

# The nutritional anti-inflammatory reflex; from rodents to man

Citation for published version (APA):

Lubbers, T. (2011). *The nutritional anti-inflammatory reflex; from rodents to man*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20111014tl>

## Document status and date:

Published: 01/01/2011

## DOI:

[10.26481/dis.20111014tl](https://doi.org/10.26481/dis.20111014tl)

## 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.

## Nederlandse samenvatting

Het immuunsysteem is een complex mechanisme, dat bestaat uit een aangeboren en een verworven deel. Beide delen werken op ingenieuze wijze samen om het binnendringen van virussen en bacteriën in het lichaam tegen te gaan en binnen gedrongen pathogenen te verwijderen. Tevens ruimen zij beschadigde weefsels op, zodat er een milieu voor weefselherstel gecreëerd wordt. Recent is ontdekt dat het immuunsysteem onder controle van het zenuwstelsel staat.

Een goed functionerende afweerrespons is essentieel voor overleving. Echter, een ontregelde ontstekingsrespons kan de overleving juist negatief beïnvloeden. Een dergelijke reactie kan namelijk weefselschade, orgaanfalen en uiteindelijk de dood tot gevolg hebben. In een gecontroleerde afweerreactie wordt een pro-inflammatoire respons gelijktijdig met een anti-inflammatoire respons geactiveerd. In de vroege fase van een afweerreactie heeft de pro-inflammatoire respons de overhand, terwijl de anti-inflammatoire respons later de overhand krijgt. In het geval van een ontregelde afweerreactie wordt de vroege fase juist gekenmerkt door hyperinflammatie en de late fase door immuunsuppressie. Een dergelijk ontregelde afweerreactie, welke vaak optreedt bij chirurgische, trauma en intensive care patiënten, resulteert in een hoge morbiditeit en mortaliteit. Recente ontwikkelingen in de intensive care hebben ertoe geleid dat de mortaliteit in de vroege fase de laatste jaren sterk is afgenomen. De mortaliteit in de late, immuunsuppressieve, fase is echter onveranderd hoog gebleven. De meeste patiënten overlijden aan opportunistische infecties in deze fase, omdat in deze situatie de afweerreactie erg lastig te beïnvloeden is en de huidige ondersteunende interventies ontoereikend zijn. In de experimentele setting zijn veelbelovende resultaten behaald om de overleving ten tijde van een ontregelde afweerreactie te verbeteren. Deze interventies, welke veelal gericht waren op het selectief blokkeren van pro-inflammatoire mediators, hebben echter tot dusver nog geen positief effect gehad in de klinische setting.

In de afgelopen jaren heeft onze groep in proefdieren laten zien dat het enteraal toedienen van vetrijke voeding de systemische inflammatie en het optreden van weefselschade remt via activatie van het autonome zenuwstelsel. In het huidige proefschrift worden de mechanismen, die verantwoordelijk zijn voor de activatie van het anti-inflammatoire mechanisme door voeding onderzocht. Hiertoe werd in proefdiermodellen voor hemorrhagische shock, postoperatieve ileus en endotoxemie het ontstekingsremmende mechanisme (**eerste doel**) en de therapeutische breedte van enterale toediening van vetrijke voeding onderzocht (**tweede doel**). Vervolgens werden deze experimentele bevindingen vertaald naar de humane situatie, waarin we de immuunmodulerende effecten van een enterale vet- en eiwitverrijkte voeding in een humaan endotoxine model hebben bestudeerd (**derde doel**).

In het eerste deel van het proefschrift laten we zien dat enterale toediening van vetrijke voeding de ontstekingsreactie remt via cholecystokinine (CCK)-CCK-1 receptor gemedieerde activatie van de afferente vezels van de nervus vagus (**Hoofdstuk 2.1**). Hiertoe werden de afferente vezels van de nervus vagus in ratten kapot gemaakt middels het stofje capsaïcine. Op de zenuwuiteinden van deze vezels zijn CCK-1 receptoren gelokaliseerd. Toediening van vetrijke voeding in deze ratten bleek de ontstekingsrespons niet meer te kunnen remmen en weefselschade kon niet voorkomen worden. Anderzijds bootste toediening van gepegyleerd CCK9, een stof die selectief perifere CCK-1 receptoren activeert, in gevaste ratten juist de beschermende effecten van vetrijke voeding na. Samenvattend onthullen de experimenten in **hoofdstuk 2.1** een voorheen onbekende darm-hersen-immuun as, welke geactiveerd wordt door luminale nutriënten.

