

# The colorectal response to butyrate in health and IBS

## Citation for published version (APA):

Vanhoutvin, S. (2014). *The colorectal response to butyrate in health and IBS*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20141106sv>

## Document status and date:

Published: 01/01/2014

## DOI:

[10.26481/dis.20141106sv](https://doi.org/10.26481/dis.20141106sv)

## 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.

## Samenvatting

## Samenvatting

Korte keten vetzuren worden gevormd tijdens de fermentatie van niet-verteerbare koolhydraten in het colon. Met name het korte keten vetzuur butyraat wordt in verband gebracht met gunstige effecten op darmgezondheid.

Ons Westers dieet bevat onvoldoende voedingsvezels voor het bewerkstelligen van een optimale productie van korte keten vetzuren, teneinde positieve effecten op darmgezondheid te verkrijgen. De lage vezelinname leidt enerzijds tot een verminderde fermentatie van koolhydraten (saccharolytische fermentatie) maar zorgt er ook voor dat er eerder en meer fermentatie van eiwitten (proteolytische fermentatie) plaatsvindt als alternatief voor de gezonder geachte saccharolytische fermentatie. De producten die gevormd worden bij de fermentatie van eiwitten bestaan deels uit toxische stoffen waarvan gedacht wordt dat deze een rol spelen bij het ontstaan van verschillende darmaandoeningen, waaronder colonkanker.

Aangenomen wordt dat een verhoogde productie van butyraat in het colon gunstig is voor darmgezondheid en wellicht zelfs ingezet kan worden als potentiële therapie bij verschillende darmaandoeningen. Tot nu toe is er beperkt bewijs voor substantiële effecten van korte keten vetzuren *in vivo* in mensen. *In vivo* onderzoek naar de effecten van korte keten vetzuren in het colon is tot op heden gehinderd door de relatief moeilijke bereikbaarheid van het colon om substraten toe te dienen en weefsel- en vloeistofmonsters af te nemen. Een betrouwbare en minimaal invasieve toedieningsvorm is nodig om testsubstraten in het colon te brengen zonder de fysiologische omstandigheden te verstoren.

In hoofdstuk 2 van dit proefschrift is een selectie van potentieel haalbare toedieningstechnieken getest in een serie kleine interventiestudies. Het betreft het gebruik van gecoate capsules, een oro-caecale katheter en klyma's.

Het onderzoek met de capsules, met pH gevoelige coating, heeft aangetoond dat de capsules in 85% van de gevallen desintegreren in het terminale ileum of proximale colon. Het gebruik van deze capsules wordt echter beperkt door de beperkte hoeveelheid substraat die zij kunnen bevatten. Voor veel interventiestudies zou een groot aantal capsules nodig zijn om voldoende substraat gericht naar het doelgebied (het proximale colon) te brengen. Door de vastgestelde spreiding in locatie van desintegratie van de capsules betekent dit dat een aanzienlijk deel van het toe te dienen substraat buiten het doelgebied beschikbaar komt, hetgeen onwenselijk is.

De oro-caecale katheter heeft dit nadeel niet en kan een bijna ongelimiteerde hoeveelheid substraat met grote precisie in het colon brengen. Daarbij heeft het gebruik van een katheter het grote voordeel dat niet alleen vloeistof toegediend kan worden maar dat ook het afnemen van darmvloeistof op verschillende locaties mogelijk is. Een groot nadeel van deze techniek is de tijd die nodig is om de katheter via de normale peristaltiek te positioneren en het feit dat het moeilijk is om wanneer eenmaal bereikt, de katheter op de gewenste positie te behouden. De katheter wordt vrij makkelijk verder naar het colon gevoerd gedurende het experiment. Bovendien

ondervinden proefpersonen hinder van de aanwezigheid van de sonde in neus- en keelholte.

