



De microflora in de darm heeft een nauwe relatie met het immuunsysteem van de gastheer. Genomics technieken en studies met kiemvrije dieren geven inzicht in deze relatie.

Diervoeding

[Carolien Makkink]

Microflora en immuu

Schothorst Feed Research organiseerde onlangs een tweedaags symposium ter gelegenheid van 75 jaar onderzoek en ontwikkeling op het gebied van diervoeding. Sprekers uit binnen- en buitenland belichtten recent onderzoek op diverse terreinen in de diervoeding en – gezondheid.

De hygiënische omstandigheden in de eerste periode na de geboorte hebben invloed op de ontwikkeling van de darmflora en het immuunsysteem.

Ontwikkeling

De bacteriën in de darm sturen de ontwikkeling van het mucosale afweersysteem in de darm. Legt professor Denise Kelly van het Rowett Institute in Aberdeen uit. Miljoenen jaren van evolutie en onderlinge adaptatie van gastheer en flora hebben een subtiel samenwerkingsverband gecreëerd. Het aantal bacteriecellen in de darm is tien keer zo

groot als het aantal lichaamscellen van de gastheer; het aantal microbiële genen is zelfs 100 keer het aantal gastheergenen in het lichaam. Een goede ontwikkeling van het immuunsysteem op jonge leeftijd hangt af van de microflora in de darm. Een gezond immuunsysteem moet tolerant zijn ten opzichte van eigen lichaamscomponenten en bepaalde omgevingsantigenen uit voedsel en commensale bacteriën, maar adequaat optreden tegen infectieuze, pathogene, allergene en toxische aanvallers. De darmflora heeft een cruciale rol bij zo'n gezonde ontwikkeling. Bij de geboorte is het maagdarmkanaal steriel, maar al snel koloniseren de eerste bacteriën. „Bij biggen eerst *Clostridium perfringens*, al

snel gevolgd door streptococci en lactobacillen. Wat later koloniseren obligaat anaerobe bacteriën en commensale *E. coli*'s het maagdarmkanaal. De volwassen darmflora wordt gedomineerd door Bacteroidetes, Firmicutes en Actinobacteriën”, vertelt Kelly. De bacteriën in de darm voeden het immuunsysteem op tot een gebalanceerd, harmonieus systeem. Verschillen in blootstelling aan bacteriën in de jeugd hebben invloed op het functioneren van het immuunsysteem in het verdere leven.

Communicatie

Microben in de darm hebben contact met cellen van het aangeboren immuunsysteem, zoals macrofagen en dendritische cellen. De dendritische cellen bevatten receptoren (onder meer Toll-like receptors, TLR's), die verschillende structuren van bacteriën (microbial associated molecular patterns, MAMP's, zoals LPS) herkennen. De enterocyten produceren chemokinen (onder andere diverse interleukines), die dendritische cellen, macrofagen en neutrofielen activeren. Er zijn inmiddels verschillende TLR's geïdentificeerd, die reageren op verschillende MAMP's (zie tabel 1). Deze communicatie is cruciaal voor de regulatie van het adaptieve immuunsysteem en het functioneren van B- en T-cellen. De dendritische cellen presenteren antigenen aan naïeve T-cellen, die zich vervolgens in een bepaalde richting ontwikkelen. Hierbij dient een balans te ontstaan tussen actieve immuniteit (via Th1, Th2 en Th17) en tolerantie (via Th3 en Threg). Een te sterke ontwikkeling in de richting van Th1 kan leiden tot darmontstekingen (inflammatory bowel dise-





Symposium ter gelegenheid 75 jaar Schothorst Feed Research

uunsysteem

ase), een te sterke Th2-respons leidt tot allergieën en een overmatige Th17-respons wordt geassocieerd met auto-immuunziekte.

Gebalanceerde commensale microbiota (Lactobacillen) bevorderen de immunologische homeostase in de darm en beperken overmatige ontstekingsreacties in de darm. Dit betekent dat een evenwichtige ontwikkeling van het immuunsysteem in de jeugd van groot belang is voor de gezondheid in het verdere leven van mens en dier. Overigens loopt de communicatie twee kanten op: sommige bacteriën hebben receptoren voor stresshormonen van de gastheer. Dit houdt in dat potentieel pathogene bacteriën in de darm kunnen inspelen op een verzwakte weerstand van de gastheer.

