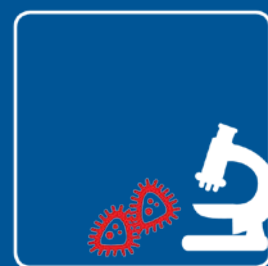


A Nutrigenomic Approach in the Elucidation of Basic Molecular Mechanisms for the Action of Probiotic Bacteria - An NMR-Metabolomic Study of Biofluids and Tissues



Slutrapport til Mejeribrugets ForskningsFond

Projekttitle

A Nutrigenomic Approach in the Elucidation of Basic Molecular Mechanisms for the Action of Probiotic Bacteria - An NMR-Metabolomic Study of Biofluids and Tissues.

Projektperiode

1. Februar 2007 til 30. Juni 2010

Projektleder

Seniorforsker Hanne C. Bertram
Institut for Fødevarekvalitet, DJF
Forskningscenter Årslev
Aarhus Universitet (AU)
Kirstinebjergvej 10, 5792 Årslev
Tlf. 8999 3344
E-mail: hannec.bertram@agrsci.dk

Projektdeltagere

Ph.d.- stud. Simon Metz Mariendal Pedersen, Inst. for Fødevarekvalitet/Kemisk Institut/iNANO, AU, Tlf. 8999 1257, e-mail: simon.pedersen@agrsci.dk

Prof. Niels Chr. Nielsen, Kemisk Institut/iNANO, AU, Tlf. 8942 3841, e-mail: ncn@chem.au.dk

Lektor Anders Malmendal, Kemisk Institut/iNANO, AU, Tlf. 8942 3866, e-mail: anders@chem.au.dk

Prof. Sven Petterson, Dept. of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institute, Tlf. +46 852486686, e-mail: sven.petterson@ki.se

Dansk sammendrag

Den markant stigende fokus på fødevarer suppleret med probiotiske bakterier bunder i en øget mængde offentliggjort data, der underbygger de positive effekter ved indtagelse af probiotika. Ved at benytte en spektroskopisk analysemetode, kernemagnetisk resonans (NMR) samt gaskromatografi massespektrometri (GC-MS) koblet med algoritmebaseret databehandling, multivariat dataanalyse, tilsammen kaldet metabonomics, har vi undersøgt hvorledes indtagelse af probiotika påvirker hovedsageligt blodserumstofs-kifteprodukter – såkaldte metabolitter – hos grupper af mus og mennesker. Projektet har været opdelt i følgende: i) indflydelse af probiotika på patienter der lider af irritable tarmsyndrom (IBS), ii) påvirkning af enkelte probiotikastammer og den måde, de indtages på i en tarminflammatorisk musemodel og iii) indvirkning af probiotika på overvægtige mus og mennesker.

Gennem et 8-uger langt probiotika-interventionsstudie med IBS-patienter har vi påvist, at både det probiotikasupplerede, fermenterede yoghurtprodukt samt det syrnede kontrolmælkeprodukt påvirkede mængden af laktat og en række andre metabolitter i blodet hos patienterne. Dette stemte godt overens med en rapport fra samme forsøg, der viste symptomreduktion for en undergruppe af begge patientgrupper. Disse resultater blev ydermere konfirmeret af analyser foretaget med GC/MS.

I en tarm inflammatorisk musemodel fandt vi, at to probiotiske stammer, *Lactobacillus paracasei* F19 og *Bifidobacterium lactis* Bb12, havde meget sammenlignelige effekter på metabolitprofilen af blodserum. Effekten viste sig ydermere at være afhængig af måden hvorpå tildeling af probiotika foregik. Mest markant fandt vi en stigning i blodsukker og glycerophosphocholin sammen med et fald i fedt- og valinniveauet.

I et større forsøg med overvægtige personer og mus givet probiotika i forskellig form viste vore analyser, at *Lactobacillus paracasei* F19 givet på kapselform til overvægtige personer påvirkede lipidniveauet i blodet. Dette kunne dog ikke sammenkobles med et signifikant fald i vægt. Hos musene blev der desværre brugt en stamme, der ikke responderer på ekstra fedt i foderet. Vi fandt dog en ændring i blod- og levermetabolitprofilen afhængig af det fede foder. Det lykkedes os ikke at påvise en indflydelse af de probiotiske bakterier i musemodellen.