**Hoofdstuk 2.2** gaat dieper in op de intestinale processen, die leiden tot activatie van het nutritionele anti-inflammatoire mechanisme. Hierbij laten we zien dat chylomicron formatie een belangrijke rol speelt. De rol van chylomicron formatie is getest door de formatie ervan te remmen middels toevoeging van Pluronic L-81 aan de vetrijke voeding. Deze toevoeging voorkwam activatie van mesenteriale afferente zenuwen en verhinderde de ontstekingsremmende werking van vetrijke voeding ten tijde van hemorrhagische shock in ratten en endotoxemie in muizen.

Naast CCK zijn er ook andere darmhormonen, zoals leptine, glucagon-like peptide-1 (GLP-1) en peptide YY (PYY), die in staat zijn om vagale afferenten te activeren na voedselinname. Onze data laten

zien dat het blokkeren van de GLP-1 receptoren, maar niet van PYY of leptine de ontstekingsremmende effecten van vetrijke voeding gedeeltelijk remmen. Deze resultaten impliceren dat afgifte van GLP-1 een co-stimulatorische rol in de anti-inflammatoire reflex speelt. Bij de ontwikkeling van een nutritionele interventie in de mens moet er dan ook aan gedacht worden dat niet alleen de afgifte van CCK, maar ook de afgifte van GLP-1 gestimuleerd wordt.

Een interessante bevinding van deze studie was dat in leptine-deficiënte muizen toediening van een standaard dosis vetrijke voeding niet in staat was om de endotoxine-geïnduceerde ontstekingsreactie en darmschade te remmen. Echter, het verhogen van de toegediende dosis resulteerde in een effectieve remming van zowel de ontsteking als de darmschade in deze dieren. Deze gegevens laten zien dat leptine niet direct in het mechanisme betrokken is, maar impliceren mogelijk dat de nervus vagus in Ob/Ob muizen een hogere stimulatie drempel heeft. Deze hogere stimulatie drempel zou veroorzaakt kunnen worden door overvoeding, een bekend fenomeen in Ob/Ob muizen, waarvan bekend is dat het resulteert in een gedesensitiseerde vagus. Toekomstige studies zullen het effect van een langdurige vetinname op de activatie van de vagovagale anti-inflammatoire reflex moeten uitwijzen.

In het **tweede deel** van het proefschrift werd de therapeutische breedte van het nutritionele anti-inflammatoire mechanisme onderzocht. In dit gedeelte bestudeerden we de ontstekingsremmende werking van vetrijke voeding in twee verschillende proefdiermodellen, die overeenkomsten vertonen met klinisch relevante ziektebeelden. In **hoofdstuk 3.1** werd de vetrijke voeding toegediend na hemorrhagische shock om de complexe immunologische situatie van trauma patiënten na te bootsen. Bij dergelijke patiënten kan een behandeling pas na het trauma gestart worden. Onze studie heeft laten zien dat het toedienen van een vetrijke voeding na een verbloedingsshock de ontstane ontstekingsreactie en darmschade reduceert middels activatie van CCK-receptoren. De bevindingen van hoofdstuk 3.1 geven aan dat stimulatie van de CCK-gemedieerde vagovagale reflex met voeding in een trauma setting een nieuwe interventie kan zijn om de reeds geactiveerde ontstekingsrespons te remmen en daarmee geassocieerde weefselschade te voorkomen.

De werkzaamheid van vetrijke voeding werd ook getest in een setting van postoperatieve ileus, een veelvoorkomende chirurgische complicatie. Gedurende de laatste jaren is er veel onderzoek gedaan naar ontstekingsremmende middelen om postoperatieve ileus en de daarmee gepaard gaande morbiditeit en mortaliteit te verminderen (zie ook **hoofdstuk 3.2** voor een review). In **hoofdstuk 3.3** wordt aangetoond dat toediening van vetrijke voeding de activatie van mestcellen en residente macrofagen remt. Tevens voorkomt de voeding het binnendringen van neutrofielen in de spierlagen van de darmen. De toediening van voeding remde niet alleen de ontstekingsreactie in de darm, maar zorgde er ook voor dat de motiliteit van de darm gestimuleerd werd. Deze positieve resultaten werden teniet gedaan door gelijktijdige toediening van een CCK-receptor antagonist. Samenvattend laten deze data zien dat vetrijke voeding via een CCK-receptor gemedieerd mechanisme postoperatieve ileus remt.

