



Samenvatting van het proefschrift

B.N.H. Salden

"Nutritional interventions focusing on gastrointestinal and metabolic health"

Promotiedatum: 17 maart 2017

Universiteit: Universiteit Maastricht

Promotor:

Prof. dr. A.A.A.M. Masclee

Copromotores:

Dr. F.J. Troost

Dr. S. Possemiers

De primaire rol van voeding is kwantitatief en kwalitatief voldoende voedingsstoffen verschaffen zodat er aan de voedingsbehoeften van een individu kan worden voldaan. Daarnaast kan voeding ook gezondheid bevorderende effecten hebben. Aanvankelijk richtte de voedingswetenschap zich op het identificeren van essentiële elementen uit de voeding en hun rol in de preventie en behandeling van diverse deficiëntieziekten. In de afgelopen jaren ligt de wetenschappelijke en klinische focus meer op de rol van voeding in ziekten geassocieerd met overmatige voedselinname. De ontdekking en ontwikkeling van functionele voedingsmiddelen heeft "functional foods" tot een snelgroeiend onderdeel van de voedselindustrie gemaakt. Functionele voedingsmiddelen worden gedefinieerd als voedingsmiddelen of voedselingrediënten die één of meer lichamelijke functies doelgericht beïnvloeden met een gezondheid bevorderend effect, of wanneer het product een fysiologisch effect heeft of effect op psychisch functioneren anders dan het traditionele nutritionele effect. De rol van functionele voeding in ziektepreventie en gezondheidsbevordering is tegenwoordig een belangrijk onderwerp van onderzoek.

In dit proefschrift onderzochten we de effecten van verschillende voedingsinterventies op de gastro-intestinale en metabole gezondheid van gezonde individuen en van individuen met overgewicht en obesitas. We bestudeerden de effecten van een prolylendoprotease, een potentieel prebiotisch en probiotisch product, en van twee verschillende fytonutriënten.

Gluten, een eiwit rijk aan proline, wordt slecht afgebroken in het maag-darmstelsel door het ontbreken van proline splitsende proteasen in het maag-darmkanaal. De aanwezigheid van lange prolinerijke glutenpeptiden in de dunne darm kan meerdere gluten-gerelateerde aandoeningen via verschillende mechanismen induceren. Prolyl endoproteasen zijn enzymen die het vermogen hebben om de prolinerijke glutenpeptiden te splitsen. In Hoofdstuk 2 onderzochten we de in vivo werkzaamheid van *Aspergillus Niger* prolyl endoprotease (AN-PEP) in het afbreken van gluten. AN-PEP was in staat om gluten, verwerkt in een maaltijd, efficiënt af te breken in de maag van gezonde vrijwilligers voordat deze gluten de dunne darm bereikten. Daarnaast zorgde het verhogen van de calorische dichtheid van de maaltijd tot een vertraging in maagontledingsnelheid, maar had het geen invloed op de efficiëntie van glutenafbraak. In Hoofdstuk 3 van dit proefschrift evalueerden we het gebruik van