For at konkludere har vore resultater vist, at indtag af probiotiske bakterier kan influere på blodmetabolitprofilen. De meget små ændringer overskygges dog af påvirkningen fra andre faktorer i forsøgene. Specielt den opløsning, bakterierne gives i, viser sig at have en indflydelse i de systemer, vi har undersøgt. Det viser sig dermed, at for at kunne dechiffrere probiotiske bakteriers påvirkning af et så komplekst system som den totale metabolitprofil i en værtsorganisme kræves, at den vektor, de probiotiske bakterier gives i, skal have ekstra fokus. Vores resultater underbygger ydermere det enorme potentiale, der ligger i NMR-baseret metabonomics som analysemetode af diæt-interventionsstudier og probiotikaforskning.

English Summary

The increased focus on foods supplemented with probiotic bacteria is based on an increased body of evidence showing that consumption of probiotics has beneficial effects. By primarily using a spectroscopic technique, nuclear magnetic resonance (NMR) and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) coupled with an algorithm based data investigative method, multivariate data analysis, together termed metabonomics, we have investigated how probiotics affects primarily blood serum metabolites in groups of humans and mice after consumption of probiotic-containing products. The project has been divided into three parts; i) influence of probiotics on patients suffering from Irritable Bowel Syndrome (IBS), ii) influence of individual probiotic strains and their delivering methods on a bowel inflammatory mouse model, and finally, iii) probiotic influence on obesity in humans and mice.

Through an 8-week probiotic diet intervention study in IBS patients we have shown that both the probiotic-supplemented fermented yoghurt product and the acidified control product influenced the level of lactate and several other metabolites, in the blood of the patients. This was in good agreement with a report from the same study showing symptom reduction for a subgroup in both treatment groups. These results were furthermore confirmed by analyses performed by GC/MS.

In a bowel inflammatory mouse model we found that the two probiotic strains, *Lactobacillus paracasei* F19 and *Bifidobacterium lactis* Bb12, had similar effects on the blood serum metabolite profile. We furthermore found that the effect of the strains was dependent on the method of delivery. Most significantly we observed an increase in blood glucose and glycerophosphocholine concomitantly with a reduction of the lipid and valine levels.

In a large study with obese people and mice administered probiotics in different vectors our analyses showed that *Lactobacillus paracasei* F19 given in capsule form to obese people affects the blood lipid levels. We were not able to link this to a significant weight reduction. Unfortunately a mouse breed not responding with a weight increase due to additional fat in the feed was employed. Nonetheless, a change in the blood and hepatic metabolite profile was found as an effect of the additional fat in the feed. We did not manage to show an effect of probiotic administration in the mouse model.

In conclusion, our results have shown that intake of probiotic bacteria may influence the blood serum metabolite profile. However, the minute changes are overshadowed by the influence of other factors in the studies. Especially the vector used to administer probiotics in had an influence on the systems investigated. Thus, to decipher probiotic influence in such a complex system as the total blood serum metabolite profile of a host organism, a special notice to the vector for probiotic delivery is pivotal. Our results furthermore emphasize the enormous potential in NMR based metabonomics as an analytical tool for investigating diet intervention studies and probiotic research.

Baggrund

Fermenterede mejeriprodukter suppleret med probiotiske bakterier har udviklet sig til en af de mest succesfulde kategorier af funktionelle fødevarer. Mere end 100 millioner kg produkt sælges årligt i Europa [1], hvilket anslås til at have en værdi på 1,2 milliarder Euro. Dette salg baseres på en stigende mængde data, der peger mod, at en daglig indtagelse af probiotiske bakterier kan have positive effekter på vores helbred og generelle velbefindende. Indtagelse af probiotika påvirker bakteriefloraen i vores fordøjelsessystem og dette komplekse system udøver stor indflydelse på kroppen gennem forskellige mekanismer bl.a. fordøjelse af næringsstoffer, produktion af vigtige komponenter, immunomodulatoriske effekter og vækst inhibition af patogene bakterier [2]. Specielt positive effekter af probiotika på tarm relaterede sygdomme har haft stor bevågenhed de senere år. Det er blevet vist, at indtagelse af probiotiske bakterier kan have positive effekter på irritabel tarmsyndrom (IBS) og inflammatoriske tarmsygdomme som Crohn's disease og ulcerativ colitis [3-7]. De positive effekter af probiotika er dog stadig kontroversielle, da mange studier viser høje placeboeffekter og undersøgelserne er ofte baseret på patientspørgeskemaer, hvilket introducerer en høj grad af subjektivitet. Desuden medfører længerevarende interventionsstudier også, at det enkelte individs generelle livsstil muligvis kan influere på resultaterne. Derfor er det af stor interesse at undersøge probiotiske bakteriers effekt ved brug af metoder, der kan måle den direkte indflydelse på kroppen.

