

Titel proefschrift: Immune modulating effects of β -glucan, fish oil and conjugated linoleic acid.

Door: Julian D. Ramakers

Promotiedatum: 28 juni 2007

Promotor: Prof. Dr. Ir. R. P. Mensink, Humane Biologie, Universiteit Maastricht

Copromotor: Dr. J. Plat, Humane Biologie, Universiteit Maastricht

Het immuunsysteem beschermt het menselijk lichaam tegen het binnendringen van ziekteverwekkers. Als het functioneren van het immuunsysteem verminderd of verslechterd is kan dit leiden tot een verhoogd risico op infecties. Aan de andere kant kan een ongecontroleerde reactie van het immuunsysteem leiden tot chronische ontsteking. Chronische ontsteking is geassocieerd met verschillende, in Westerse landen, veel voorkomende ziekten, zoals hart- en vaatziekten en chronische inflammatoire darmziekten (IBD). Specifieke voedingsmiddelen kunnen het immuunsysteem mogelijk stimuleren of remmen. In dit proefschrift hebben we de immuunmodulerende effecten van β -glucan, visolie en geconjugeerd linolzuur (CLA) onderzocht.

β -Glucanen zijn voedingsvezels en vormen een belangrijke component van de celwand van granen, maar ook van gisten en schimmels. In dit proefschrift onderzochten wij de effecten van β -glucan uit haver op processen behorende bij een darmontsteking. Hiervoor hebben we ileostoma patiënten in willekeurige volgorde een voeding verrijkt met β -glucan en een controle voeding gegeven. Vervolgens is van de ileostoma inhoud fecaal water gemaakt. We vonden dat fecaal water verrijkt met β -glucanen in vergelijking met controle fecaal water de interleukine (IL)-8 productie en expressie van het adhesie molecuul ICAM-1 van dunne en dikke darm cellijnen *in vitro* verhoogd, als het fecaal water tegelijk werd gegeven met cytokines om de darmcellen te stimuleren. Ook verschillende inflammatoire eiwitten lieten een verhoogde expressie zien gemeten met een antilichaam array. Alles bij elkaar duiden deze resultaten erop dat fecaal water met β -glucanen de cytokine-geïnduceerde immuunreactie van darmcellen *in vitro* stimuleert. Mechanismen achter de gevonden effecten van β -glucanen en fysiologische implicaties van de versterkte immuunreactie door β -glucanen uit haver moeten worden onderzocht in vervolgstudies.

Visolie is rijk aan het n-3 meervoudig onverzadigde vetzuur eicosapentaenzuur (EPA). Vanwege de anti-inflammatoire effecten van n-3 vetzuren wordt het gebruik van deze vetzuren gesuggereerd als behandeling voor IBD patiënten. Wetenswaardig is dat het dikke darm mucosa van IBD patiënten een hoger aandeel van het n-6 vetzuur arachidonzuur (AA) bevat en een lager aandeel van het vetzuur oliezuur (OA) ten opzichte van controle personen. Daarom maakten wij een directe vergelijking tussen effecten van OA, AA en visolie (FO) op processen behorende bij een darmontsteking. In een *in vitro* studie hebben we laten zien dat darmcellen gekweekt met AA een verhoogde expressie van ICAM-1 en een verhoogde activatie van de transcriptie factor NF- κ B hebben ten opzichte van EPA en OA. Dus het kweken van darmcellen met AA heeft pro-inflammatoire effecten ten opzichte van EPA en OA. Om onze *in vitro* resultaten te verifiëren hebben we een *in vivo* studie uitgevoerd waarin we de effecten van een OA verrijkte voeding vergeleken met een AA en een FO verrijkte voeding op dextraan natriumsulfaat (DSS) geïnduceerde colitis. In deze studie vonden we echter dat muizen die een AA rijk voer kregen gedurende 6 weken voorafgaand aan colitis inductie eerder minder erge colitis ontwikkelden ten opzichte van muizen die OA of FO verrijkt voer kregen. Verder konden we alleen enkele minimale beschermende effecten van FO ten opzichte van OA laten zien.

Om de rol van de transcriptie factor PPAR γ op darmontsteking te ontrafelen hebben we muizen gedurende 2 weken de synthetische PPAR γ ligand rosiglitazone via het voer gegeven en vervolgens colitis geïnduceerd met DSS. In tegenstelling tot eerdere studies die

beschermende effecten van PPAR γ activatie lieten zien, zorgde in onze muizen studie rosiglitazone behandeling voor een verslechtering van de darmontsteking. Deze onverwachte resultaten kunnen mogelijk verklaard worden door de langere duur van de voorbehandeling ten opzichte van eerdere studies waarin PPAR γ agonisten kort voorafgaand of na colitis inductie werden gegeven.

Als laatste hebben we de immunomodulerende effecten van CLA bekeken. CLA is een mengsel van positioneel (b.v. 9, 11 of 10, 12) en geometrisch (*cis* of *trans*) geconjugeerde isomeren van het n-6 vetzuur linolzuur. Het is een natuurlijke voedingscomponent die voornamelijk voorkomt in de vetfractie van vlees en zuivelproducten. We hebben een placebo-gecontroleerde studie uitgevoerd waarin we de effecten van consumptie van de individuele c9, t11 of t10, c12 CLA isomeren op inflammatie parameters hebben bekeken in proefpersonen met een verhoogd risico op hart- en vaatziekten. We waren niet in staat om een significant effect van 13 weken consumptie van één van de twee CLA isomeren, c9, t11 of t10, c12, te laten zien op *ex vivo* LPS-gestimuleerde cytokine productie door mononucleaire bloedcellen en op plasma C-reactive protein (CRP) concentraties. Als we al iets zagen waren het eerder pro-inflammatoire effecten dan remmende effecten. Ook in niet gestimuleerd plasma zagen we voor beide isomeren specifieke inflammatoire eiwit profielen, die over het algemeen op een versterkte immunofunctie wezen. Alles bij elkaar suggereert dit dat voedingssuppletie met CLA als het al effecten heeft deze niet bruikbaar zijn om inflammatoire reacties te verminderen.

Concluderend kunnen we stellen dat voedingscomponenten de immunofunctie in het algemeen en specifiek van de darm kunnen moduleren, maar dat meer goed uitgevoerd onderzoek nodig is om het belang van deze bevindingen voor mensen *in vivo* aan te tonen.

Het hierboven beschreven promotieonderzoek werd uitgevoerd aan de afdeling Humane Biologie van de Universiteit Maastricht onder leiding van Prof. Dr. Ir. R.P. Mensink en Dr. J. Plat. De muizenstudies werden uitgevoerd in samenwerking met de afdeling Experimentele Interne Geneeskunde van het Academisch Medisch Centrum in Amsterdam.