

Checklist Schriftelijk Rapporteren

Naam: _____ Klas: _____ Datum: _____

Titel verslag/rapport: _____

Nadat jij je verslag/rapport hebt gecontroleerd met behulp van deze checklist, voeg je deze toe als bijlage. Zonder de ingevulde checklist vindt er geen beoordeling plaats. De assessor controleert met deze checklist je rapport/verslag. De beoordelingscriteria die met een * zijn aangegeven, zijn de zogenaamde 'killing points'. Indien de assessor meer dan vijf 'killing points' heeft aangekruist, dien je het rapport/verslag op alle onvoldoende onderdelen te verbeteren. Voor de herbeoordeling moet je ook de oude versie inleveren. In het afstudeerwerkstuk zijn geen 'killing points' toegestaan! AANVINKEN WAT NIET IN ORDE IS!

1. Het taalgebruik:

- ☐ Bevat niet meer dan drie grammaticale, spel- en typefouten per duizend woorden*
- Bij meer dan drie fouten per duizend woorden is het rapport/verslag afgekeurd!**
- ☐ Heeft een adequate interpunctie*
- ☐ Is afgestemd op de gekozen doelgroep (juiste stijl)*
- ☐ Laat een zakelijke en actieve schrijfstijl zien*
- ☐ Bevat geen persoonlijke voornaamwoorden*

2. Het rapport/verslag:

- ☐ Is ingebonden (hard copy)*
- ☐ Is vrij van plagiaat* (zie onderwijsexamenregeling)

3. De omslag:

- ☐ Bevat de titel
- ☐ Vermeldt de auteur(s)

4. De titelpagina/het titelblad:

- ☐ Heeft een specifieke titel*
- ☐ Vermeldt de auteur(s)*
- ☐ Vermeldt de plaats en de datum*
- ☐ Vermeldt de opdrachtgever(s)*

5. Het voorwoord:

- ☐ Bevat de persoonlijke aanleiding tot het schrijven van het rapport/verslag
- ☐ Bevat persoonlijke bedankjes (persoonlijke voornaamwoorden toegestaan)

6. De inhoudsopgave:

- ☐ Vermeldt alle genummerde onderdelen van het rapport/verslag*
- ☐ Vermeldt de samenvatting en de bijlage(n)
- ☐ Is overzichtelijk
- ☐ Heeft een correcte paginaverwijzing

7. De samenvatting:

- ☐ Is een verkorte versie van het gehele rapport/verslag
- ☐ Bevat conclusies
- ☐ Bevat geen persoonlijke mening
- ☐ Is gestructureerd
- ☐ Is zakelijk geschreven
- ☐ Staat direct na de inhoudsopgave

8. De inleiding (toelichting op intranet):

- ☐ Is hoofdstuk 1*
- ☐ Beschrijft het grotere kader en aanleiding
- ☐ Beschrijft inhoudelijke achtergrondinformatie*
- ☐ Formuleert het probleem/de onderzoeksvraag*
- ☐ Vermeldt het doel*
- ☐ Bevat een leeswijzer voor het rapport/verslag*

9. Materiaal en methode:

- ☐ Beschrijft de gevolgde onderzoeksmethode
- ☐ Past bij de onderzoeksvraag/vragen*
- ☐ Beschrijft de variabelen/eenheden
- ☐ Beschrijft de methode van data-analyse

10. De (opmaak van de) kern:

- ☐ Bestaat uit genummerde hoofdstukken en (sub)paragrafen (maximaal drie niveaus)*
- ☐ Deze zijn verschillend in opmaak*
- ☐ De hoofdstukken en (sub)paragrafen hebben een passende titel
- ☐ Een hoofdstuk beslaat ten minste één pagina
- ☐ Een nieuw hoofdstuk begint op een nieuwe pagina
- ☐ De zinnen lopen door (geen 'enter' binnen een alinea gebruiken)
- ☐ De figuren zijn (door)genummerd en hebben een passende titel (onder de figuur)*
- ☐ De tabellen zijn (door) genummerd en hebben een passende titel (boven de tabel)*
- ☐ Tabellen en figuren zijn zelfstandig te begrijpen
- ☐ In de tekst zijn er verwijzingen naar figuren en/of tabellen*
- ☐ De tekst bevat verwijzing naar de desbetreffende bijlage(n)
- ☐ De tekst is ook zonder verwijzingen te begrijpen
- ☐ De pagina's zijn genummerd*