Ved at benytte spektroskopiske analysemetoder, NMR og gaskromatografi – massespektrometri (GC/MS) koblet med multivariat dataanalyse – endimensionsreducerende matematisk databehandlingsdisciplin, kan man detektere og analysere komplekse biologiske prøver som væv og kropsvæsker for mange metabolitter på relativ kort tid og finde forskelle og ligheder mellem eksempelvis behandlingsgrupper, køn og fænotyper. Denne disciplin kaldes samlet for metabonomics og defineres som "den kvantitative måling af det levende systems dynamiske og multiparametriske respons på patofysiologiske stimuli eller genetisk modifikation" [8]. Vi har benyttet metabonomics til at beskrive, hvordan indtagelsen af probiotiske bakterier, enten som fermenteret opløsning, individuelle stammer eller på pilleform, påvirker metabolitprofilen hos mennesker eller mus. Vores oprindelige mål var at adressere den mekanisme hvorved indtagelse af de probiotiske stammer, *Lactobacillus paracasei* F19, *Lactobacillus rhamnosus* og *Bifidobacterium lactis* Bb12, påvirker værtsorganismen ved at benytte en kombination af metabonomics og transcriptomics på kropsvæsker og væv fra mus og mennesker. Blodserum og levervæv blev analyseret ved brug af NMR og GC/MS på henholdsvis Kemisk Institut og Institut for Fødevarekvalitet på Aarhus Universitet. Genanalyser skulle være foretaget i samarbejde med Institute for Microbiology, Tumor and Cell Biology (MTC) på Karolinska Institutet i Stockholm, men blev desværre ikke foretaget på de korrekte prøver.

Resultater

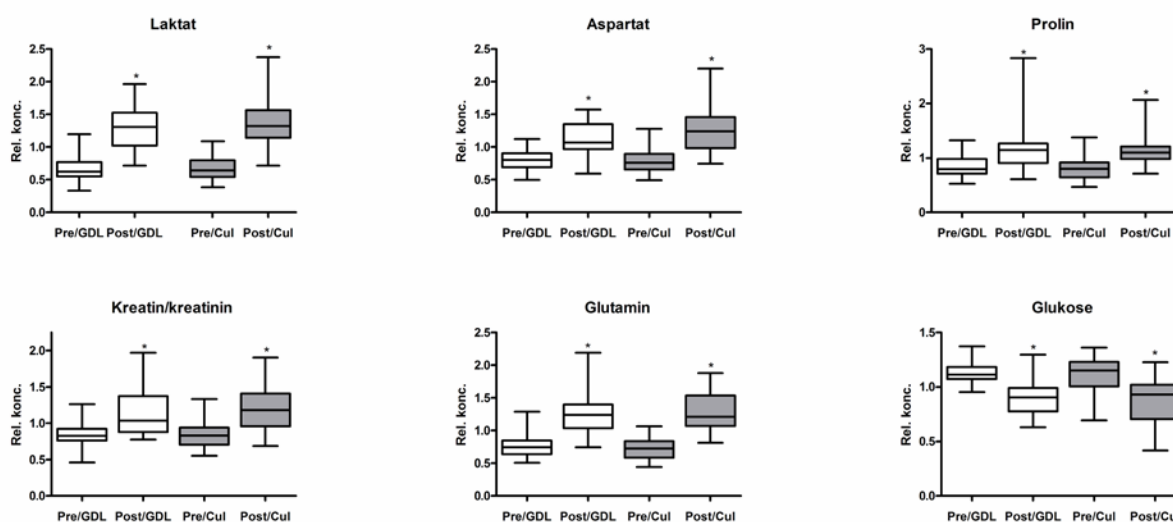
Projektet har været opdelt i tre områder; probiotikas påvirkning på patienter der lider af IBS, individuelle probiotiske stammers indflydelse på en tarminflammatorisk musemodel og effekt af probiotika på overvægt hos både mus og mennesker. På baggrund af IBS-studiet er to manuskripter forfattet (Appendiks 1 og 2) og forsøges publiceret, mens et tredje manuskript (Appendiks 3) er baseret på den tarminflammatoriske musemodel.

