



Doctoral Thesis

Lymphatic vasculature-adipocyte interactions in obesity and lymphatic dysfunction

Author(s):

Karaman, Sinem

Publication Date:

2012

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-007600123> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 20794

**Lymphatic vasculature – adipocyte interactions
in obesity and lymphatic dysfunction**

A dissertation submitted to
ETH ZURICH

for the degree of
Doctor of Sciences

presented by

SINEM KARAMAN

MSc. Molecular Biology – Genetics & Biotechnology,
Institute of Science and Technology,
Istanbul Technical University, Turkey

Born March 24, 1984
Citizen of Turkey

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Michael Detmar, examiner

Prof. Dr. Christian Wolfrum, co-examiner

2012

1 Summary

1.1 Summary

The lymphatic system is responsible for tissue fluid homeostasis, immune surveillance and intestinal lipid uptake. It is also involved in pathological conditions such as tumor metastasis, inflammation and lymphedema. Lymphedema is often concomitant with an expansion of adipose tissue; however, the interrelation between these processes has not been clearly demonstrated.

In order to elucidate whether lymphedema promotes adipose tissue growth, we used a mouse model of primary lymphedema –K14-VEGFR-3-Ig transgenic mice that express soluble vascular endothelial growth factor receptor-3 fused to an Fc domain–, and challenged these mice with a high-fat diet (HFD). We did not find excess adipose tissue accumulation in this model. Interestingly, however, we found smaller adipocytes, lower fasting insulin levels and reduced lipid accumulation in the livers of the transgenic mice, which suggested better insulin sensitivity compared to the wildtype mice. The transgenic mice also harbored higher ratios of alternatively-activated (M2) to classically activated (M1) adipose tissue macrophages, which is known to have a protective effect against the development of insulin resistance. These results indicated that the blockade of the VEGFR-3 ligands VEGF-C and VEGF-D modulated macrophage polarization and enhanced insulin sensitivity in mice.

In a second project, we set out to investigate if obesity impairs lymphatic function. We used a diet-induced obesity (DIO) model where wildtype mice were fed a HFD and

studied whether DIO altered lymphatic function. Already after 11 weeks on HFD, the mice became obese and showed impaired lymphatic function as evidenced by irregular pulsing patterns and a diminished response to mechanostimulation, studied with a new method for the *in vivo* near-infrared imaging of lymphatic vessel function. Importantly, when we experimentally increased the tissue pressure, the lymphatic function was similarly impaired. These findings suggest that DIO impairs lymphatic function; potentially by increasing tissue pressure without causing lymphedema since the tissue water content was unchanged.

In a third project, we wanted to elucidate whether neuropilin-1/semaphorin3A (Nrp-1/Sema3A) interactions play a role in lymphatic vessel development and inflammation. For this purpose, we used two function-blocking antibodies that specifically block the binding of either Sema3A or vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) to Nrp-1. We first treated wildtype mice *in utero* and studied the lymphatic vasculature postnatally. Our results indicate that Nrp-1/Sema3A interaction modulates the separation of blood and lymphatic vessels and also mediates the postnatal remodelling of the superficial lymphatic plexus in the tail. In a mouse model of psoriasis-like chronic skin inflammation, blocking Sema3A binding to Nrp-1 exacerbated the inflammation and increased the number of blood vessels.

Collectively, our results provide novel insights into the lymphatic vasculature – adipose tissue interactions. Moreover, our findings highlight the important roles of VEGFR-3/VEGF-C–VEGF-D as well as Nrp-1/Sema3A interactions in relation to obesity, inflammation and lymphatic vascular development, which might represent novel targets for therapeutic intervention.

1.2 Zusammenfassung

Das lymphatische Gefäßsystem spielt eine wichtige Rolle in der Homöostase der Gewebeflüssigkeit, der Immunabwehr und der intestinalen Lipidabsorption, aber auch in pathologischen Prozessen wie der Tumormetastasierung, Entzündungsreaktionen und der Entwicklung von Lymphödemen. Lymphödeme sind häufig mit vermehrtem Fettgewebe assoziiert; wie diese Prozesse miteinander verlinkt sind, ist derzeit nicht bekannt.

