

Plant stanol esters: focus on intestinal lipoprotein metabolism

Citation for published version (APA):

de Smet, E. (2014). Plant stanol esters: focus on intestinal lipoprotein metabolism. 's-Hertogenbosch: Uitgeverij BOXPRESS.

Document status and date:

Published: 01/01/2014

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Samenvatting

Hart- en vaatziekten (HVZ) zijn wereldwijd de belangrijkste doodsoorzaak voor mannen en vrouwen. Sommige risicofactoren, zoals leeftijd en genetische belasting, kunnen we niet veranderen. Factoren zoals roken, hypertensie, een tekort aan lichamelijke activiteit, overgewicht, ongezonde voedingsgewoontes en afwijkende lipidenconcentraties in het serum, zijn echter wel te beïnvloeden. Om het risico op het krijgen van HVZ te verlagen is een gezonde levensstijl erg belangrijk. Het gebruik van functionele voedingsmiddelen, die het aantal atherogene LDL-deeltjes verlagen, kan het risico op HVZ verminderen. Functionele voedingsmiddelen bevatten (of missen) een of meerdere stoffen en hebben daarom een gunstig effect op de gezondheid. Plantaardige stanolesters, verwerkt in margarines, zijn hiervan een bekend voorbeeld. Ze verlagen de cholesterolabsorptie in de darm via een tot nu toe onbekend mechanisme. Behalve plantaardige stanolesters zijn er nog andere factoren die een effect hebben op het cholesterolmetabolisme in de darm. Het doel van de studies, die in dit proefschrift staan beschreven, was dan ook om de rol van plantaardige stanolesters en amoxicilline, een antibioticum dat de samenstelling van de darmbacteriën (microbiota) kan veranderen, op het lipidenmetabolisme te bestuderen.

In onze eerste studie werden de effecten van een éénmalige inname van plantaardige stanolesters op plantaardige sterol- en stanolconcentraties in serum, darm en lever onderzocht om inzicht te verkrijgen in de kinetiek van plantaardige stanolesters (hoofdstuk 3). Tegelijkertijd werd in de lever en de darm gekeken naar het expressieprofiel van genen betrokken bij het sterolmetabolisme. Om de invloed van plantaardige sterolen en stanolen, die reeds in het bloed en de weefsels aanwezig zijn, te verminderen, kregen de C57BL/6J muizen vanaf de geboorte een sterol- en stanol-arme voeding. Op de leeftijd van 8 weken kregen deze muizen een orale gavage. Hiervoor werd 0,25 mg cholesterol samen met 50 mg plantaardige stanolesters opgelost in 500 µl plantaardig sterolarme olijfolie. Voorafgaande aan de gavage werden de muizen 2 uur gevast. Na de gavage werden zij op 7 verschillende tijdstippen opgeofferd. Vijftien minuten na toediening van de gavage nam de concentratie van plantaardige stanolen niet alleen in de darm toe, maar ook al in de lever. Deze laatste bevinding was onverwacht. Het betekent immers dat de absorptie van plantaardige stanolen in de enterocyten, gevolgd door de inbouw en secretie als chylomicronen in de lymfe, en tenslotte de opname ervan in de lever, slechts 15 minuten duurt. Bovendien was er geen duidelijke verandering in de serumconcentraties van plantaardige stanolen te zien op dit tijdstip. Het zou ook kunnen dat plantaardige stanolen of stanolesters de lever bereiken via de poortader, een route waarbij de vorming van chylomicronen niet vereist is. Daarom werd een tweede studie uitgevoerd. Voor deze studie werden C57BL/6J muizen vanaf de geboorte gevoed met hetzelfde plantaardige sterol en stanol arme voer. Op de leeftijd van 8 weken werden de muizen onder anesthesie gebracht en werd de ductus lymphaticus thoracicus gecanuleerd. De muizen in de controlegroep kregen een sham operatie, waarbij de lymfecirculatie intact bleef. Ze kregen dezelfde orale gavage toegediend als de muizen in de eerste studie, met als enige wijziging dat nu deuterium-gelabelde plantaardige stanolesters en cholesterol werden gebruikt. Dit label maakte het mogelijk om de route te volgen, die de plantaardige stanolesters en cholesterol afkomstig uit de gavage, aflegden via de circulatie en de weefsels. De muizen bleven onder anesthesie totdat ze op 6 verschillende tijdstippen werden opgeofferd. Vijftien minuten na toediening was er geen toename van deuterium-gelabelde plantaardige stanolen in de lever van de lymfe-gecanuleerde muizen. Toch was de opname in de darm vergelijkbaar tussen de lymfe-gecanuleerde en de controle (sham-geopereerde) muizen. We concludeerden dan ook dat de opname van plantaardige stanolen in de lever via de lymfe verloopt. Het deuterium-gelabelde cholesterol kon niet aangetoond worden in de lever, hetgeen suggereert dat de snelle opname in de lever specifiek is voor plantaardige stanolen. Het is echter ook mogelijk dat de detectielimiet voor de bepaling van het gelabelde cholesterol in de lever te laag was. De vraag blijft dan ook hoe de vrije of de veresterde vorm van plantaardige stanolen de lever zo snel kunnen bereiken, zonder dat er grote veranderingen in serumconcentraties waarneembaar zijn.