Irritabel tarmsyndrom behandlet med et syrnede mælkeprodukt indeholdende probiotika

To IBS-patientgrupper undergik en 8-uger lang interventionsperiode med enten et probiotisk suppleret fermenteret mælkeprodukt (Cultura, Arla Foods) eller et ikke-probiotisk, kemisk syrnede mælkeprodukt. Forsøgspersonerne indtog dagligt 0,4 L produkt, og der blev før og efter interventionsperioden udtaget blodprøver fra hver patient. Forsøget foregik på Sahlgrenska Hospital, Göteborg under ledelse af Magnus Simrén i samarbejde med KPL Good Food Practice, Uppsala. Blodserum-prøverne blev analyseret ved brug af proton-NMR og GC/MS-baseret metabonomics. Ud over vores metabonomics-analyse blev der foretaget symptom analyser og generelle antropometriske målinger. Disse resultater er blevet publiceret uafhængigt af vores analyse [9].

Baseret på vore analyser viste vi, at der var en klar forskel på metabolitprofilen for begge patientgrupper, når man sammenlignede før og efter prøverne. Denne forskel kunne vi ved brug af proton-NMR tilskrive en højere mængde laktat og 3-hydroxybutyrat i blodet efter interventionsperioden (Appendiks 1), hvilket var ens for begge grupper og dermed uafhængigt af probiotikatilddeling. Den meget klare stigning i laktat blev yderligere påvist med et standard enzymatisk assay. Disse resultater blev underbygget af en GC-MS baseret analyse af blod serummet. Ved at benytte denne mere følsomme metode, koblet med en original explorativ tilgang formåede vi, udover at vise den klare stigning i laktat, også at finde en stigning i andre metabolitter (aspartat, glutamin, creatin/creatinin og prolin) samt et fald i niveauet af glukose i blodet (Appendiks 2 og figur 1). Differentieringen mellem før og efter prøverne gjorde os ydermere i stand til at benytte metabolitprofilen til at teste for patient compliance, hvilken vi fandt til at være på det niveau, som patienterne selv havde indberettet i deres log (Appendiks 1 samt [9]).

De ens resultater fra begge behandlingsgrupper stemmer godt overens med patienternes symptom lindring. De viser, at i en subgruppe sker symptomlindring i løbet af de første 2 uger for patienter, der indtager probiotikaproduktet sammenlignet med produktet uden probiotika. Efter hele interventionsperioden på 8 uger er denne forskel dog udjævnet således, at begge grupper oplever symptomlindring. Vi viser, at grupperne påvirkes ens på metabolitniveauet i blodserum og foreslår således, at den vektor, hvormed de probiotiske stammer gives i, altså et syrnede mælkeprodukt, kan have en indflydelse på patienter, der lider af IBS. Dermed forbindes symptomlindring direkte med en ændring i metabolitprofilen.



Figur 1: Relativ human serum koncentrationer af laktat, aspartat, prolin, kreatin/kreatinin, glutamin og glukose baseret på GC-MS analyse. Signifikans ($P < 0,05$) af niveau stigning eller fald testet med parret *Student's t-test*

Individuelle probiotikastammers indflydelse på en tarminflammatorisk musemodel

Gennem et 12-ugers interventionsstudie blev tre ud af fem grupper af mus behandlet med én af to probiotiske stammer; *Lactobacillus paracasei* F19 eller *Bifidobacterium lactis* Bb12. Musene blev givet probiotika enten blandet i deres foder (to grupper) eller som en *Lactobacillus paracasei* F19 saltvandsopløsning pipetteret omkring munden to gange dagligt (en gruppe). Efter fire ugers behandling blev de tre probiotikabehandlede grupper samt én gruppe uden probiotika behandling givet dextran sodium sulphate (DSS) i drikkevandet. Denne forbindelse inducerer en colitis inflammatorisk tilstand i tarmen på musen. Efter i alt 12-ugers intervention blev musene aflivet, og blodserum blev udtaget, ekstraheret og analyseret ved proton-NMR-baseret metabonomics. Forsøget blev udført af MTC og blodserum blev analyseret på Aarhus Universitet. Dette forsøg skulle også have inkluderet en samkøring af metabonomics-data med genearrays. Grundet forskellige opfattelser af forsøgets præmisser blev disse desværre ikke udført således, at korrelationer mellem gener og metabolitter kunne udføres.

