

## Samenvatting van het proefschrift

C.M. van der Beek

*"The gut in control of health and disease: Unraveling the role of short-chain fatty acids in human metabolism"*

**Promotiedatum:** 4 oktober 2017

**Universiteit:** Universiteit Maastricht

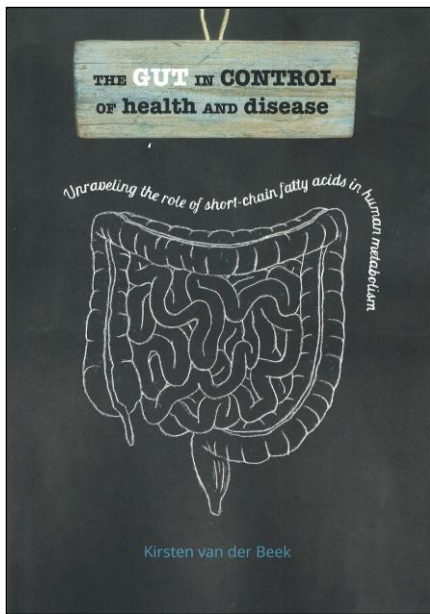
**Promotores:**

Prof. dr. C.H.C. Dejong

Prof. dr. A.A.M. Masclee

**Copromotor:**

Dr. K. Lenaerts



Het afgelopen decennium is duidelijk geworden dat darmbacteriën een prominente rol spelen in darmgezondheid en stofwisseling van de mens. Darmbacteriën hebben het vermogen om onverteerbare voedingsvezels te fermenteren in zogenaamde korte-ketenvetzuren, met name acetaat (azijnzuur), propionaat (propionzuur) en butyraat (boterzuur). Deze korte-ketenvetzuren dragen mogelijk bij aan de gunstige effecten van vezelinname op zowel de gezondheid van de darm als de stofwisseling in het menselijke lichaam, oftewel het humane metabolisme. Korte-ketenvetzuren hebben invloed op verschillende processen in het lichaam, zoals energieregulatie, suikerhuishouding en vetmetabolisme, en kunnen de mate van ontsteking verminderen. Wetenschappelijk bewijs voor de metabole effecten van korte-ketenvetzuren in mensen is echter schaars. In dit proefschrift zijn een aantal studies beschreven waarin de effecten van korte-ketenvetzuren en voedingsvezels op het metabolisme van personen met overgewicht en obesitas bestudeerd werden. Verder werd onderzoek gedaan naar de

mogelijke effecten van korte-ketenvetzuren op darmniveau en werden betrokken receptoren in kaart gebracht in de humane darm.

Hoofdstuk 2 beschrijft een studie waarin de metabole effecten van infusie van het korte-ketenvetzuur acetaat in de darm van overgewichtige mensen onderzocht werd. Zes mannen met overgewicht of obesitas ondergingen twee experimentele perioden: één waarbij acetaat werd geïnfundeed in het distale deel van het colon (dicht bij rectum en anus) en één waarbij acetaat werd geïnfundeed in het proximale deel van het colon (dicht bij de dunne darm). Aan het begin van elke periode werd endoscopisch een darmkatheter ingebracht, die gedurende drie opeenvolgende testdagen in de dikke darm bleef. Via de darmkatheter werd acetaat of een niet-werkzame placebo geïnfundeed in één van de locaties in de dikke darm. Het onderzoek toonde aan dat acetaatinfusie in het distale deel van het colon de vetverbranding (vetoxidatie) met ongeveer 25% liet toenemen. Bovendien verhoogde acetaatinfusie in het distale deel van het colon concentraties van het verzadigingshormoon peptide YY (PYY) in de circulatie in gevaste toestand. Daarnaast had de toediening van acetaat in het distale deel van het colon de neiging om de acetaatconcentraties in het bloed te verhogen en de concentraties van de ontstekingsparameter TNF- $\alpha$  te verlagen, doch deze effecten waren niet significant. Acetaattoediening in het proximale deel van het colon had geen invloed op het humaan metabolisme. Deze bevindingen suggereren dat verhoging van het korte-ketenvetzuur acetaat in het distale deel van de dikke darm een goede strategie kan zijn om de menselijke stofwisseling te verbeteren.