Een andere bevinding was dat de expressie van genen betrokken bij het sterolmetabolisme tegenovergesteld was in de lever en de darm. Een daling van de cholesterolconcentratie in de darmcel kan aan de basis liggen van een toename in de expressie van SREBP2 en zijn targetgenen tot gevolg hebben. In de lever nam de expressie van ABCG5/ABCG8, twee LXR

targetgenen, echter toe, terwijl hun expressie nauwelijks veranderde in de darm. Dit verschil kan mogelijk verklaard worden door verschillen in desmosterolconcentraties tussen de lever en de darm. In macrofagen is reeds eerder aangetoond dat desmosterol betrokken is bij de activatie van LXR. Tenslotte suggereert de sterke toename van de expressie van de LDLreceptor en PCSK9 in de darm een verhoogde klaring van cholesterol via de transintestinale cholesterolexcretie (TICE). Deze veronderstelling moet echter nader onderzocht worden.

Behalve in muizen, werden de effecten van een éénmalige inname van plantaardige stanolesters op het expressieprofiel van genen ook in de darm van mensen onderzocht (hoofdstuk 4). Hiervoor werden achttien gezonde deelnemers willekeurig verdeeld over twee groepen. 's Ochtends kregen ze in willekeurige volgorde een shake verrijkt met 4 g plantaardige stanolesters of een controle shake (0 g plantaardige stanolesters). De deelnemers mochten een week voor deze postprandiale test geen producten eten, die rijk waren aan plantaardige sterolen en stanolen. Vijf uur na consumptie van de shake werden darmbiopten genomen in het duodenum (de twaalfvingerige darm) en het jejunum (de nuchtere darm). Het expressieprofiel van genen, die een rol spelen in het sterolmetabolisme, was vergelijkbaar na inname van de controle en de plantenstanolester verrijkte shake. Onverwachts was de bevinding dat er een downregulatie was van immuun-gerelateerde T-cell pathways in het jejunum. Reeds eerder is aangetoond bij mensen met een verstoorde immuunrespons, dat plantaardige stanolesters het immuunsysteem, in het bijzonder de T-helper cel response, kunnen activeren. In onze studie, met gezonde deelnemers leek de immuunrespons echter te zijn afgezwakt. Nader onderzoek zal moeten uitwijzen wat de functionele en fysiologische gevolgen zijn van deze mogelijke afname van de immuunrespons in de darm bij gezonde mensen.