Het **derde en laatste deel** van dit proefschrift is erop gericht om de vertaalslag van dierexperimenteel onderzoek naar de mens te maken. Hiertoe werd de ontstekingsremmende werking van specifiek verrijkte voeding in een humaan model van experimentele endotoxemie onderzocht. Aangezien endotoxemie tot een ander type ontstekingsrespons leidt dan een verbloedingsshock of postoperatieve ileus, werd eerst in een muis endotoxine model onderzocht of enterale vetrijke voeding ontsteking remt en orgaanschade kan verminderen. In **hoofdstuk 4.1** wordt duidelijk dat vetrijke voeding in endotoxemische muizen systemische inflammatie remt op een dosis-afhankelijke manier. Tevens laat dit hoofdstuk zien dat het oprekken van de maag door voeding, wat zorgt voor activatie van afferente vezels van de nervus vagus, niet betrokken is bij het geobserveerde ontstekingsremmende effect. Deze resultaten onderstrepen onze eerdere bevindingen dat stimulatie van de ontstekingsremmende vagovagale reflex voedingsgemedieerd is. Ook in dit model is de werking van vetrijke voeding aanzienlijk krachtiger dan de werking van vetarme voeding. Toediening van vetrijke voeding remde tegelijkertijd de endotoxine-geïnduceerde schade aan darmepitheel en de ontstekingsreactie in de lever en milt. Met deze studie werd aangetoond dat de CCK-gemedieerde

anti-inflammatoire reflex een belangrijke immuunmodulerende werking heeft tijdens een ontwikkelende systemische inflammatoire respons. Tevens impliceren deze resultaten dat er een positief effect te verwachten is van enterale voeding in een humane endotoxine studie.

In **hoofdstuk 4.2** wordt een voedingsstudie beschreven die tot doel had om een optimale voedingscompositie te identificeren voor het gebruik als anti-inflammatoire interventie in een humane studie. Omdat lokale intestinale afgifte van CCK nog niet meetbaar is in de mens, werd de CCK plasma concentratie gebruikt om een inschatting te maken van de mate waarin een specifieke voeding de anti-inflammatoire reflex stimuleert. De inname van een commercieel beschikbare hoog-vet voeding (Diasip<sup>®</sup>) en een laag-vet voeding (Respifor<sup>®</sup>) resulteerde in een vergelijkbare plasma CCK respons. Deze bevinding is opvallend aangezien de macronutriënten samenstelling van beide voedingen vergelijkbaar is met de eerder geteste proefdiervoedingen, waarbij de vetrijke voeding een significant sterker anti-inflammatoir effect liet zien dan vet-arme voeding. Deze humane studie toonde verder aan dat een experimentele voeding, specifiek samengesteld om zoveel mogelijk CCK afgifte te bewerkstelligen, een vergelijkbare CCK plasma respons liet zien ten opzichte van een standaard sondevoeding. Concluderend kan gezegd worden dat het systemisch meten van CCK geen juiste benadering is om een voeding te selecteren voor een humane anti-inflammatoire interventie. Hieraan dient toegevoegd te worden dat plasma CCK waarden geen accurate weerspiegeling zijn van de lokale CCK waarden in de darm en rondom de afferente vagus. Tevens spelen er mogelijk meerdere darmhormonen een rol in de activatie van de vagovagale reflex, zoals recent aangetoond werd voor GLP-1 (**hoofdstuk 2.1**).

Het toedienen van een bolus voeding via de maag, zoals tijdens deze studie resulteerde in een duidelijke piek in de plasma CCK waarden gevolgd door een graduele afname. Deze karakteristieke respons kan worden toegeschreven aan de maaglediging. Om een continue en stabiele afgifte van CCK te krijgen zou derhalve continue en postpylorisch gevoed moeten worden. Samenvattend werd op basis van deze studie gekozen voor een lipide- en eiwit-verrijkte voeding, die op theoretische gronden de meeste CCK afgifte in de mens geeft. Daarnaast is gekozen voor een isocalorische laag-lipide en –eiwit als controle voeding.

**Hoofdstuk 4.3** laat zien dat het continue postpylorisch toedienen van een lipide- en eiwitverrijkte voeding aan proefpersonen de endotoxine-geïnduceerde plasma waarden van TNF-alfa, IL-6 en IL-1 receptor antagonist verlaagd ten opzichte van de gevaste groep en de groep, die de controle voeding kreeg. Daarnaast toont deze studie dat de compensatoire afgifte van IL-10 zeer sterk gestimuleerd werd door de lipide- en eiwit-verrijkte voeding in vergelijking met de gevaste groep en de groep met de controle voeding. Ook was de darmschade, gemeten als plasma waarden intestinal fatty acid binding protein, lager in de lipide- en eiwit-verrijkte voeding groep. Deze data geven impliceren dat het enteraal toedienen van een lipide- en eiwit-verrijkte voeding ten tijde van endotoxemie in de mens een duidelijke verandering veroorzaakt in de ontstekingsrespons. Deze verandering wordt gekenmerkt door een vermindering van de pro-inflammatoire reactie, een bevordering van de anti-inflammatoire reactie en een remming van darmschade tot gevolg. Concluderend kan gesteld worden dat het enteraal toedienen van specifiek verrijkte voeding een veelbelovende interventie is om de ontstekingsreactie in de vroege fase van systemische inflammatie in de mens te beïnvloeden.