Onderzoek heeft aangetoond dat inname van voedingsvezels, ook wel prebiotica genoemd, het humaan metabolisme kan beïnvloeden. Het is echter niet bekend of korte-ketenvetzuren hierbij een rol spelen. In hoofdstuk 3 worden de acute effecten van het prebioticum inuline op de stofwisseling in proefpersonen met overgewicht of obesitas beschreven. Hierbij werd gebruik gemaakt van stabiele-isotopen-tracermethodologie om te onderzoeken of deze effecten kunnen worden toegeschreven aan de vorming van korte-

ketenvetzuren. Veertien gezonde mannen met overgewicht consumeerden een milkshake met daarin 24 gram inuline, waarvan 0,5 gram U-13C-gelabeld inuline, of 24 gram van de placebo maltodextrine. Het 13C label maakt het mogelijk om inuline in het lichaam te traceren. Bij fermentatie van inuline wordt het label overgedragen aan de korte-ketenvetzuren, waardoor vastgesteld kan worden of korte-ketenvetzuren gevormd worden uit inuline en in welke verhouding. Deze studie toonde aan dat - gedurende de eerste uren na inname - het fermenteerbare voedingsvezel inuline resulteerde in een verhoging van de vetoxidatie en een verminderde verlaging van de vrije vetzuurconcentraties in vergelijking met het verteerbare placebo maltodextrine. Bovendien veroorzaakte inuline-inname een verminderde postprandiale stijging in glucose en insulineconcentraties in vergelijking met maltodextrine. Verder resulteerde inuline-inname in verhoogde acetaatconcentraties en verminderde vrije vetzuurconcentraties in de late postprandiale periode vergeleken met maltodextrine. Tracermethodologie toonde aan dat inuline gefermenteerd werd in alle drie de korte-ketenvetzuren, aangezien 13C-acetaat, 13C-butyraat en 13C-propionaat detecteerbaar waren in zowel ontlasting als bloed.

Om te onderzoeken of de acute metabole effecten vertaald kunnen worden naar gunstige langeretermijneffecten, werd een studie uitgevoerd waarbij proefpersonen met een voorstadium van diabetes (prediabetes) het prebioticum galacto-oligosacchariden (GOS) hebben ingenomen gedurende een periode van 12 weken (hoofdstuk 4). Vierenveertig mannen en vrouwen met prediabetes werden willekeurig toegewezen aan een groep die gedurende 12 weken dagelijks 15 gram GOS of een placebo met dezelfde calorische waarde consumeerde. Deze studie toonde aan dat 12 weken GOS-suppletie de bacteriesamenstelling in de darm aanzienlijk veranderde, met een verhoging van de Bifidobacterium spp. Dit bifidogeen effect vertaalde zich echter niet in veranderingen in korte-ketenvetzuurconcentraties in zowel ontlasting als bloed, noch leidde dit tot veranderingen in systemische concentraties van verzadigingshormonen en ontstekingsmarkers. Bovendien

werden de insulinegevoeligheid, lichaamssamenstelling, het energie- en substraatmetabolisme en circulerende metaboliëten niet significant beïnvloed door de vezelinname.

De bevinding dat acetaatinfusie in het distale maar niet in het proximale deel van het colon het humaan metabolisme beïnvloedde, heeft ertoe geleid dat het expressiepatroon van de korte-ketenvetzuurreceptoren GPR41, GPR43 en GPR109a en de verzadigingshormonen PYY en proglucagon, als voorganger van GLP-1, in verschillende locaties in de dunne en dikke darm nader onderzocht werd (hoofdstuk 5). Darmbiopten werden verkregen van 16 gezonde proefpersonen die een reguliere colonoscopie ondergingen. We toonden aan dat de expressie van GPR41, GPR43 en GPR109a en de concentraties van PYY en proglucagon hoger was in het ileum in vergelijking met de dikke darm. Bovendien was de expressie van GPR41 hoger in het proximale in vergelijking met het distale deel van het colon. Dit lijkt in tegenspraak te zijn met de uitkomsten van hoofdstuk 2, waarbij alleen distale infusie zorgde voor metabole effecten. Er zijn echter meerdere oorzaken die deze discrepantie kunnen verklaren: Mogelijk is activatie van de korte-ketenvetzuurreceptor niet de enige manier waarop korte-ketenvetzuren het metabolisme kunnen beïnvloeden. Daarnaast is het ook mogelijk dat receptorexpressie kan worden beïnvloed door de inname van voedingsvezels. Deze studie suggereert dat men gebruik zou moeten maken van makkelijk te fermenteren voedingsvezels, leidend tot een verhoging van korteketenvetzuren in het ileum en proximale colon, indien men effecten wil bekomen middels stimulering van de onderzochte receptoren.