In deze studie werd eveneens het effect op het postprandiale lipiden en lipoproteïnenprofiel bekeken (hoofdstuk 5). Bovendien onderzochten we of de resultaten van de postprandiale test gebruikt konden worden om te voorspellen hoe het lipidenprofiel van een individu zou veranderen na langdurige consumptie van plantaardige stanolesters. Hiervoor werd bloed afgenomen gedurende de eerste 4 uur na consumptie van de shake, die al niet dan verrijkt was met 4 g plantaardige stanolesters. De deelnemers die tijdens de testdagen de shakes hadden gebruikt, kregen gedurende twee perioden van 3 weken eveneens een margarine al dan niet verrijkt met plantaardige stanolesters (3 g/d). Er was een periode van 4 weken tussen beide interventies (controle en plantenstanolester conditie). Er werd een positieve correlatie gevonden tussen de postprandiale toename van glucose (iAUC) en de veranderingen in de concentraties van totaal cholesterol, LDL-cholesterol, apoB100, totaal VLDL, klein VLDL en IDL na het gebruik van een margarine verrijkt met plantaardige stanolesters gedurende 3 weken. Dit suggereert dat mensen met een verhoogde postprandiale glucoserespons minder gevoelig zijn voor het cholesterolverlagend effect van plantaardige stanolesters op langere termijn. Er is echter meer onderzoek nodig, waarbij gericht gekeken moet worden naar een verband tussen transcriptiefactoren die een rol spelen in het lipiden, het glucose en het insuline metabolisme. Enkele voorbeelden hiervan zijn SREBP2, SREBP-1c en chREBP.

Gedurende de postprandiaal test daalde de serumconcentratie van totaal cholesterol, terwijl die van de triglyceriden (TAG), glucose en insuline toenamen. Deze veranderingen waren vergelijkbaar na consumptie van de controle shake of de shake verrijkt met plantaardige stanolesters. De iAUCs van TAG, insuline en glucose waren eveneens vergelijkbaar op beide testdagen. Het lipoproteïnenprofiel veranderde niet na inname van de shakes.

Zoals verwacht, nam de serumconcentratie van totaal cholesterol, LDL-cholesterol en apolipoproteïne B100 (apoB100) af in deelnemers na inname van de margarine verrijkt met plantaardige stanolesters. De serumconcentraties van HDL-cholesterol, TAG en apoA1 veranderden niet. In vergelijking met de controle conditie verlaagde het totaal aantal VLDL-chylomicron, kleine VLDL en grootte LDL-deeltjes.

Dierstudies hebben aangetoond dat de samenstelling van de darmbacteriën (microbiota) geassocieerd is met het lipiden- en lipoproteïnenmetabolisme. Daarom onderzochten we het effect van een oraal toegediende amoxicilline kuur (7 dagen) op het lipiden- en glucosemetabolisme in deelnemers met een licht verhoogd cholesterolgehalte (hoofdstuk 6). Vierenzeventig deelnemers werden willekeurig verdeeld over 2 groepen. Een groep kreeg

capsules met amoxicilline en de andere groep kreeg controle capsules (placebo) gedurende 1 week. De deelnemers kwamen op dag 1, 4, 8, 12 en 16 langs voor een nuchtere bloedafname. Dag 12 en dag 16 waren tijdstippen waarop de deelnemers geen capsules meer innamen. Inname van amoxicilline leidde niet tot veranderingen in de serumconcentratie van totaal cholesterol, LDL-cholesterol, TAG, C-reactief proteïne, glucose, insuline en de HOMA-index. Lichaamsgewicht en bloeddruk bleven ook ongewijzigd. Er werd echter een significante interactie gevonden tussen inname van amoxicilline en de startwaarde van het HDL-cholesterolgehalte, het TAG-gehalte, het glucosegehalte en de HOMA-index. Het gebruik van amoxicilline verlaagde de serumconcentratie van HDL-cholesterol in personen met een verhoogde startwaarde. De toename in de TAG-concentratie was verhoogd in deelnemers met verhoogde startwaarden. Na inname van amoxicilline verlaagde de glucose en de HOMA-index in de deelnemers met een hoge waarde bij aanvang van de proef. Het verschil in HDL-cholesterol en TAG-concentraties tussen de deelnemers met hoge startwaarde in de amoxicilline en de controlegroep leek af te nemen in de week volgend op de inname van de capsules. Veranderingen in het expressieprofiel van genen veroorzaakt door het antibioticum (dus onafhankelijk van een eventuele verandering in de samenstelling van de microbiota) kan een mogelijke verklaring zijn voor deze snelle terugkeer naar startwaarden. Vervolgstudies zijn echter nodig om het effect van antibiotica op het genexpressieprofiel te bestuderen. Ook is het noodzakelijk om na inname van amoxicilline de veranderingen in de samenstelling van de darmbacteriën na te gaan. Tenslotte is het ook de moeite waard om te onderzoeken of een bepaalde soort darmbacterie verantwoordelijk is voor deze bevindingen.