

# Alpha-Linolenic acid metabolism in humans : compartmental modeling dietary modulation and effects on serum lipids

Citation for published version (APA):

Goyens, P. L. L. (2007). *Alpha-Linolenic acid metabolism in humans : compartmental modeling dietary modulation and effects on serum lipids*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20070125pg>

## Document status and date:

Published: 01/01/2007

## DOI:

[10.26481/dis.20070125pg](https://doi.org/10.26481/dis.20070125pg)

## 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](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

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

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Samenvatting

$\alpha$ -Linolenic acid (ALA, C18:3n-3) is a fatty acid of the n-3 fatty family. It is called essential because humans cannot synthesize it *de novo*, despite that it is vital for their health. Once ingested, ALA can be converted into longer and more unsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n-3). EPA and DHA are also known as fish fatty acids, as they are mainly present in fatty fish and fish oil. Over the years, interest in EPA and DHA has increased, because of their postulated beneficial effects on a wide variety of health parameters such as cardiovascular risk. Despite all efforts, consumption of these marine fatty acids remains below dietary recommendations. However, because ALA is the precursor for EPA and DHA synthesis and because it is easily available from plant derived sources, an increased ALA intake might be helpful to increase the EPA and DHA status of the body. To resolve whether dietary ALA is a suitable alternative for the marine fatty acids, it is necessary to have a quantitative understanding of its metabolic pathways. The extent of dietary ALA conversion appears to be very low. However, most studies only allowed a qualitative or semi-quantitative description of ALA conversion. Despite that quantification remains complex, it is possible to quantify the *in vivo* conversion of ALA in humans using stable isotopes and compartmental modeling. Furthermore, the conversion of ALA may depend on the intake of linoleic acid (C18:2n6; LA), which might complicate estimation of dietary ALA conversion even more. ALA and LA share the same converting enzymes. Therefore, conversion of dietary ALA might be increased in three distinct ways: through an increase of ALA intake, via a decrease in LA consumption, or by increasing the ratio in the diet. So far, the outcome of each separate approach has not been quantitatively assessed in humans.

To estimate hepatic *in vivo* conversion of dietary ALA, 29 subjects (14 men and 15 women) followed for 4 weeks a diet providing 7 % of energy from LA and 0.4 % from ALA. On day 19, subjects received a single tracer bolus of 30 mg uniformly labeled [ $^{13}\text{C}$ ]ALA and for the following 8 days 10 mg twice daily. Fasting plasma phospholipid concentrations of  $^{12}\text{C}$ - and  $^{13}\text{C}$ -labeled ALA, EPA, docosapentaenoic acid (DPA; C22:5n-3), and DHA were determined on days 19, 21, 23, 26, 27, and 28. Conversion of ALA into its longer-chain polyunsaturated fatty acids was estimated by compartmental modeling. To this end, a tracer model was developed based on the averaged  $^{13}\text{C}$ -labeled fatty acid data of the participants. A similar tracee model was set up, which contained the averaged  $^{12}\text{C}$ -labeled fatty acid data, the mean daily ALA intake, and the kinetic parameters derived from the tracer model. Both models were solved simultaneously to estimate the incorporation of dietary ALA into plasma phospholipids and its subsequent conversion into its LCPUFAs. It was estimated that 7 % of dietary ALA was incorporated into plasma phospholipids. Nearly all of this ALA pool was converted into EPA and 1 % of the EPA plasma phospholipid pool, which

corresponds to 0.07 % of dietary ALA intake, was converted into DPA and subsequently into DHA. The limited conversion of ALA-derived EPA into DPA might therefore be an obstacle for DHA synthesis.

