

Natural Ah receptor agonists in the human diet : beneficial food components or unperceived risk factors?

Citation for published version (APA):

de Waard, W. J. (2008). *Natural Ah receptor agonists in the human diet : beneficial food components or unperceived risk factors?*. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20081107ww>

Document status and date:

Published: 01/01/2008

DOI:

[10.26481/dis.20081107ww](https://doi.org/10.26481/dis.20081107ww)

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.

Een samenvatting voor de leek

Het eten van groente en fruit wordt als zeer gezond gezien en een aantal epidemiologische studies lijken hier ook op te wijzen. Hoewel de chemische samenstelling van deze voedingsmiddelen buitengewoon complex is, heeft men veel onderzoek verricht naar afzonderlijke stoffen in groenten en fruit die verantwoordelijk zouden kunnen zijn voor de effecten op de gezondheid. Een voorbeeld van zo'n stof is indol-3-carbinol (I3C), afkomstig uit spruitjes en andere koolsoorten, waarvan uit dierstudies bekend is dat het bepaalde vormen van kanker kan tegengaan. Het gevolg is dat deze stof in pillen of capsules met een zeer hoge dosis, tot honderden malen de hoeveelheid in een bord vol spruitjes, commercieel verkrijgbaar is. Omdat het om een "natuurlijke" stof gaat, zou een uitputtend toxicologisch onderzoek zoals bij medicijnen niet nodig zijn. De vraag is echter of dit wel zo verstandig is, aangezien deze stof en een aantal in het lichaam gevormde omzettingsproducten (metabolieten) binden aan de zg. Ah-receptor (aryl hydrocarbon receptor), een eiwit dat voorkomt in bijna alle cellen van dieren en dus ook mensen. Deze Ah-receptor wordt ook wel de dioxine receptor genoemd, omdat het beruchte milieuverontreinigende dioxine, bekend van vele krantenberichten over milieuproblemen, via binding aan en activering van dit eiwit zijn giftige effecten veroorzaakt. Hierdoor rijst de vraag of die natuurlijke Ah-receptor activatoren ook giftige effecten kunnen veroorzaken. Intussen worden er steeds meer natuurlijke stoffen ontdekt die aan de Ah-receptor binden en deze kunnen activeren, voor het gemak aangeduid met NAhRAs (Natuurlijke Ah-receptor agonisten), waaronder bergamottin in grapefruit.

Dit proefschrift probeert meer licht te werpen op de overeenkomsten en verschillen tussen natuurlijke en milieugevaarlijke Ah-receptor agonisten. Dit is onder meer gedaan op het onderzoeksgebied van genexpressie en genotoxiciteit in cellen, dus op DNA niveau.

In **hoofdstuk 2** wordt het effect beschreven op genexpressie na blootstelling van gekweekte menselijke darmcellen (Caco-2) aan dioxine (TCDD), benzo[a]pyreen (BaP, een kankerverwekkende stof in o.a. sigarettenrook en aangebrand voedsel) en diverse NAhRAs (ICZ, een metaboliet van I3C, en extracten van grapefruitsap en citruspulp). Middels de microarray techniek, waarbij de relatieve hoeveelheid in de cellen gevormd mRNA wordt gemeten (het product van de zogeheten expressie van de genen, de dragers van de erfelijke eigenschappen gecodeerd door het DNA), werd de expressie van duizenden verschillende genen bepaald. Verwacht werd dat de natuurlijke stoffen met effecten op de AhR een (fors) aantal andere genen hoger of lager tot expressie zouden laten komen dan de niet-natuurlijke. Echter, van de duizenden genen werden er maar ongeveer twintig duidelijk beïnvloed en wel op ongeveer gelijke wijze bij zowel de natuurlijke als de niet-natuurlijke Ah-receptor agonisten. Van een aantal genen was al in de literatuur bekend dat ze beïnvloed werden door dioxine, en de meeste van deze genen kunnen betrokken zijn bij het ontstaan van kanker. Op genexpressie-niveau in darmcellen bleek er dus geen duidelijk onderscheid te zijn tussen dioxine, BaP en NAhRAs. Van één van de tot expressie gekomen genen is de werkzaamheid van het bijbehorende eiwit bepaald (het enzym CYP1A1). De activiteit van dit enzym blijkt door TCDD, BaP, ICZ en het citruspulp extract verhoogd te worden maar door het grapefruitsap extract sterk geremd te kunnen worden. Dit duidt

op een verschil van sommige NAhRAs ten opzichte van dioxine in effecten op de werking van de eiwitten die gevormd worden (dit zijn op hun beurt de producten van het eerder genoemde mRNA dat wordt afgelezen van de genen.).

