trends van verhoogde fucosylering, bisectie en galactosylering, samen met verminderde sialylering in diabetische monsters ten opzichte van pre-diabetische, hoewel deze trends niet statistisch significant waren vanwege de beperkte steekproefgrootte. Dit benadrukt mogelijke glycosyleringsveranderingen die verband houden met de progressie van pre-diabetes naar diabetes.

Tot slot biedt het laatste deel van dit proefschrift (**Hoofdstuk 6**) een uitgebreide bespreking van de bevindingen, met de focus op toekomstige ontwikkelingen en het klinische potentieel van *N*-glycaanprofilering als biomarker voor T2D-complicaties en MetS. Het benadrukt het belang van onderscheidende glycosyleringspatronen in totale plasma-eiwitten en IgG, evenals de bruikbaarheid van opgedroogde bloedvlekken (DBS) voor glycosyleringsanalyse. Deze resultaten benadrukken de mogelijkheden voor vooruitgang in diagnostiek en gepersonaliseerde geneeskunde, en effenen de weg voor de integratie van *glycomics* in klinische toepassingen voor vroegdetectie en verbeterd beheer van MetS, T2D en de complicaties ervan.