11. De discussie:

- ☐ Bevat een vergelijking met relevante literatuur
- ☐ Geeft de valide argumentatie weer
- ☐ Evalueert de gebruikte onderzoeksmethode
- ☐ Bevat een kritische reflectie op de eigen bevindingen (zie toelichting op intranet)

12. De conclusies en aanbevelingen:

- ☐ De conclusies zijn gebaseerd op relevante feiten
- ☐ De aanbevelingen zijn gebaseerd op relevante feiten
- ☐ Bevatten geen nieuwe informatie*

13. De bronvermelding:

- ☐ In de tekst is conform de geldende APA-normen* (zie intranet Mediatheek)

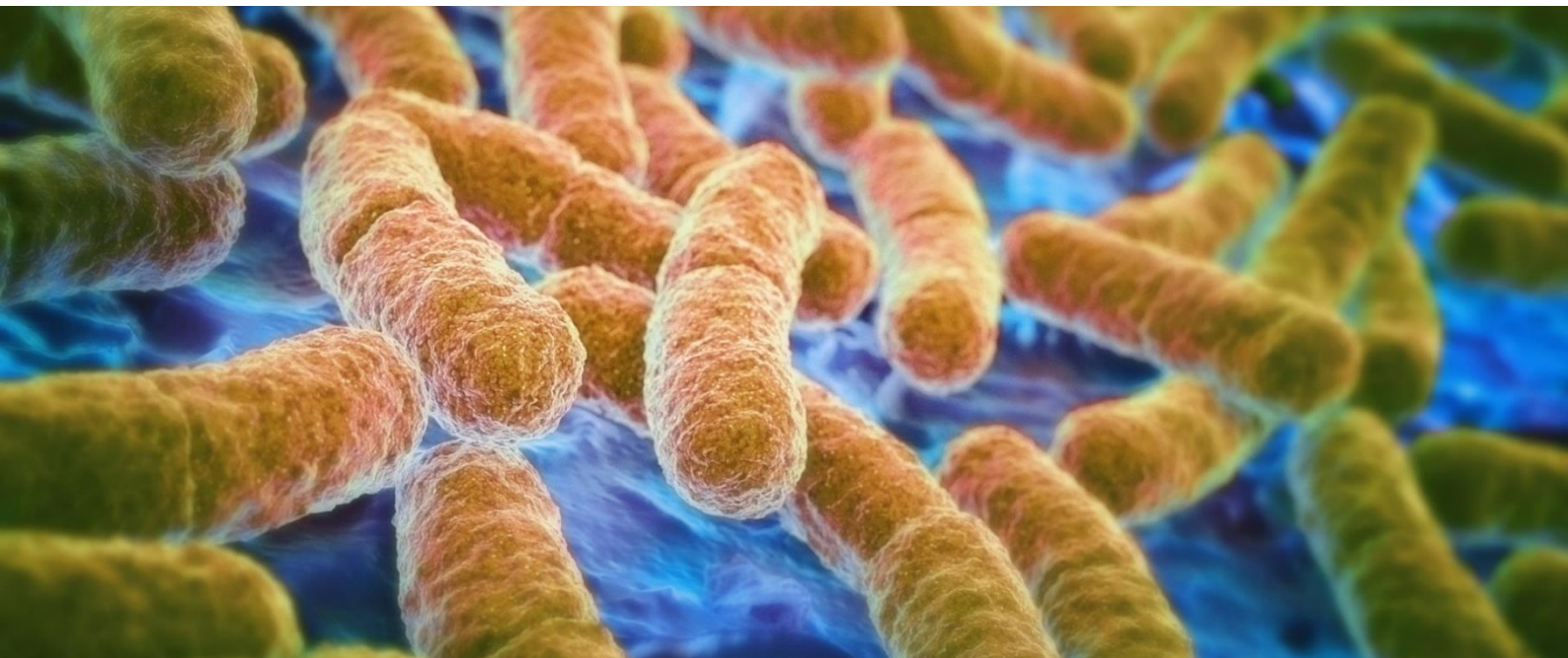
14. De literatuurlijst:

- ☐ Is opgesteld conform de geldende APA-normen* (zie intranet Mediatheek)

15. De bijlagen:

- ☐ Zijn genummerd
- ☐ Zijn voorzien van een passende titel
- ☐ Bevatten geen eigen analyse

*‘HET EFFECT VAN HET LOW CARB-HIGH FAT DIEET OP VIER
GEZONDHEIDSMARKERS VAN HET DARMMICROBIOOM’*



‘HET EFFECT VAN HET LOW CARB-HIGH FAT DIEET OP VIER GEZONDHEIDSMARKERS VAN HET DARMMICROBIOOM’

Auteur:

Tjeerd Fluitman, student Biologie, Voeding en Gezondheid

Schoolinstelling: Aeres Hogeschool

E-mail: 3020228@aeres.nl

Afstudeerdocent:

Tom Huisman, docent Aeres

Bedrijf: Aeres Hogeschool

E-mail: T.Huisman@aeres.nl

Opdrachtgever:

Jos Seegers, co-founder MyMicroZoo

Bedrijf: MyMicroZoo

E-mail: Jos.Seegers@mymicrozoo.com

13 augustus 2018, Amersfoort

Voorwoord

Beste lezer,

Deze scriptie is geschreven in het kader van de bachelor-opleiding 'Biologie, Voeding en Gezondheid' aan de Aeres Hogeschool. Deze studie, 'Het effect van het Low Carb-High Fat dieet op vier gezondheidsmarkers van het darmmicrobioom', is het eindproduct van drie leerzame jaren waarin ik middels minors aan de Hogeschool van Leiden en aan de Wageningen Universiteit mij steeds meer ben gaan verdiepen in het microbioom. Deze theoretische achtergrond heb ik tijdens stages bij onder andere gezondheidskliniek Thalamo in Eindhoven en de Universiteit van Gent vertaalt naar de praktijk. Inmiddels ben ik er van overtuigd dat darmgezondheid een bepalende rol heeft in de algehele gezondheid.

De scriptie is geschreven in opdracht van het laboratorium MyMicrozoo te Leiden en is bedoeld voor professionals op het gebied van darmgezondheid en daarnaast mensen met diabetes type II, obesitas en darmproblematiek die objectieve informatie verlangen over het Low Carb-High fat dieet: wat kan dit dieet betekenen voor hun aandoening? Uiteraard is de literatuurstudie ook openbaar gesteld voor (andere) studenten en docenten van Aeres Hogeschool.

Bij dezen wil ik graag mijn begeleider Tom Huisman bedanken voor de begeleiding en Yolanda Maas voor de welkome kritische blik op mijn literatuurstudie. Verder wil ik mijn opdrachtgever Jos Seegers van MyMicrozoo bedanken voor het aanleveren van een relevante vraagstelling uit het werkveld dat mijn onderzoek de theorie doet ontstijgen.