After these 4 weeks, subjects received for 6 weeks one of the 3 experimental diets to examine whether ALA metabolism is influenced by the intakes of ALA, LA or their ratio. Nine subjects continued to consume the control diet, ten subjects received a low LA diet (3 En% LA, 0.4 En% ALA, ratio = 1:7), and ten subjects a high ALA diet (7 En% LA, 1.1 En% ALA, ratio = 1:7). Ten days before the end of this experimental period, subjects were provided with oral boluses of [U-<sup>13</sup>C]-ALA during 9 days and breath was sampled during the first 9 hours to estimate oxidation of [U-<sup>13</sup>C]ALA. Conversion of ALA was estimated using compartmental modeling of the individual <sup>13</sup>C- and <sup>12</sup>C n-3 fatty acid concentrations in fasting plasma phospholipids obtained during run-in and the experimental periods. We found that the incorporation of ALA into plasma phospholipids increased by 3.6 % in the low LA group and decreased by 8.0 % in the high ALA group. In absolute amounts, it increased by 34.3 mg in the low LA group, but did not change significantly in the High ALA group. Nearly all ALA from the plasma phospholipid pool was converted into EPA. In the 3 groups, conversion of EPA into DPA and DHA hardly changed and was < 0.1 % of dietary ALA. In absolute amounts, synthesis of DHA was unchanged in the low LA group, whereas it increased from 0.7 to 1.9 mg in the high ALA group. The dietary interventions did not change the oxidation of ALA. Our results suggest that the amounts of ALA and LA in the diet - but not their ratio - determine ALA conversion.

Determinants of the *in vivo* metabolism of ALA in humans are poorly understood. We therefore explored whether ALA conversion and oxidation are related to gender, age, basal metabolic rate, body composition, and the proportion of linoleic acid and *trans* fatty acids in plasma phospholipids. The conversion of dietary ALA into EPA was positively associated with age and percentage fat mass, while the conversion of EPA into DHA was negatively associated with the proportion of LA in plasma phospholipids. In our study, we did not find an association between gender or reproductive status with the conversion and oxidation of dietary ALA.

Aside from its role as a precursor for the synthesis of the marine fatty acids, ALA might have beneficial effects on cardiovascular risk markers. A sparse number of studies have suggested that ALA has similar effects on serum lipid levels as its n-6 fatty acid analog LA, but an effect of a change in the ALA:LA ratio cannot be excluded. Furthermore, the effects of ALA, LA and their ratio on lipoprotein subclass distributions are unknown. Finally, we have compared side-by-side the effects of ALA with those of EPA/DHA on cardiovascular risk markers in elderly subjects aged between 60 - 78 y. We found that the ALA to LA ratio did not determine the serum lipid profile. In addition, ALA decreased LDL cholesterol significantly compared to oleic acid and LA, possibly through a decrease in small VLDL particles. In healthy elderly subjects, ALA affected concentrations of LDL cholesterol and apoB more favorably than

EPA/DHA did. Furthermore, our findings suggested, that ALA and its long chain derivatives have comparable effects on markers of blood coagulation, fibrinolysis, and endothelium function.

In conclusion, *in vivo* conversion of dietary ALA in humans is less than 10 %. Conversion depends on the amounts of ALA and LA in the diet, but not on their ratio. However, ALA and LA affect ALA conversion differently, as an increased LA intake increased EPA synthesis, while DHA synthesis increased after an increased ALA intake. ALA and the marine n-3 fatty acids had comparable effects on markers of blood coagulation, fibrinolysis and endothelium function. Except for an unexpected decrease in LDL cholesterol and apoB concentrations, ALA affects serum lipid concentrations and lipoprotein profile comparably to LA in healthy non-hypertriglycerolemic individuals. The serum lipid concentrations and lipoprotein subclass distributions are not affected by the ALA:LA ratio.