paracetamol als postprandiale marker voor maagontleding. We toonden aan dat paracetamol, wanneer toegevoegd en vermengd met een maaltijd, wordt onderverdeeld in twee fracties; één paracetamolfractie ingekapseld door het vaste deel van de maaltijd en één fractie opgelost in de vloeibare inhoud van de maaltijd. De snelheid van absorptie van deze fracties is verschillend, en geen van beiden geeft nauwkeurig de maagledigingsnelheid weer. Het veranderen van de samenstelling van darmmicrobiota door prebiotische producten lijkt een interessante manier om de darmbarrièrefunctie te verbeteren en om het ontstaan of de progressie van chronische ziekten te behandelen of zelfs te voorkomen. Een beperking van de meeste prebiotica is hun snelle fermentatie in het proximale colon. Arabinoxylanen (AX), de meest voorkomende niet-verteerbare koolhydraten in tarwe, vormen een interessante nieuwe klasse van potentiële prebiotica. Door hun structuur hebben ze een breed spectrum van (bacteriële) enzymen nodig voor hun afbraak, hetgeen resulteert in een meer distale fermentatie en activiteit. Bovendien beïnvloedt hun structuur het fermentatiepatroon en bepaalt het de mate van immunomodulatie, met de hoogste activiteit waargenomen voor lange-keten AX. In Hoofdstuk 4 onderzochten we de effecten van twee verschillende doseringen AX, na 6 weken toediening, in gezonde personen met overgewicht of obesitas. Uitkomstmaten waren darmbarrièrefunctie, samenstelling en activiteit van de darmmicrobiota, het immuunsysteem en metabole parameters. In vergelijking met placebo bleek AX de relatieve aanwezigheid van de dominante bacteriefyla in feces niet significant te beïnvloeden. Wel werd er een afname in microbiële rijkdom en diversiteit waargenomen na 6 weken 15 g AX inname, maar niet na 6 weken 7.5 g AX inname. Daarnaast waren de fecale concentraties van de verschillende korteketenvetzuren acetaat, butyraat en propionaat en van de totale hoeveelheid korteketenvetzuren verhoogd na inname van 6 weken AX, tegenover een daling in de placebogroep. Zes weken inname van 7,5 g AX zorgde voor een significante verlaging van de fecale pH, in vergelijking met placebo. Deze modulatie van microbiële activiteit in de darm zou de darmbarrièrefunctie en het immuunsysteem kunnen beïnvloeden. Ook werd er een toename van transcriptie van de tight junction (TJ) eiwitten occludine, claudine-3 en claudine-4 in sigmoid biopten waargenomen, zowel na 7,5 g AX als na 15 g AX suppletie. Echter, er werden geen significante veranderingen in TJ eiwitexpressie of in gastro-intestinale permeabiliteit gezien na AX suppletie, in vergelijking met placebo. Tenslotte zagen we in deze studie een significante daling in de productie van het pro-inflammatoire cytokine TNFalfa door gestimuleerde perifere mononucleaire bloedcellen na 6 weken inname van 15 g AX vergeleken met inname van placebo.

Studies van grote omvang hebben aangetoond dat flavonoïde-rijke producten gunstige effecten hebben op hart- en vaatziekten en de bijbehorende risicofactoren. Om in vivo gezondheidseffecten te bewerkstelligen is het essentieel dat flavonoïden goed biobeschikbaar zijn, met ander woorden dat ze worden opgenomen vanuit het maag-darmstelsel en dat ze de systemische circulatie bereiken. Hesperidine, een flavonoïde glycoside uit sinaasappelschillen, kan wel degelijk positieve effecten uitoefenen op metabole en cardiovasculaire gezondheid, maar is in mensen maar in geringe mate biologisch beschikbaar. Een manier om de biologische beschikbaarheid te verbeteren is door het proces van oplossen te verbeteren middels micronisatie. Daarnaast heeft hesperidine een specifieke enantiomeer configuratie; het bestaat uit een mengsel van S- en R-enantiomeren in een S:R-verhouding tussen 1:1 en 5:1, afhankelijk van de bron. De S-enantiomeer heeft een sterker biologisch effect dan de R-enantiomeer. Terwijl in de natuur de 2S-enantiomeer overheerst, bevatten commercieel verkrijgbare hesperidine producten vaak een mengsel van beide stereo-isomeren. In Hoofdstuk 5 vergeleken we de biologische beschikbaarheid van standaard hesperidine met die van gemicroniseerde hesperidine 2S (S:R-verhouding van 4:1) in een cross-over studie met gezonde proefpersonen. Na inname van één dosis bleek de gemicroniseerde hesperidine 2S beter biologisch beschikbaar te zijn dan de standaard hesperidine. Dit werd aangetoond middels een significante toename van de cumulatieve uitscheiding van totaal hesperidine en van de individuele hesperidinemetabolieten in 24-uurs urine. Daarnaast was er een

significante toename van de AUC_{0-4h} van plasma hesperidine na inname van de gemiconiseerde hesperidine 2S, in vergelijking met standaard hesperidine. De verbeterde biologische beschikbaarheid van gemiconiseerd hesperidine 2S zou tevens de biologische activiteit gunstig kunnen beïnvloeden.

