

SAMENVATTING

Persistente of onregelde respiratoire inflammatie is kenmerkend voor chronische luchtwegaandoeningen, zoals ernstige astma, chronische obstructieve longziekte (COPD), taaislijmziekte (CF) en bronchiëctasieën. De rol van veelvoorkomende pathogenen in deze overactieve inflammatoire toestand is reeds intensief onderzocht. Echter kreeg de invloed van andere leden van de microbiota op inflammatie tot nu toe weinig aandacht. Aangezien de huidige anti-inflammatoire behandelingen vaak niet efficiënt zijn en het gebruik ervan beperkt is vanwege de vele bijwerkingen die gepaard gaan met langdurig gebruik, is het nodig om nieuwe behandelingsopties te onderzoeken. Het algemene doel van dit proefschrift is dan ook het onderzoeken van microbiologische benaderingen voor de behandeling van chronische inflammatoire ziekten van de luchtwegen.

In het eerste deel werd een screening uitgevoerd van meerdere bacteriën die vaak geïsoleerd worden uit de luchtwegen van patiënten met een chronische longziekte, zoals CF, om hun rol te onderzoeken in alveolaire en bronchiale epitheliale ontstekingsreacties op bacteriële pathogenen (hoofdstuk III, deel 1). Tot deze bacteriën behoorden twee ziekteverwekkers die vaak worden geïsoleerd bij personen met CF (*Pseudomonas aeruginosa* en *Staphylococcus aureus*), twee minder vaak teruggevonden CF-pathogenen (*Streptococcus anginosus* en *Achromobacter xylosoxidans*) en twee bacteriën die algemeen niet worden beschouwd als CF-pathogenen, maar vaak worden geïsoleerd uit de lagere luchtwegsecreties bij CF patiënten (*Rothia mucilaginosa* en *Gemella haemolysans*). Vervolgens werd het vermogen van pathogene en niet-pathogene soorten om *P. aeruginosa*-geïnduceerde immuunrespons te beïnvloeden geanalyseerd, wat leidde tot de ontdekking van anti-inflammatoire eigenschappen in *R. mucilaginosa*. De ontstekingsremmende werking van deze commensaal van de mondholte werd vervolgens geëvalueerd en bevestigd in een *in vivo* muismodel. Bovendien werd een inverse correlatie waargenomen tussen *R. mucilaginosa* en pro-inflammatoire markers in het sputum van patiënten met chronische luchtwegaandoeningen. Daarnaast heeft *in vitro* analyse van de ontstekingsremmende werking van *R. mucilaginosa*, met behulp van verschillende methoden (d.w.z. qPCR, cytokine ELISA-tests, western blotting, en een NF- κ B-reporter alveolaire epitheel cellijn), aangetoond dat het in staat is om de geïnduceerde NF- κ B pathway activatie te remmen.

In het tweede deel is onderzoek gedaan om de werkzame stof(fen) die door *R. mucilaginosa* wordt (worden) geproduceerd te identificeren (hoofdstuk III, deel 2). De ontstekingsremmende werking

werd waargenomen in het bacteriële supernatant en de activiteit ging na verloop van tijd verloren bij het bewaren van het supernatant. Deze inzichten werden benut om mogelijke actieve verbinding(en) te identificeren met behulp van een vergelijkende metabolomics aanpak. Metabolieten aanwezig in vers bereid supernatant werden vergeleken met metabolieten aanwezig in het supernatant in het bewaarde (inactieve) supernatant. Bovendien werden de metabolieten in het supernatant van *R. mucilaginosa* vergeleken met metabolieten van een nauw verwante soort, *Micrococcus luteus* (d.w.z. behorend tot dezelfde familie als *Rothia*: Micrococcaceae) die niet hetzelfde ontstekingsremmende effect vertoonde. Deze vergelijking leidde tot de identificatie van de siderofoor enterobactherine als een mogelijke actieve stof die door *R. mucilaginosa* wordt afgescheiden en die in staat is om LPS gestimuleerde NF- κ B pathway activering te verminderen.

Ten slotte werd een verzameling van andere niet-pathogene bacteriën gescreend op ontstekingsremmende activiteit, wat leidde tot de ontdekking van nieuwe ontstekingsremmende bacteriën die deel uitmaken van de respiratoire microbiota (hoofdstuk III, deel 3). Rekening houdend met de interesse in lokaal actieve probiotische bacteriën en het belang om de bacteriële belasting in de longen tot een minimum te beperken, werd de synergetische anti-inflammatoire activiteit van een consortium onderzocht. Het doel hiervan was om een consortium te ontwerpen dat minder bacteriën nodig heeft om een effect uit te oefenen in vergelijking met individuele soorten. Een consortium van *R. mucilaginosa*, *Rothia dentocariosa* en *Roseomonas gilardii* voldeed aan dit criterium. Tot slot werden ook mogelijke groeiversterkers (prebiotica) voor deze anti-inflammatoire bacteriën onderzocht.

In conclusie toont dit proefschrift gunstige eigenschappen van niet-pathogene luchtwegbacteriën aan, zowel *in vitro* als *in vivo*, wat zou kunnen leiden tot belangrijke inzichten over hun rol in het ziekteproces. Bovendien kunnen deze bacteriesoorten nieuwe probiotica vertegenwoordigen die onderzocht moeten worden voor de behandeling van chronische ontstekingsziekten. Ook kan de identificatie van nutriënten (prebiotica) om de groei van deze nuttige bacteriën te induceren en de identificatie van hun actieve verbindingen (postbiotica) helpen bij de ontwikkeling van op microbiom-gebaseerde therapieën met behulp van deze drie 'biotica' of combinaties ervan, met als doel het succes van behandelingen te vergroten.