Genomics

Genomics-technieken maken het mogelijk om bacteriefamilies te identificeren die een gezonde ontwikkeling van het immuunsysteem bevorderen. Analyse van bacterieel 16S DGGE en rRNA van dunnedarmweefsel geeft inzicht in de flora die in nauw contact staat met de darmwand. Daarnaast is het mogelijk om de genexpressie in het darmepitheel vast te stellen met behulp van microarrays.

Kelly heeft dergelijk onderzoek uitgevoerd om de hygiënehypothese te testen bij varkens. De hygiënehypothese stelt dat opgroeien in een 'te schone omgeving' leidt tot allergieën (astma, eczeem) door een te sterke sturing in de richting van een Th2-respons. Kelly vergeleek twee groepen biggen: de 'vuile' biggen groeiden buiten op, bij de zeug. De 'schone' biggen werden direct na de

geboorte in de schone stal overgebracht naar een schone omgeving, waar ze individueel werden gehuisvest en behandeld met antibiotica.

Het bleek dat de verschillende opfokomstandigheden leidden tot fundamenteel verschillende bacteriepopulaties in de darm. De 'schone' biggen hadden een meer diverse flora, met meer potentieel pathogene bacteriën. „Vooraf op vijf dagen leeftijd bleek bovendien een enorm verschil in genexpressie in het darmepitheel tussen 'schone' en 'vuile' biggen.” Dit betrof voor een groot deel immuungerelateerde genen. Een hoge hygiënestatus bleek vooral de type I IFN pathway (virusinfectierespons) te beïnvloeden. Ook de antigeenpresentatie door het major histocompatibiliteitscomplex (MHC) en de biosynthese van cholesterol en lipiden werd beïnvloed door de opfokcondities. „Het is duidelijk dat de hygiënische omstandigheden in de eerste periode na de geboorte invloed hebben op de ontwikkeling van de darmflora en het immuunsysteem.” Kelly denkt dat bij biggen vooral de periode vlak voor en rond spenen cruciaal is voor de 'imprinting' van het immuunsysteem.

Kiemvrije dieren

Andrew Kessel van de Universiteit van Saskatchewan (VS) vertelt wat kiemvrije dieren ons kunnen leren over de relatie tussen darmflora en gezondheid. „Kiemvrije dieren worden na de geboorte via keizersnede, steriel gehouden. Vervolgens kunnen ze in contact worden gebracht met specifieke bacteriën, bijvoorbeeld Lactobacillus of commensale E.coli. Dergelijke diermodellen geven inzicht in de effecten van bacteriën in



Bruno Goddeeris:
„Voeding speelt een belangrijke rol bij de immuunmodulatie.”



„De bacteriën in de darm sturen de ontwikkeling van het mucosale afweersysteem in de darm”, legt professor Denise Kelly.

de darm op de fysiologie van de gastheer.” Het blijkt bijvoorbeeld dat bij kiemvrije (GF) biggen en biggen die alleen Lactobacillus fermentum (LF) of E. coli (EC) in hun darmen hebben, de darmvilli aan het einde van de dunne darm langer zijn en de crypten minder diep. De GF en LF biggen laten ook een minder sterke turn-over van de enterocyten zien, waardoor de darmwand meer volwassen enterocyten bevat en meer aminopeptidaseactiviteit vertoont. De aanwezigheid van andere bacteriën

>>





>> Microflora en immuunsysteem

in de darm (EC en CV biggen) remt de activiteit van aminopeptidase. De EC en CV biggen vertonen een sterkere expressie van pro-inflammatoire cytokinen in de enterocyten aan het einde van de dunne darm dan de GF en LF biggen. Vergelijking van kiemvrije dieren en gnotobionten (dieren die slechts één specifieke bacteriesoort in hun darm hebben) met conventionele dieren geeft inzicht in de effecten van de (samenstelling van de) darmflora op de ontwikkeling van de darmwand, het immuunsysteem en de genexpressie van de gastheer. „Het verhelderen van deze mechanismen kan bijdragen aan de ontwikke-

ling van maatregelen ter verbetering van gezondheid en productie”, aldus Kessel.