In **hoofdstuk 3** is het onderzoek beschreven naar de mate van voorkomen van NAhRAs in belangrijke voedingsmiddelen waaruit het gemiddelde Nederlandse menu bestaat. Dit is uitgevoerd met behulp van de CALUX-methode. Deze methode behelst het blootstellen van genetisch gemodificeerde rattencellen aan extracten van voedingsmiddelen en aan dioxine als standaardstof. De cellen zijn zo bewerkt dat bioluminescentie optreedt als NAhRAs of dioxines de cel binnenkomen en binden aan de Ah-receptor. Dit signaal wordt met een luminometer gemeten en hoe hoger het signaal, des te meer NAhRA of dioxine er aanwezig is. Op deze manier kan worden bepaald hoeveel NAhRAs er in totaal in de voeding zitten ten opzichte van dioxine. Het blijkt dat de hoeveelheid NAhRAs in de Nederlandse voeding vele malen hoger is dan die van dioxine. Deze methode zegt echter nog niets over de eventuele giftigheid van NAhRAs.

Hoofdstuk 4 beschrijft het onderzoek naar de genexpressie in menselijke bloedcellen na het consumeren van spruitjes en grapefruitsap, die beide relatief veel NAhRAs bevatten. Eerst is gekeken naar de genexpressie in uit mensenbloed geïsoleerde en gekweekte cellen (lymfocyten) nadat deze cellen tijdens het kweken waren blootgesteld aan dioxine en NAhRAs. Ditmaal werd een microarray-techniek gebruikt waarbij de expressie van tienduizenden genen kan worden bepaald. Hierbij bleek dat de expressie in deze cellen veel minder gevoelig is voor Ah-receptor agonisten dan in de darmcellen. Ook bleek dat het expressieprofiel van het grapefruitsap extract verschilde van dat van dioxine, terwijl ICZ (uit spruitjes) wel bijna hetzelfde profiel vertoonde. Consumptie van grote hoeveelheden spruitjes en grapefruitsap deed de expressie van een aantal kenmerkende genen voor Ah-receptor activiteit in bloedcellen niet veranderen. Wel was een zeer kleine verhoging van het CALUX-sigitaal in bloed meetbaar na de consumptie van spruitjes. Het lijkt er dus op dat het consumeren van grote hoeveelheden NAhRA bevattende groenten of fruitdrank de Ah-receptor niet veel extra activeert.

In **hoofdstuk 5** wordt een techniek besproken die wat gevoeliger dan de CALUX zou kunnen zijn. Met behulp van een vergelijkbare reportergeren methode, de CAFLUX, werden opnieuw de bloedmonsters doorgemeten die verzameld waren na de interventies met spruitjes en grapefruitsap. Hiermee werd bevestigd dat het gehalte aan via de Ah-receptor actieve stoffen in bloed na het eten van spruitjes iets hoger is dan er voor, en dat dit niet bij het drinken van grapefruitsap het geval is.

Ten slotte is in **hoofdstuk 6** beschreven welke invloed dioxine en NAhRAs kunnen hebben op de DNA-schade die veroorzaakt kan worden door BaP. De genotoxische stof BaP is alomtegenwoordig in o.a. sigarettenrook, uitlaatgassen en aangebrand vlees en kan kanker veroorzaken door aan DNA te binden (DNA adducten) en de normale genexpressie daarmee te ontregelen. De effecten van

dioxine en NAhRAs op BaP-DNA adducten in gekweekte menselijke darmcellen blijken in hoge mate afhankelijk te zijn van de concentraties BaP in die cellen. Bij een lage concentratie BaP in de cellen hebben zowel dioxine als de NAhRA ICZ een remmende invloed op de adductvorming (gunstig), terwijl bij een hoge concentratie BaP er geen effect is. Bij de blootstelling van darmcellen aan BaP en het NAhRA bevattende grapefruitsapextract treden er heel andere effecten op. Bij een lage concentratie BaP verhoogt het grapefruitsap de adductvorming (ongunstig), terwijl bij een hoge BaP concentratie de adductvorming juist sterk wordt verminderd (gunstig). Ook zijn de expressies van een aantal genen bepaald die met dit adductvormings proces te maken kunnen hebben, maar hiermee werd geen correlatie gevonden.

Conclusie

In voeding zijn grote hoeveelheden via de Ah-receptor actieve stoffen aanwezig. Op genexpressieniveau kunnen deze grote gelijkenis vertonen met het giftige dioxine. Bij het eten van relatief grote hoeveelheden NAhRA bevattende voeding is een verhoogde Ah-receptor activiteit in bloed zeer moeilijk waar te nemen. Het effect lijkt dus gering en men hoeft kennelijk niet bang te zijn voor dioxineachtige vergiftigingsverschijnselen. Tevens bevat voeding ook stoffen die door Ah-receptoractivering gevormde eiwitten kunnen remmen. Of de zeer hoge dosis aan zuivere NAhRAs in voedingssupplementen wel dioxineachtige effecten teweeg kan brengen moet nog nader worden onderzocht. Ondertussen blijkt uit de literatuur dat dioxine zelf voor mensen niet zo extreem giftig lijkt te zijn als decennia terug werd verondersteld en in bepaalde modellen, zoals bij de bovengenoemde adductvormingstest, zelfs gezondheidsbevorderende effecten lijkt te kunnen veroorzaken. Op basis van bevindingen beschreven in dit proefschrift en in combinatie met een groeiende hoeveelheid wetenschappelijke literatuur, kan worden vastgesteld dat inname van groente en fruit niet onder alle omstandigheden resulteert in duidelijk gezondheidsbevorderende effecten.