$\alpha$ -Linoleenzuur (ALA; C18:3n-3) is een vetzuur dat behoort tot de n-3 vetzuur familie. ALA wordt een essentieel vetzuur genoemd omdat het noodzakelijk is voor de gezondheid terwijl het menselijk lichaam het niet zelf kan produceren. Na opname via de voeding kan ALA worden omgezet in langere en meer onverzadigde vetzuren, zoals eicosapentaenzuur (EPA; C20:5n-3) en docosahexaeenzuur (DHA; C22:6n-3). EPA en DHA staan ook bekend als de zogenaamde visvetzuren, omdat ze voornamelijk aanwezig zijn in vette vis en visolie. De interesse voor EPA en DHA is groot, vanwege hun veronderstelde gunstige effecten op een groot aantal gezondheidsparameters zoals het verlagen van het risico op hart- en vaatziekten. Ondanks alle inspanningen om de consumptie van visvetzuren te verhogen, blijft de consumptie van deze visvetzuren vaak lager dan aanbevolen. Een verhoogde ALA-inname kan mogelijk helpen bij het toenemen van de hoeveelheid EPA en DHA in het lichaam, omdat ALA kan worden gebruikt voor de synthese van EPA en DHA en het gemakkelijk te verkrijgen is uit plantaardige bronnen. Om na te gaan of ALA uit de voeding een geschikt alternatief is voor de consumptie van visvetzuren, is het nodig om te weten hoeveel ALA uiteindelijk wordt omgezet in EPA en DHA. Uit eerdere studies is gebleken dat deze omzetting beperkt is. In de meeste studies echter, is deze omzetting niet gekwantificeerd. Hoewel moeilijk, is het mogelijk om de omzetting van ALA in mensen te kwantificeren met behulp van stabiele isotopen en modellering. Daarbij dient rekening te worden gehouden met het feit dat de omzetting van ALA waarschijnlijk afhankelijk is van de linolzuur-inname (C18:2n6; LA), omdat ALA en LA dezelfde omzettingenzymen delen. Theoretisch kan de conversie van voeding-ALA dan ook op drie manieren worden verhoogd: door een toename in ALA-inname, door een daling in LA-consumptie, of door het verhogen van de ALA:LA-verhouding in de voeding. Deze drie mogelijkheden om de omzetting van ALA te verhogen zijn tot op heden nog niet met elkaar vergeleken.

Om de conversie van ALA door de lever (het belangrijkste orgaan voor de omzetting van ALA) te schatten, volgden 29 personen (14 mannen, 15 vrouwen) gedurende 4 weken een voeding, die 7 energie procent (En%) LA en 0.4 En% ALA bevatte. Op dag 19 kregen de personen 30 mg uniform gelabeld [ $^{13}\text{C}$ ]ALA en gedurende de volgende 8 dagen tweemaal per dag 10 mg. Plasma fosfolipiden concentraties van  $^{12}\text{C}$  en  $^{13}\text{C}$  gelabeld ALA, EPA, DPA (C22:5n-3) en DHA werden bepaald op dag 19, 21, 23, 26, 27, en 28 bij de proefpersonen. De omzetting van ALA in de lange keten onverzadigde vetzuren (EPA, DPA en DHA) werd geschat door modellering. Hiervoor werd een tracer model ontwikkeld, op basis van de gemiddelde  $^{13}\text{C}$  gelabelde vetzuur data van de deelnemers. Er werd een vergelijkbaar tracee model opgesteld dat gebruik maakte van de gemiddelde  $^{12}\text{C}$  gelabelde vetzuur data, de gemiddelde ALA inname en de kinetische parameters uit het tracer model. Beide modellen werden gelijktijdig opgelost om de inbouw van voeding-ALA in de plasma fosfolipiden en de

daaropvolgende conversie in zijn lange keten vetzuren te schatten. Het bleek dat 7 % van het voeding-ALA werd ingebouwd in de fosfolipiden. Dit ALA werd vervolgens grotendeels omgezet in EPA. Slechts 1 % van het EPA werd omgezet in DPA en vervolgens in DHA. Dit komt overeen met 0.07 % van de ALA inname. De beperkte omzetting van het uit ALA verkregen EPA naar DPA, is dus een verklaring voor de zeer lage DHA synthese uit voeding-ALA.

