



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Food for microbes. The interplay between indigestible carbohydrates, gut microbiota, and cardiometabolic disease

Hoving, L.R.

Citation

Hoving, L. R. (2019, January 31). *Food for microbes. The interplay between indigestible carbohydrates, gut microbiota, and cardiometabolic disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/68263>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/68263>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



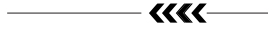
The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:

<http://hdl.handle.net/1887/68263>

Author: Hoving, L.R.

Title: Food for microbes. The interplay between indigestible carbohydrates, gut microbiota, and cardiometabolic disease

Issue Date: 2019-01-31



NEDERLANDSE SAMENVATTING

Cardiometabole ziekten zoals obesitas, type 2 diabetes en slagaderverkalking (atherosclerose) zijn een belangrijke oorzaak van morbiditeit en mortaliteit in de Westerse Wereld. Twee belangrijke risicofactoren voor het ontstaan van cardiometabole ziekten zijn hyperlipidemie en ontsteking. Ook bacteriën die zich huisvesten in ons darmstelsel kunnen een belangrijke rol kunnen spelen bij het ontstaan en het verloop van cardiometabole ziekten. Daarom wordt veel onderzoek gedaan om niet alleen de samenstelling, maar ook de functie van de darmbacteriehuishouding dusdanig te veranderen dat het ontstaan van cardiometabole ziekten wordt voorkomen. Vezels, voor de mens onverteerbare koolhydraten, vormen een primaire voedingsbron voor darmbacteriën en zijn daarom een belangrijk potentieel middel om de samenstelling en functie van de darmbacteriën te veranderen. Dit proefschrift heeft als doel om de wisselwerking tussen verschillende onverteerbare koolhydraten, de samenstelling en functie van de darmbacteriën, en het ontstaan en verloop van cardiometabole ziekten zoals obesitas, type 2 diabetes, en atherosclerose beter te begrijpen.

In **hoofdstuk 1** worden hyperlipidemie en ontsteking geïntroduceerd als twee belangrijke risicofactoren voor het ontstaan van cardiometabole ziekte. Nadruk wordt gelegd op de darmbacteriën als risicofactor in de ontwikkeling van cardiometabole ziekten. De samenstelling, de functie en verstoring van een gezonde darmbacteriehuishouding worden hierin belicht. Om het belang van het veranderen van de darmbacteriehuishouding in cardiometabole ziekten te benadrukken, wordt het nut van dieetinterventies middels onverteerbare koolhydraten in meer detail uitgelegd. Tenslotte wordt het belang van goede technische analytische methoden uitgelicht om metabolieten in feces te meten omdat deze metabolieten de functie van de darmbacteriën weerspiegelen.

Het onderzoek wat beschreven wordt in dit proefschrift maakt gebruik van vetrijke en cholesterolrijke diëten om cardiometabole pathologie in muizen op te wekken. Het is bekend dat verscheidene vetzuren een verschillende rol kunnen spelen in ziekte en gezondheid. Daarom is het belangrijk voor fundamentele- en klinische studies om de juiste meetmethoden in huis te hebben om ook het vetzuurprofiel van het bloed in kaart te brengen. **Hoofdstuk 2** beschrijft een methode die de samenstelling van middellange- en lange keten vetzuren in het bloed van

muizen kan bepalen met behulp van gaschromatografie-massaspectrometrie (GC-MS). Deze methode wordt gekenmerkt door het gebruik van pentafluorbenzylbromide (PFBB_r), interne standaarden (IS) en negatieve ionen voor elektronvangst (ECNI). Deze combinatie van kenmerken maakt deze methode geschikt om vetzuren op een volledige, gevoelige en nauwkeurige manier kwantitatief in kaart te brengen.

Tevens waren wij geïnteresseerd in het effect van koolhydraten, die door de mens niet kunnen worden verteerd, op de functie van de darmbacteriën. Een belangrijke functie van darmbacteriën is het verteren van deze koolhydraten, waarbij korte keten vetzuren (SCFAs) vrij komen. **Hoofdstuk 3** beschrijft een methode om SCFAs in bloed, dikke darm en in feces te meten met behulp van GC-MS. Ook deze methode maakt gebruik van PFBB_r, IS, en ECNI en is een snelle, betrouwbare en reproduceerbare methode voor de scheiding en kwantificatie van SCFAs in verschillende monsters afkomstig uit fundamenteel muizenonderzoek. Bovendien kan deze methode ook toegepast worden in humaan onderzoek.

In **hoofdstuk 4** hebben we de korte termijn effecten van de onverteerbare koolhydraat inuline op de ontwikkeling van atherosclerose bestudeerd. Eerdere studies lieten al zien dat dit prebioticum een gunstig effect had op ontsteking en hyperlipidemie. Het effect van inuline op de ontwikkeling van atherosclerose is echter nog beperkt onderzocht. Mannelijke APOE*3-Leiden (*E3L*) muizen werden gedurende 5 weken lang gevoed met een hoog cholesterol dieet mét of zonder de aanvulling van inuline. *E3L* muizen op een hoog cholesterol dieet lijken wat betreft lipiden metabolisme en atherosclerose ontwikkeling sterk op de mens. Om versnelde atherosclerose in deze muizen te induceren, ondergingen de muizen een operatie in week 3 waarbij een manchet rond de dijbeenslagader van de muizen werd geplaatst. Bij dit versnelde atherosclerose proces speelt ontsteking een belangrijke rol. In tegenstelling tot onze hypothese dat inuline atherosclerose zou verminderen, kwam uit het onderzoek in **hoofdstuk 4** naar voren dat inuline het proces van atherosclerose verergerd had. Dit ging gepaard met grotere, ontstoken laesies en een grotere diameter van het bloedvat. Tot onze verrassing had inuline geen effect op de samenstelling van immuun cellen in het bloed, maar verhoogde wel het cholesterol niveau in het bloed. Dit geeft aan dat de verergering van atherosclerose hoogstwaarschijnlijk

een gevolg was van een verhoogde cholesterol niveau.