Het gebruik van klyisma's geeft de mogelijkheid om voldoende hoeveelheden substraat in het rectum, sigmoïd en colon te brengen. Bovendien wordt het gebruik van klyisma's goed verdragen. Hoewel de peristaltiek de maximale verspreiding van de klysmavloeistof beïnvloedde werd met deze 60ml klyisma's in een onvoorbereide darm het dalende deel van het colon bereikt. Een ander voordeel van het gebruik van klyisma's is dat het gebruik van deze toedieningsmethode toelaat dat vrijwilligers en patiënten de klyisma's zelf thuis over langere tijdsperioden toe kunnen dienen. Hierdoor is het tijdens de uitvoering van langdurige experimenten met het gebruik van klyisma's niet noodzakelijk dat proefpersonen gedurende langere tijd binnen de onderzoeksfaciliteit verblijven.

Vanwege de hoge betrouwbaarheid en het grote gebruiksgemak van deze toedieningsmethode is voor de latere studies beschreven in dit proefschrift gebruik gemaakt van klyisma's voor de toediening van butyraat.

In hoofdstuk 3 zijn de effecten van butyraat, toegediend via klyisma's, op de genexpressie in colon mucosa beschreven. In totaal werd van 501 genen een veranderde transcriptie aangetoond na de behandeling met butyraat. Butyraat beïnvloedt de aansturing van verschillende biologische processen, waaronder met name het transport van vetzuren, beta-oxidatie en de elektronen transportketen, allen betrokken bij het metaboliseren van het toegediende butyraat. Dit wijst op een versnelde opname en metabolisme van butyraat.

In een ontstoken darm worden grote hoeveelheden vrije radicalen gevormd. Deze stoffen zijn zeer reactief en veroorzaken oxidatieve schade aan organische moleculen wanneer de hoeveelheid groter wordt dan de antioxidant capaciteit het weefsel op die plaats. In patiënten met colitis ulcerosa is dit eerder aangetoond<sup>1,2</sup>. Butyraat zorgde voor een toename in de transcriptie van het gen "nuclear factor kappa beta inhibitor alpha (NFkBIA)" dat de activatie van NF-kB en het TNF-*alpha* proces remt en daarmee mogelijk inflammatie en inflammatie-geïnduceerde oxidatieve stress verlaagt. Bovendien werd een aantal genen die een rol spelen bij de omzetting van het antioxidant glutathion gereguleerd. Dit duidt erop dat via de verhoogde glutathion-omzetting de antioxidant capaciteit van het weefsel wordt verhoogd.

Onder invloed van butyraat werd tevens het proces "proteosome degradation" tot expressie gebracht. Dit proces omhelst een mechanisme voor de afbraak van (eventueel door oxidatieve stress) beschadigde eiwitten. De genen in dit proces zijn geassocieerd met oxidatieve stress, apoptose en veroudering. De resultaten van deze *in vivo* interventiestudie ondersteunen eerder beschreven gunstige effecten van butyraat, met name op het gebied van inflammatie, oxidatieve stress en apoptose.

De reeds eerder beschreven effecten van butyraat op het versterken van de integriteit van de darmwand worden onder andere toegeschreven aan het feit dat butyraat een

direct effect zou hebben op het reguleren van tight junction-geassocieerde eiwitten<sup>3,4</sup>. Tight junctions zijn verbindende structuren in de darmwand, die belangrijk zijn voor het in stand houden van een goede barrièrefunctie van de darm tegen het binnendringen van ziekteverwekkende of irriterende stoffen. Een toegenomen doorlaatbaarheid van de darm heeft nadelige gevolgen voor de infiltratie van pathogene bacteriën die het immuunsysteem kunnen activeren en voor lokale ontsteking in de darm kunnen zorgen. Uit eerdere studies weten we dat in ziektes die gepaard gaan met ontsteking zoals colitis ulcerosa en prikkelbare darm syndroom (IBS), de doorlaatbaarheid van de darm voor inerte markers is verhoogd<sup>5,6</sup>. Deze bevindingen ondersteunen het bestaan van een verband tussen een verstoorde barrièrefunctie en mucosale ontsteking. De eerder aangetoonde anti-inflammatoire capaciteit van butyraat<sup>7</sup>, en de veronderstelde relatie tussen doorlaatbaarheid van de darmwand, inflammatie en IBS resulteerden in de studies zoals beschreven in hoofdstukken 4 en 5. In deze studies werden de effecten van een dagelijkse toediening van butyraatklysma's gedurende een week op viscerale perceptie in gezonde vrijwilligers en in IBS patiënten onderzocht.