Immuunmodulatie

Voercomponenten kunnen een direct antimicrobieel effect hebben in de darm. Middenlangketenige vetzuren (C8, C10, C12) zijn actief tegen *E. coli* (C8 en C10), *Salmonella* (C8) en *Clostridium* (C10 en C12). „Daarnaast speelt de voeding een rol bij de immuunmodulatie”, legt Bruno Goddeeris van de Universiteiten van Leuven en Gent in België uit. Voercomponenten kunnen de respons

sturen in de richting van Th1 of Th2, via de TLR's. Een verhoging van de ratio omega-3- : omega-6-vetzuren in de voeding stuurt naar Th2-respons (anti-inflammatoir). De omega-3-vetzuren bevorderen de vorming van leukotriënen type 5 en prostaglandinen type 3. De vitaminen A en D hebben eenzelfde effect.

Beta-glucanen sturen in de richting van een Th1-respons, via pro-inflammatoire cytokines. „Dit verklaart waarom beta-glucanen in praktijksituaties met hogere infectiedruk meestal positieve effecten op diergezondheid en productie laten zien, terwijl in onderzoek onder relatief 'schonere' omstandigheden meetbare effecten vaak uitblijven”, legt Goddeeris uit. Hij benadrukt dat een optimale voerdosering beta-glucanen in de stal en niet in het lab moet worden vastgesteld.

Voerbepijking leidt tot een toename van glucocorticoiden (Th2-respons). Een Th2-respons verhoogt de synthese van immuunglobulinen in reactie op schapen rode bloedcellen (SRBC) en weerspiegelt een betere immunologische bescherming.

Voercomponenten communiceren dus met het aangeboren immuunsysteem en moduleren zo de immuunrespons. Middels voeding kan de respons worden gestuurd naar een meer inflammatoire (ontsteking) of minder inflammatoire (tolerante) reactie, afhankelijk van het type cytokinen dat wordt gestimuleerd. „Het is wel lastig om in de praktijk goed om te gaan met deze sturingsmogelijkheden”, benadrukt Goddeeris. „De balans is cruciaal. Een te sterke Th1-respons kost te veel in termen van energie en nutriënten, een te sterke Th2-respons leidt tot inadequate reactie op bedreigingen.”

Nauwe relatie

Er is steeds meer bekend over de nauwe relatie tussen de darmflora en het immuunsysteem van de gastheer. Nieuwe onderzoekstechnieken (genomics) helpen om de sturingsmogelijkheden via de voeding op een optimale ontwikkeling van het immuunsysteem, en daarmee een goede diergezondheid en productie te verkennen en te benutten, concluderen de sprekers op het SFR-symposium. ■

Tabel 1. Communicatie tussen darmflora en -fauna (ligands) en darmwand(receptoren).

Receptorfamilie	Receptor	Ligand
TLR (bacteriën, virussen, protozoa, schimmels)		
* Nucleic acid ligands (endosomen)	TLR3 TLR7 TLR8 TLR9	dsRNA ssRNA ssRNA CpG DNA
* Lipid ligands (celmembraan)	TLR1/TLR2 TLR2/TLR10 TLR6/TLR2 TLR4/CD14/MD2	triacyl-lipopeptiden diacyl-lipopeptiden diacyl-lipopeptiden triacyl-lipopeptiden
* Protein ligands (celmembraan)	TLR5 IL-1R	flagelline IL1, IL18
NLR (bacteriën)		
* Sugar ligands (cytosol)	NOD-1 NOD-2 Nalp1	peptidoglycanen (DAP) peptidoglycanen (MDP) peptidoglycanen (MDP)
* Protein ligands (cytosol)	Ipaf Naip Nalp1	flagelline flagelline anthrax lethal toxin
* Nucleic acid ligands (cytosol)	Nalp3	RNA
RLR (virussen)		
* Nucleic acid ligands (cytosol)	RIG-I MDA5	dsRNA en ssRNA dsRNA
CLR (schimmels en gisten)		
* Sugar ligands (celmembraan)	Dectin-1	beta-glucanen (zymosan)