In **hoofdstuk 5** richtten we ons op de lange termijneffecten van inuline op de ontwikkeling van atherosclerose. Vrouwelijke APOE *3-Leiden.CETP (*E3L.CETP*) muizen werden gevoed met een matig hoog (0.1%) of hoog (0.5%) cholesterol dieet mét of zonder aanvulling van inuline. Met deze studie opzet ontwikkelen deze muizen in een periode van 11 weken atherosclerose rond het kleppengebied in het hart, wat overeenkomt met “natuurlijke” atherosclerose die ook in de mens wordt gezien en voornamelijk een gevolg is van het hoge lipidenniveau in het bloed. Uit dit onderzoek kwam naar voren dat inuline in combinatie met een hoog (0.5%) cholesterol dieet een duidelijke prebiotische activiteit liet zien, maar verder geen effect had op het lipiden niveau in het bloed of op de ontwikkeling van atherosclerose. Inuline in combinatie met dit hoge cholesterol (0.5%) dieet resulteerde zelfs in milde leverontsteking. Inuline gecombineerd met een matig hoog (0.1%) cholesterol dieet liet ook geen effect op plasma lipiden zien, maar had daarentegen geen nadelige gevolgen op ontsteking in de lever. Hoewel inuline dus wordt erkend als een prebioticum met gunstige effecten op het lipidenmetabolisme en cardiovasculaire aandoeningen, lieten onze experimenten duidelijk iets anders zien en kan geconcludeerd worden dat inuline niet altijd gunstig is.

In **hoofdstuk 6** hebben we onze aandacht verlegd van een erkend prebioticum naar een relatief onbekende onverteerbare koolhydraat met potentie om effect te hebben op de darmbacteriehuishouding, ontsteking en hyperlipidemie. Eerdere studies toonden aan dat MOS effectief zijn bij het verbeteren van de groei van dieren in de veehouderij, terwijl daarnaast een vermindering van ontsteking en hyperlipidemie werd waargenomen. De gevonden gunstige effecten van MOS op ontsteking lijken voornamelijk een gevolg van effecten op het darmstelsel. Echter zijn er ook aanwijzingen dat MOS buiten de darmen gunstige effecten kunnen uitoefenen. Omdat obesitas gepaard gaat met ontsteking die zich voornamelijk buiten de darmen manifesteert, hebben we het effect van MOS onderzocht op obesitas-gerelateerde ontsteking in extra-intestinaal metabool weefsel zoals vetweefsel en de lever. Daarnaast hebben we ook gekeken naar de effecten van MOS op glucosetolerantie. Obesitas induceerden we middels een hoog vet dieet (HFD) en vervolgens onderzochten we de effecten van MOS op

ontsteking in zowel slanke muizen als in muizen met obesitas. Wij vonden dat MOS de samenstelling van de immuuncellen binnen het mesenteriale witte vetweefsel (mWAT) en de lever van vooral magere muizen enigszins veranderde. Echter werden er geen effecten gevonden van MOS op het verbeteren van glucosetolerantie. Ondanks het feit dat de gevonden effecten relatief bescheiden zijn, concludeerden wij dat MOS de potentie heeft om ontsteking in weefsel buiten het darmstelsel te moduleren.

Zowel hyperlipidemie als ontsteking spelen een belangrijke rol in atherosclerose. In **hoofdstuk 7** onderzochten wij het effect van MOS op de ontwikkeling van atherosclerose in vrouwelijke *E3L.CETP* muizen. Deze muizen werden 14 weken lang gevoed met een hoog cholesterol dieet, mét of zonder toevoeging van MOS. Dit onderzoek liet zien dat MOS de ontwikkeling van atherosclerose reduceerde middels verlaging van het cholesterol niveau in het bloed. Daarnaast lieten MOS een sterke verandering zien op de darmbacteriehuishouding en op de activiteit van de darmbacteriën. Dit laatste bleek uit een verhoging van de SCFA butyraat in de dikke darm en een verhoogde uitscheiding van galzuren in de feces. Uit dit onderzoek kan daarom geconcludeerd worden dat MOS de ontwikkeling van atherosclerose en plasma cholesterol niveaus verlagen via interacties met de darmbacteriën en effecten op plasma cholesterol.

De belangrijkste resultaten die beschreven staan in dit proefschrift worden bediscussieerd in **hoofdstuk 8**. Het belang van het gebruik van methoden om de microbiota compositie en functie in kaart te brengen, factoren die de functie van de microbiota bepalen, de rol van de microbiota in de ontwikkeling van atherosclerose, de vertaalbaarheid van muismodellen in microbiota onderzoek en de implicaties van prebiotica worden eveneens besproken. Samenvattend hebben de studies in dit proefschrift onze kennis vergroot over de potentie van verschillende onverteerbare koolhydraten in het moduleren van de darmbacteriehuishouding om de ontwikkeling van cardiometabole ziekten te beïnvloeden. Dit is een veelbelovende strategie waarbij enige voorzichtigheid is geboden.