Resultaterne fra NMR-baseret metabonomics viste, at de enkelte grupper af mus havde metabolitprofiler forskellige fra hinanden, dog uden at vi kunne detektere en direkte probiotika-afledt beskyttelse mod DSS-induceret inflammation. En række metabolitter blev påvirket af behandlingen. Mest signifikant fandt vi, at DSS og probiotikabehandlingen påvirkede specielt niveauet af lipider, valin, glukose og glycerophosphocholin (GPC). Samme trend for disse metabolitter blev observeret i alle behandlingsgrupper, hvor lipid- og valinniveauet faldt, mens glucose- og GPC-niveauet steg. Hvor meget disse metabolitterne blev påvirket, var afhængigt af hvilken stamme og hvilken metode, probiotikaen blev administreret på, hvor *Lactobacillus paracasei* F19 givet som saltvandsopløsning omkring munden på musene havde den største effekt. Faldet i lipidniveau skal ses sammen med stigningen i GPC og uafhængigt af stigningen i glucose og faldet i valin. Ved at give musene lactobacillus, øges muligheden for en lactobacillus medieret stigning af fedtsyre hydrolysere til linolinsyre, der har en reducerende effekt på serum lipoprotein. GPC niveauet vil derved stige som følge af en reduktion i serum lipoproteiner. Stigningen i glukose ses som en konsekvens af

et ændret energiniveau, der sammen med faldet i valine, indikerer opbygning af glukose via gluconeogenese.

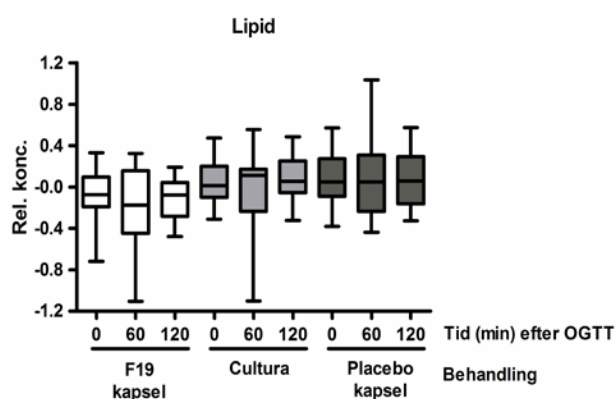
Disse resultater indikerer, at probiotika påvirker inflammation i tarmen, hvor de to testede individuelle probiotiske mælkesyre stammer har lignende effekter. Ydermere viser resultaterne, at vektoren hvormed probiotika gives i, har en effekt på hvor effektivt bakterierne påvirker værtsorganismen.

Påvirkning af probiotika på overvægt og fedtrig diæt

Overvægtige personer blev delt op i 3 grupper og gennemgik et 8-uger langt interventionsstudie. Én gruppe fik frysetørret *Lactobacillus paracasei* F19 på pilleform, én gruppe spiste dagligt 0,4 L et fermenteret yoghurt produkt med probiotika (Cultura, Arla Foods), mens den sidste gruppe fik placebo piller. Før og efter studiet undergik patienterne en oral glukosetolerance test (OGTT), hvor der blev taget blodserum prøver til tidspunkterne 0, 60 og 120 minutter. Blodserum-prøverne blev analyseret ved proton-NMR-baseret metabonomics. Interventionsstudiet blev foretaget af KPL Good Food Practice, Uppsala. Dette forsøg blev koblet til et museinterventionsstudie, hvor fire grupper af NMRI-mus blev inkluderet. To af grupperne fik almindelig musefoder med 4 % fedtindhold, mens to grupper fik en diæt med 20 % fedtindhold. En lavfedt gruppe og en højfedt gruppe fik blandet *Lactobacillus paracasei* F19 i deres foder efter to uger af studiet. Efter totalt 14 ugers intervention blev musene aflivet og blodserum samt levervæv blev analyseret ved brug af proton-NMR-baseret metabonomics. Museforsøgene blev foretaget af MTC på Karolinska Institutet, mens proton-NMR-baseret metabonomics blev foretaget på Aarhus Universitet.