In einer ersten Studie untersuchten wir, ob Lymphödeme das Wachstum von Fettgewebe fördern und verwendeten dafür ein transgenes Mausmodell für Lymphödeme: K14-VEGFR-3-Ig Mäuse, welche die lösliche Form des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor Rezeptor-3 (vascular endothelial growth factor receptor-3, VEGFR-3), gebunden an die Fc-Domäne, exprimieren, erhielten eine fettreiche Diät. Die transgenen Tiere zeigten keine exzessive Anreicherung von Fettgewebe, hatten aber im Vergleich zu den Wildtyp-Tieren kleinere Adipozyten, reduzierte Lipidakkumulation in der Leber und tiefere Fasten-induzierte Insulinspiegel. Diese Ergebnisse deuten auf eine bessere Insulinsensitivität der K14-VEGFR-3-Ig Mäuse als der Wildtyp-Tiere hin. Im Fettgewebe der transgenen Tiere fanden wir zudem auch eine erhöhte Ratio von alternativ-aktivierten (M2) zu klassisch-aktivierten (M1) Makrophagen. Eine solche erhöhte Ratio schützt vor der Entwicklung von Insulinresistenz. Diese Befunde legen nahe, dass die Hemmung der von den VEGFR-3-Liganden VEGF-C und VEGF-D-induzierten Prozesse die Makrophagenpolarisierung moduliert und die Insulinsensitivität fördert.

In einem zweiten Projekt untersuchten wir in einem Diät-induzierten Adipositas-Modell, ob Fettleibigkeit die Funktionalität lymphatischer Gefäße beeinträchtigt. Bereits 11 Wochen nach dem Beginn einer fettreichen Diät wurden die Mäuse adipös. Analysen mit

einem neuen *in vivo* nah-infrarot Bildgebungsverfahren zeigten beeinträchtigte lymphatische Funktionen, wie irreguläre Pulsmuster und verminderte Reaktionen auf mechanische Stimulation. Interessanterweise beeinträchtigte experimentell erhöhter Gewebedruck diese lymphatischen Funktionen in gleicher Weise. Somit legen diese Resultate nahe, dass Diät-induzierte Fettleibigkeit die lymphatischen Funktionen, wahrscheinlich durch erhöhten Gewebedruck, beeinträchtigt. Der unveränderte Wassergehalt des Gewebes weist darauf hin, dass dabei keine Lymphödeme gebildet werden.

In einem dritten Projekt erforschten wir den Einfluss von Neuropilin-1/Semaphorin3A (Nrp-1/Sema3A)- Signalen auf sich entwickelnde und entzündete lymphatische Gefäße. Durch die Applikation von zwei funktions-blockierenden Antikörpern konnten die spezifische Bindung von entweder Sema3A oder VEGF-A an Nrp-1 verhindert werden. Wildtypmäuse wurden *in utero* behandelt und die lymphatischen Gefäße der Jungtiere wurden nach der Geburt analysiert. Unsere Resultate zeigen, dass Nrp-1/Sema3A-Interaktionen während der Entwicklung die Separation von lymphatischen und Blutgefäßen modulieren und auch die Reifung des oberflächlichen lymphatischen Plexus in der Schwanzdermis beeinflussen. Die Blockierung der Sema3A-Bindung an Nrp-1 in einem Mausmodell mit Psoriasis-ähnlicher chronischer Hautentzündung führte zu verstärkten Entzündungsreaktionen und einer erhöhter Anzahl von Blutgefäßen in der Haut.

Zusammengefasst vermitteln unsere Studien neue Einblicke in die Interaktionen von lymphatischen Gefäßen und adipösem Gewebe und weisen auf eine wichtige Rolle des VEGFR-3/VEGF-C-VEGF-D Signalsystems und des Nrp-1/Sema3A-Signalsystems in der Entwicklung der Fettleibigkeit und des metabolischen Syndroms, sowie bei

Entzündungsreaktionen und in der Lymph-Gefässentwicklung hin, die somit neue therapeutische Ziele darstellen könnten.