In een placebo gecontroleerde gerandomiseerde crossover studie in gezonde vrijwilligers induceerden zowel 50mM als 100mM butyraat een significante en concentratie afhankelijke vermindering van de scores voor pijn, aandrang en ongemak tijdens de barostat onderzoeken. Daarnaast verhoogde butyraat de rectale compliantie, hetgeen duidt op een verhoogde relaxatie van de darmwand in respons op de toenemende druk van de barostatballon in het rectum.

In de daaropvolgende studie in IBS patiënten werd alleen de hoogste concentratie van 100mM butyraat getest. Butyraat zorgde in deze patiëntengroep voor een significante verlaging van pijn- en aandrang scores. De interventie had geen effect op de scores voor ongemak en op de rectale compliantie.

De effecten van butyraat op pijn en aandrang scores duiden op een mogelijke rol van butyraat of een voedingsinterventie leidend tot een verhoogde butyraat productie in de behandeling van IBS gerelateerde symptomen. In dit hoofdstuk is ook een mechanistisch onderzoek beschreven waarin de effecten van butyraat op de verhoogde intestinale permeabiliteit, veroorzaakt door het galzuur deoxycholaat, werden onderzocht. In het *ex vivo* model dat hiervoor gebruikt werd zijn weefselmonsters uit het colon blootgesteld aan deoxycholaat, in aan- en afwezigheid van verschillende concentraties butyraat. Deoxycholaat zorgde voor een toename van de mucosale doorlaatbaarheid, gemeten met behulp van de flux van de inerte marker sucralose. Hoewel pre-incubatie met butyraat deze toegenomen permeabiliteit dosis afhankelijk kon voorkomen was dit effect niet significant vanwege de te kleine aantallen en een te grote spreiding in de resultaten. De bevindingen ondersteunen wel eerdere observaties dat butyraat de barrièrefunctie van de darm kan verbeteren<sup>8</sup> en bieden daardoor een nieuw aanknopingspunt voor de behandeling van hypersensitiviteit bij IBS patiënten.

De barostat procedure voor het meten van de viscerale gevoeligheid zoals in deze studies is gebruikt is een algemeen geaccepteerde en wereldwijd gebruikte techniek. Toch is er nog steeds gebrek aan consensus over de opbouw van het protocol en de presentatie van de uitkomstmaten waardoor de vergelijking tussen verschillende onderzoeken lastig is. In hoofdstuk 6 wordt een nieuw voorstel voor de opzet van barostat onderzoeken gepresenteerd, waarin het bestaande protocol wordt verkort en vereenvoudigd. Hierdoor is het barostat-protocol minder gevoelig voor fouten en variaties tijdens de uitvoering van het onderzoek.

Toekomstig onderzoek zou zich moeten focussen op de ontwikkeling van voedingssupplementen die al beschikbaar zijn voor het grote publiek en in staat zijn om de concentratie butyraat in het colon te verhogen. Het gebruik van een geoptimaliseerd pre- of probioticum, mogelijk gecombineerd met het gebruik van de techniek voor het veresteren van butyraatmoleculen, heeft niet alleen het voordeel dat het relatief goedkoop op grote schaal geproduceerd kan worden, maar ook dat het een extra verhoging van de butyraatconcentratie in het colon kan bewerkstelligen zonder bij inname met de penetrante geur van vrij butyraat te worden geconfronteerd.

Daarnaast zou de effectiviteit van alternatieve behandelmethoden met behulp van genoemde dieetinterventies die leiden tot een toename in de butyraat concentratie in het colon voor verschillende patientengroepen met een gastrointestinale of systemische ziekte moeten worden onderzocht.