I de humane prøver kunne vi adskille de enkelte OGTT tidspunkter på baggrund af metabolitprofilen både før og efter interventionsperioden. Ved en OGTT stiger glukoseniveauet som forventet markant, hvilket vi også kunne detektere i vores prøver. Ved at subtrahere før-prøverne fra efter-prøverne kunne vi til gengæld fokusere udelukkende på de effekter, der var afledt af de enkelte behandlingsformer. Kun de interessante forskelle ville blive tilbage i de subtraherede spektre, og ydermere opnåede vi en reduktion i antallet af prøver, der skulle inkluderes i modellen. Ved at foretage denne fokusering fandt vi, at de patienter, der blev behandlet med frysetørret *Lactobacillus paracasei* F19 på pilleform, oplevede et fald i lipidniveauet i blodserum. Dette fald blev observeret til alle OGTT tidspunkter (Figur 2). I de fedtbehandlede mus fandt vi en probiotikauafhængig effekt af det fede foder. Effekten var dog lille og det viste sig, at den benyttede musemodel responderede meget ringe på fedtrig foder, hvilket obstruerede et klart signal.

Intet signifikant fald i vægt blev observeret i behandlingsgrupperne og den effekt, som vi fandt på lipidniveauet for personerne i gruppen med probiotiske piller, var ikke markant. Ikke desto mindre viste disse resultater, at *Lactobacillus paracasei* F19 kan influere metabolitprofilen hos mennesker. Probiotika givet i et fermenteret mælkeprodukt viste sig ikke at have en signifikant effekt, hvilket ydermere påpeger, at vektoren spiller en rolle for effekten.



Figur 2: Relativ concentration af lipid i human serum fra overvægtige personer inkluderet i et 8-ugers diet interventionsstudie. OGTT: Oral glukose tolerance test. En-vejs ANOVA viser signifikant forskel mellem grupperne, $P = 0,024$

Konklusion

Vi har gennem en række forsøg adresseret, hvordan probiotika påvirker værtsorganismen. Som oprindeligt mål skulle disse resultater korreleres til ændringer i gentranskriptionen. Dette punkt kunne desværre ikke gennemføres da data fra gentranskription ikke var tilgængelige. Vores resultater viser, at vektoren hvormed probiotiske bakterier gives i, spiller en væsentlig rolle for, hvordan værtsorganismen påvirkes i og med, at vektoren i sig selv kan have en effekt eller ved at påvirke de probiotika, vektoren bærer. Ydermere influerer værtsorganismens sundhedstilstand, specielt den gastro-intestinale tilstand og dermed sammensætning af bakterier, også hvordan probiotiske bakterier er i stand til at udføre en funktion. Projektet har vist det store potentiale, der ligger i metabonomics som et redskab til at analysere interventionsstudier og dermed koble de mere traditionelle undersøgelser til multiparametriske, biokemiske resultater.

Referencer

1. Buss D: **Danone's top functional brand has America in its sights.** *New Nutrition Business* 2004, **9**: 3-5.
2. Williams NT: **Probiotics.** *Am J Health Syst Pharm* 2010, **67**: 449-458.
3. Niedzielin K, Kordecki H, Birkenfeld B: **A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of Lactobacillus plantarum 299V in patients with irritable bowel syndrome.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001, **13**: 1143-1147.
4. Kajander K, Hatakka K, Poussa T, Farkkila M, Korpela R: **A probiotic mixture alleviates symptoms in irritable bowel syndrome patients: a controlled 6-month intervention.** *Aliment Pharmacol Ther* 2005, **22**: 387-394.
5. Kajander K, Myllyluoma E, Rajilic-Stojanovic M, Kyrönpalo SS, Rasmussen M, Jarvenpää SS *et al.*: **Clinical trial: multispecies probiotic supplementation alleviates the symptoms of IBS and stabilises intestinal microbiota.** *Aliment Pharmacol Ther* 2007.

6. Reiff C, Delday M, Rucklidge G, Reid M, Duncan G, Wohlgemuth S *et al.*: **Balancing inflammatory, lipid, and xenobiotic signaling pathways by VSL#3, a biotherapeutic agent, in the treatment of inflammatory bowel disease.** *Inflamm Bowel Dis* 2009.
7. Chung YW, Choi JH, Oh TY, Eun CS, Han DS: **Lactobacillus casei prevents the development of dextran sulphate sodium-induced colitis in Toll-like receptor 4 mutant mice.** *Clin Exp Immunol* 2008, **151**: 182-189.
8. Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E: **'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data.** *Xenobiotica* 1999, **29**: 1181-1189.
9. Simren M, Ohman L, Olsson J, Svensson U, Ohlson K, Posserud I *et al.*: **Clinical trial: the effect of a fermented milk containing three probiotic bacteria in patients with irritable bowel syndrome (IBS) - a randomized, double-blind, controlled study.** *Aliment Pharmacol Ther* 2010, **31**: 218-227.