Na deze 4 weken kregen de personen gedurende 6 weken, 1 van de 3 experimentele voedingen om na te gaan of de omzetting van ALA kan worden beïnvloed door de inname van ALA, LA of hun ratio te veranderen. Negen personen bleven de controle voeding consumeren, 10 personen kregen een lage LA-voeding (3 En% LA, 0.4 En% ALA, ratio = 1:7), en 10 personen een hoge ALA-voeding (7 En% LA, 1.1 En% ALA, ratio = 1:7). Tien dagen voor het einde van deze experimentele periode werd wederom met behulp van stabiele isotopen de omzetting van ALA gemeten. Tevens werd gedurende 9 uur uitademingslucht verzameld om de oxidatie van [U-<sup>13</sup>C]ALA te schatten. De conversie van ALA werd geschat door middel van modellering van de individuele <sup>13</sup>C en <sup>12</sup>C n-3 vetzuur concentraties van de nuchtere plasma fosfolipiden. We constateerden dat de inbouw van ALA in de plasma fosfolipiden toenam met 3.6 % in de lage LA-groep, maar afnam met 8 % in de hoge ALA-groep. Als deze percentages echter werden omgerekend naar absolute waarden, dan werd er in de lage LA-groep 0.34 mg meer ALA uit de voeding omgezet in EPA, terwijl de omzetting in de hoge ALA-groep niet veranderde. Het ALA uit de plasma fosfolipiden werd bijna volledig omgezet in EPA. De omzetting van EPA in DPA en daaropvolgend in DHA veranderde nauwelijks in de 3 groepen en was minder dan 0.1 % van het voedings-ALA. In absolute waarden was de synthese van DHA onveranderd in de lage LA-groep, terwijl deze toenam van 0.7 tot 1.9 mg in de hoge ALA-groep. De voedingsinterventies hadden geen effect op de ALA-oxidatie. Deze resultaten laten zien dat de hoeveelheid ALA en LA in de voeding - maar niet hun ratio - de omzetting van ALA bepalen.

Er is weinig bekend over de determinanten van de omzetting en oxidatie van ALA door de mens. Daarom zijn we nagegaan of de ALA conversie en oxidatie zijn gerelateerd aan geslacht, pre- en postmenopauzale status, leeftijd, basaal metabolisme, lichaamssamenstelling, en het percentage linolzuur en trans vetzuren in plasma fosfolipiden. De omzetting van ALA naar EPA was positief gerelateerd aan leeftijd en het percentage vetmassa, terwijl de omzetting van EPA in DHA negatief gerelateerd was aan het percentage LA in plasma fosfolipiden. Er werd geen verband gevonden tussen tussen geslacht of de pre- en postmenopauzale status en de omzetting of oxidatie van ALA uit de voeding.

Behalve voor de vorming van EPA en DHA, kan ALA zelf ook gunstige effecten hebben op cardiovasculaire risico markers. Een beperkt aantal studies hebben gesuggereerd dat ALA vergelijkbare effecten heeft op de serum lipidenwaarden als zijn n-6 vetzuur analoog LA. Echter, een effect van een verandering in de ALA:LA ratio kon

niet worden uitgesloten. Bovendien zijn de effecten van ALA, LA en hun ratio op de grootte van de lipoproteïnen deeltjes onbekend. Tot slot hebben we in een voedingsinterventiestudie van 9 weken, de effecten van ALA vergeleken met die van EPA/DHA op de cardiovasculaire risico markers bij oudere personen tussen 60 - 78 jaar. We vonden dat de ALA:LA ratio het serum lipidenprofiel niet veranderde. Verder verminderde ALA het LDL cholesterol significant in vergelijking met oliezuur en LA. Dit kwam mogelijk door een daling in het aantal kleine VLDL deeltjes. Bij gezonde oudere personen beïnvloedde ALA de LDL-cholesterolconcentraties en apoB gunstig in vergelijking met EPA/DHA. Onze bevindingen suggereerden verder, dat ALA en EPA/DHA vergelijkbare effecten hebben op de markers van bloedstolling, fibrinolyse en vaatwandfunctie.

Op basis van deze bevindingen concluderen wij dat de omzetting van ALA uit de voeding in EPA beperkt is en minder dan 10 % bedraagt. Deze omzetting wordt bepaald door de hoeveelheden ALA en LA in de voeding, maar niet door de ALA:LA verhouding. Een toegenomen LA inname verhoogde de EPA synthese, terwijl de DHA synthese toenam na een verhoogde ALA-inname. Verder hadden in de 9-weekse interventiestudie ALA en de visvetzuren vergelijkbare effecten op markers voor de bloedstolling en fibronolyse en vaatwandfunctie. Behalve een onverwachte daling in LDL-cholesterol en apoB concentraties, zijn de effecten van ALA en LA op de serum lipidenconcentraties en het lipoproteïnenprofiel vergelijkbaar. Een laatste conclusie is dat de effecten op het serum lipoproteïnenprofiel niet worden bepaald door de ALA:LA ratio.