Naar aanleiding van bovengenoemde gunstige resultaten, bestudeerden wij in Hoofdstuk 6 de effecten van 6 weken gemiconiseerde hesperidine 2S inname op endotheelfunctie, gemeten met flow-gemedieerde dilatatie, in personen met overgewicht en obesitas. Daarnaast onderzochten we ook de effecten op plasma adhesiemoleculen, bloeddruk en metabole parameters. Naast het bestuderen van de effecten op basale (nuchtere) endotheelfunctie, bestudeerden wij ook de effecten van hesperidine 2S na inductie van tijdelijke, reversibele endotheeldysfunctie door deelnemers een vetrijke maaltijd te geven. In deze gerandomiseerde, placebo-gecontroleerde, dubbelblinde, parallelle studie zagen we geen significante veranderingen in nuchtere noch in postprandiale flow-gemedieerde dilatatie. Wel zagen we een dalende trend in de adhesiemoleculen sVCAM-1, sICAM-1 en sP-selectine en in de systolische en diastolische bloeddruk na 6 weken hesperidine 2S inname, vergeleken met placebo. Daarnaast zagen we in een subgroep analyse dat hesperidine 2S een beschermend effect had ten aanzien van postprandiale endotheeldysfunctie, en dat het de adhesiemoleculen sVCAM-1 en sICAM-1 significant verlaagde, in vergelijking met de placebo. In deze subgroep analyse waren personen met een sterk verminderde basale flow-gemedieerde dilatatie (<3%) geëxcludeerd omdat verbetering van endotheelfunctie na een dergelijke korte termijn voedingsinterventie niet te verwachten is in personen met zo'n chronisch slecht functionerend endotheel.

In een volgend gerandomiseerd, placebo-gecontroleerde, dubbelblinde, parallelle studie onderzochten we de effecten van hetzelfde hesperidine 2S supplement op gastro-intestinale en systemische metabole parameters bij patiënten met kenmerken van het metabool syndroom na 12 weken inname (Hoofdstuk 7). In deze studie werden geen significante hesperidine-geïnduceerde effecten waargenomen ten aanzien van de glucoseregulatie, bloeddruk en lipidenconcentraties. Hoewel de totale korteketenvetzurenconcentratie in feces niet veranderde, beïnvloedde hesperidine 2S het gastro-intestinale milieu, weerspiegeld door een significante verschuiving in het fermentatie (korteketenvetzuren) profiel van acetaat naar butyraat. Daarnaast werd er een duidelijke maar niet-significante daling gezien in fecale calprotectine concentraties.

Carotenoïden zijn lipofiele antioxidanten overvloedig aanwezig in fruit en groenten. Het is aangetoond dat een hoge inname van carotenoïden beschermt tegen de ontwikkeling van hart- en vaatziekten en gerelateerde risicofactoren. De meeste commercieel verkrijgbare natuurlijke carotenoïden zijn afkomstig van plantaardige materialen. Echter, de kwaliteit en consistentie van deze carotenoïden varieert aanzienlijk. Carotenoïden kunnen ook worden geproduceerd door bacteriën, met name carotenoïden die geproduceerd worden door sporenvormende Bacillus-stammen zijn van belang. Eerdere in vitro en dierstudies hebben aangetoond dat een specifieke Bacillus stam, genaamd PD01, in staat is maagsapresistente carotenoïden met superieure biobeschikbaarheid en hoge antioxidant werking te produceren in vergelijking met carotenoïden afkomstig van planten. Daarnaast bezit PD01 zelf mogelijk ook probiotische eigenschappen. In Hoofdstuk 8 onderzochten wij of PD01 in staat is om in vivo te overleven in het maag-darmstelsel en in staat is tot productie van systemisch opneembare carotenoïden. Daarnaast bestudeerden wij de gastro-intestinale en systemische effecten van PD01 en van de geproduceerde bacteriële carotenoïden in individuen met overgewicht en obesitas. PD01 bleek in vivo in staat te overleven in het menselijke maag-darmstelsel en te ontkiemen tot vegetatieve cellen met afgifte van biobeschikbare carotenoïden. Echter, er werden geen significante gastro-intestinale noch systemische effecten waargenomen tot na 6 weken PD01 inname, in vergelijking met placebo.

In Hoofdstuk 9 gaven we een overzicht van de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift, bediscussieerden we nieuwe inzichten en toekomstperspectieven, en droegen we mogelijke implicaties voor verder onderzoek aan.