Publikationer og offentliggørelser

Artikler i internationale tidsskrifter

- Serum Metabolite Response to Short-term Diet Intervention with Probiotic or Non-probiotic Acidified Milk in Irritable Bowel Syndrome Patients – A ¹H NMR-Based Metabonomic Analysis
Simon M. M. Pedersen, Niels Chr. Nielsen, Henrik J. Andersen, Johan Olsson, Magnus Simrén, Lena Öhman, Ulla Svensson, Anders Malmendal, Hanne C. Bertram
Submittet til BMC Gastroenterology

Vedlagt som appendiks 1

- Focused GC-MS Metabonomic Characterization of Blood Serum from Irritable Bowel Syndrome Patients Undergoing Intervention with Acidified Milk Products
Simon M. M. Pedersen, Caroline Nebel, Johan Olsson, Ulla Svensson, Magnus Simrén, Lena Öhman, Henrik J. Andersen, Niels Chr. Nielsen, Hanne C. Bertram and Anders Malmendal
Afventer at blive submittet

Vedlagt som appendiks 2

- Probiotic protection from induced ulcerative colitis in a murine model analysed using ¹H-NMR metabolomics: Effects from probiotic strain and delivering method
S.M.M. Pedersen, A. Samuelsson, U. Svensson, J. Rafter, S. Petterson, N.C. Nielsen, H. C. Bertram and A. Malmendal
Manuskript under forberedelse

Vedlagt som appendiks 3

Populævidenskabelige publikationer

- Bedre tarmflora – mindre gas

Pedersen SM & Bertram HC

Mælkeritidende. 2007 Aug; 120: 354-355.

Vedlagt som appendiks 4

Studenteropgaver

- A Nutrigenomic Approach in the Elucidation of Basic Molecular Mechanisms for the Action of Probiotic Bacteria - An NMR-Metabolomic Study of Biofluids and Tissues.

Simon M. M. Pedersen

PhD part A report, May 2008

Indlæg ved faglige kongresser, symposier, etc.

- ^1H NMR Liquid State Metabonomic Analysis of Probiotic-Host Interaction in an Irritable Bowel Syndrome Mouse Model.

Pedersen, S.M.M, Svensson, U., Rafter, J., Nielsen, N.C., Petterson, S., Bertram, H.C. & Malmendal, A.

Poster præsenteret ved Dansk NMR møde, København, 26.-27. januar 2009.

- Er yoghurt mere end bare end velsmagende morgenmad? – Et studie af yoghurtkulturers indflydelse på stofskiftet.

Pedersen, S.M.M.

Mundtlig præsentation ved Inst. for Fødevarer kvalitet Ph.d seminar, Sandbjerg, 28.-29. november 2008

- Nutrimetabonomics – Metabolite profiling of diet intervention using nuclear magnetic resonance

Pedersen, S.M.M.

Mundtlig præsentation ved "iNANO Autumn School", Fuglsøcentret, 10.-13. oktober 2008

- Identification of lactate as a biomarker for consumption of acidified milk products – a ^1H NMR-based metabonomic study of IBS patients.

Pedersen, S.M., Nielsen, N.C., Svensson, U., Andersen, H.J., Malmendal, A. & Bertram, H.C.

Proceedings from Metabomeeting 2008, April 28-29, 2008, Lyon, pp 92.

- A nutrigenomic approach on the molecular mechanisms behind the action of probiotics – An NMR metabolomic study of biofluids.
Pedersen, S.M.
Mundtlig præsentation Dansk NMR møde, Nyborg, 14.-15. januar 2008.
- A nutrigenomic approach on the molecular mechanisms behind the action of probiotic bacteria – An NMR metabolomic study of biofluids and tissues.
Pedersen, S.M., Malmendal, A., Nielsen, N.C., Andersen, H.J., Svensson, U. & Bertram, H.C.
Poster præsenteret ved Arlas ernæringsseminar, 6. december 2007 samt på Dansk NMR møde, Nyborg, 14.-15. januar 2008.
- A nutrigenomic approach on the molecular mechanisms behind the action of probiotics.
Pedersen, S.M., Malmendal, A., Nielsen, N.C., Andersen, H.J., Svensson, U. & Bertram, H.C.
Poster præsenteret ved “iNANO Autumn School”, Fuglsøcentret, 5.-8. oktober 2007.
- A nutrigenomic approach on the molecular mechanisms behind the action of probiotics.
Pedersen, S.M., Malmendal, A., Nielsen, N.C., Andersen, H.J., Svensson, U. & Bertram, H.C.
Mundtlig præsentation ved “iNANO Autumn School”, Fuglsøcentret, 5.-8. oktober 2007.
- A nutrigenomic approach on the molecular mechanisms behind the action of probiotics.
Pedersen, S.M., Malmendal, A., Nielsen, N.C., Andersen, H.J., Svensson, U. & Bertram, H.C.
Poster præsenteret ved “Nutrigenomics i Danmark”, Slagelse, 27.-28. marts 2007.