Acetaat en propionaat hebben met name metabole effecten op perifere weefsels zoals spieren en vetweefsel, terwijl butyraat een belangrijke rol speelt bij de gezondheid van de darm. Butyraat dient als energiebron voor darmcellen. Echter, hoge systemische concentraties van butyraat kunnen bijwerkingen veroorzaken, zoals hypokaliëmie en misselijkheid. In hoofdstuk 6 werd onderzocht in welke mate dat toediening van butyraat via een klysma in een chirurgische setting tot een verhoging van circulerende

butyraatconcentraties leidde. Twaalf patiënten die een grote buikoperatie ondergingen kregen tijdens de operatie een butyraat of placebo klysma. Bloedmonsters werden afgenomen uit een polsslagader (arteria radialis), de leverader en de poortader. Korte-ketenvetzuurconcentraties werden bepaald welke ons in staat stelden fluxen te berekenen. Deze fluxen dienen als kwantitatieve maat voor opname of afgifte van korte-ketenvetzuren door de darm, lever en het splanchnische gebied (maag, twaalfvingerige darm, dunne en dikke darm, galwegen, lever, alvleesklier en milt). Direct na rectale butyraattoediening was een verhoogde afgifte van butyraat door de darm zichtbaar in combinatie met een verhoogde butyraatopname door de lever. Als gevolg was er geen splanchnische afgifte van butyraat waarneembaar, wat suggereert dat de lever in staat is om het rectaal toegediende butyraat op te nemen waardoor het butyraat niet in het bloed terecht komt.

Hoofdstuk 7 beschrijft een overzicht van de literatuur over de effecten van korte-ketenvetzuurklysma's op darmziekten, darmkanker en het genezingsproces na darmchirurgie. Celstudies hebben aangetoond dat korte-ketenvetzuren een anti-inflammatoire en anti-carcinogene effect hebben, een belangrijke rol spelen bij het behoud van metabole homeostase in dikkedarmcellen (colonocyten) en deze cellen beschermen tegen externe schade. Dierstudies hebben positieve effecten van korte-ketenvetzuren en voedingsvezels op de gezondheid van de dikke darm aangetoond. Er is echter weinig bekend over de effecten van korte-ketenvetzuurklysma's in de mens. Een beperkt aantal studies onderzocht het effect van korte-ketenvetzuurtoediening bij chronische darmontsteking, darmkanker en het genezingsproces na darmchirurgie in de mens. Deze studies laten weinig of geen gunstige effecten zien van deze behandeling ten opzichte van placebo. Daarom stellen we voor om gebruik te maken van combinatietherapieën waarbij toediening van korte-ketenvetzuren wordt gecombineerd met het gebruik van ontstekingsremmende geneesmiddelen, prebiotica of probiotica in het geval van inflammatoire darmziekten. Het gebruik van zogenaamde 'prodrugs' die door omzetting in het lichaam korte-ketenvetzuren vrijgeven

kan toegepast worden in de bestrijding van darmkanker en hechtigen die speciaal gecoat zijn met het korte-ketenvetzuur butyraat kunnen de mucosale genezing na de darmchirurgie te verbeteren.

In hoofdstuk 8 worden de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift bediscussieerd, alsook nieuwe inzichten en toekomstperspectieven. Samenvattend kunnen interventies die leiden tot een toename van korte-ketenvetzuurconcentraties in het colon en plasma mogelijk gebruikt worden als een strategie om obesitas en insulineresistentie te voorkomen en/of te behandelen, maar ook om de gezondheid van de darm op een positieve manier te beïnvloeden. Hoewel in vitro en dierstudies overtuigende effecten van korte-ketenvetzuren op metabolisme aantonen, kunnen deze resultaten tot nog toe slechts in beperkt mate in mensen worden bevestigd. Er is dus meer klinisch onderzoek nodig om de effecten bij mensen diepgaander te onderzoeken. Een patiënt-specifieke behandeling, werkend vanuit een specifieke samenstelling van de darmbacteriën, kan daarbij een belangrijk toekomstperspectief zijn.