Mødeindlæg

- Ingen aktivitet

Andet

- Er yoghurt mere end bare end velsmagende morgenmad?
S.M.M. Pedersen

Populærvideenskabelig mundtlig præsentation ved U-days, Aarhus Universitet, 2009

- Er yoghurt bakterier andet end noget der laver god morgenmad?
S.M.M. Pedersen

Populærvideenskabelig mundtlig præsentation ved U-days, Aarhus Universitet, 2010

- Journal club artikel og resultat præsentationer ved Mælk og Æg gruppen, Inst. for Fødevarekvalitet, AU og BioNMR, Kemisk Institut, AU
- Statusrapporteringer for Mejeribrugets ForskningsFond, styregruppe "Ernæring og Sundhed".

Forskeruddannelse

Ph.d.-studerende Simon Metz Mariendal Pedersen har på tilfredsstillende vis gennemført sit ph.d.-studium ved iNANO School, Aarhus Universitet, baseret på projektet.

I to perioder i 2010 har Simon været på barsel, hvilket har medført at projektet er blevet forlænget med en tilsvarende periode.

Samarbejdsrelationer

Projektet blev udført i et samarbejde mellem Institut for Fødevarekvalitet, Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet og BioNMR gruppen på Kemisk Institut, Naturvidenskabeligt Fakultet. Begge enheder på Aarhus Universitet. Desuden har Sven Pettersons gruppe på MTC, Karolinska Institutet, Sverige bidraget med prøver fra museforsøg. De humane forsøg er blevet udført af Magnus Simrén og Lena Öhman, Sahlgrenska Hospital, Göteborg, Sverige og Johan Olsson, KPL Good Food Practice, Uppsala, Sverige. Alle forsøg har haft Arla Foods amba som erhvervspartner.

Projektets betydning for mejeribruget

Projektet har søgt at afdække den indflydelse konsumeret probiotika har på værtsorganismen, hvilket vi til dels opnåede. Arbejdet på organismeniveau er dog meget komplekst og mange faktorer har en indflydelse. Alle resultater peger i en positiv retning mod fordelagtige effekter af indtagelse af probiotika. Dette vil yderligere kunne styrke idéen om yoghurt og specielt probiotika suppleret yoghurt kan virke fremmende for forbrugerens velbefindende og i specielle tilfælde muligvis lindre sygdomssymptomer.

Resultaterne fremhæver, at fokus ikke kun skal være på selve de probiotiske bakterier, men også at der kræves omhyggelig forsøgsplanlægning i forbindelse med hvilke kontroller og behandlingsgrupper der skal inkluderes i forsøgsopsætningen. Undersøgelser af de probiotiske bakteriers samspil med yoghurt-

starterkulturerne og den generelle effekt af indtagelse af syrnede mælkeprodukter i forskellige typer af personer bør få yderligere opmærksomhed.

Fremtidige samarbejdsrelationer

Der er ingen tvivl om, at metabonomics er et redskab, der vil kunne blive brugt til mange områder inden for mejeriforskning. Den store mængde, data der rekvireres over kort tid på små prøvemængder giver meget brugbar information og metoden kan meget nemt overføres til fx mælkekarakterisering. Ydermere vil man med meget lidt invasive prøver kunne analysere mange aspekter af mælkeproduktionen i koen, i relation til foder, stress, alder etc.

Den fortsatte forskning i probiotika vil ydermere kunne drage fordel af resultaterne i og med, at der ligger store potentialer i den mere "personalized food" – altså muligheder for at målrette visse produkter, så som probiotikaprodukter, mod grupper i befolkningen fx ældre eller overvægtige. Undersøgelser af probiotisk påvirkning i flere grupper vil have stor relevans både for videnskaben og mejeribrug.