Tjeerd Fluitman
Amersfoort, augustus 2018

Inhoudsopgave

1. Inleiding	8
Knowledge gap	9
Hoofdvraag	9
Deelvragen	9
2. Methode	10
Selectiecriteria	10
3. Resultaten	11
3.1 Het Low Carb-High Fat dieet en ziekteassociaties	11
Het Low Carb-High Fat dieet	11
Ziekteassociaties met Low Carb-High Fat dieet	11
3.2 Akkermansia Muciniphila	13
Het mechanisme	13
Dieet-geïnduceerde veranderingen	13
3.3 Verhouding Firmicutes/Bacteroidetes in het colon	16
Het Mechanisme	16
Dieet geïnduceerde veranderingen	17
3.4 <i>F. Prausnitzii</i> en butyraatproductie	19
Dieet-onafhankelijk effecten	20
4. Discussie	21
De onderzoeksmethode	21
Gezond zijn en blijven is complex	22
5. Conclusie	23
5.1 Akkermansia Muciniphila	23
5.2 Ratio Firmicutes tot Bacteroidetes	23
5.3 Faecalibacterium Prausnitzii en butyraatfermentatie	23
5.4 Wat is het effect van LCHF dieet op de vier gezondheidsmarkers?	23
Referenties	25

Samenvatting

Introductie Het doel van deze scriptie is om te achterhalen wat het effect is van het Low Carb-High Fat (LCHF) dieet op geassocieerde ziekten en welke rol het darmmicrobioom hierin speelt. Het darmmicrobioom heeft een zeer directe invloed op de homeostase van de mens en is daarbij van belang voor optimale gezondheid. Dit heeft te maken met haar ontstekingsremmende eigenschappen en verschillende energierijke producten die het produceert die voordelig zijn voor de gastheer. Door deze eigenschappen wordt het darmmicrobioom, net zoals het LCHF dieet, positief geassocieerd met een verlaagd risico op diabetes type II, obesitas en cardiovasculaire aandoeningen. De hoofdvraag: “Wat is er bekend over het effect van het Low Carb-High Fat dieet op vier gezondheidsmarkers van het darmmicrobioom?” is opgedeeld in vier markers waarvan afgeleid kan worden of het LCHF dieet positieve effecten heeft op het darmmicrobioom: **1.** de aanwezigheid van de bacterie *Akkermansia Muciniphila*, **2.** de verhouding tussen de bacteriegroepen *Bacteroidetes* en *Firmicutes*, **3.** de aanwezigheid van de bacterie *Faecalibacterium Prausnitzii* en **4.** butyraatfermentatie.

Methode In maart is een systematische literatuurstudie gedaan. PubMed, Nature, Wiley en ScienceDirect zijn hiervoor doorzocht. In de artikelen is sprake van een dieetinterventie, zijn tussen 2016 of 2018 gepubliceerd en zijn peer-reviewed. Veertig artikelen zijn samengevat die verwerkt zijn in een Excelmatrix. In deze matrix is een overzicht gemaakt van de resultaten met betrekking tot de betreffende deelvraag. Op basis van het Excelbestand is een schets geschreven van de thesis, waarna de definitieve thesis is geschreven.

Resultaten Verzadigde vetzuren en dierlijke eiwitten correleren negatief met de vier gezondheidsmarkers. Koolhydraten en met name vezels daarentegen worden positief geassocieerd met de vier markers. Dit geldt ook voor onverzadigde vetzuren, eiwitten en polyfenolen van plantaardige afkomst. Doordat het LCHF dieet koolhydraten gedeeltelijk worden vervangt door vetten en eiwitten van dierlijke afkomst, wekt dit het vermoeden dat de voordelen van het Low Carb-High Fat dieet niet toe te wijden zijn aan de effecten op het darmmicrobioom.

Conclusie Ondanks dat het LCHF dieet een positief effect lijkt te hebben op diabetes type II, obesitas en cardiovasculaire aandoeningen, speelt het darmmicrobioom hier naar alle waarschijnlijkheid geen significante rol in. Als het doel is om de vier gezondheidsmarkers positief te stimuleren is het wenselijk om producten van dierlijke afkomst te minderen of rood vlees te vervangen door gevogelte, vis of plantaardige vleesvervangers. Ook zou er voorkeur moeten zijn voor vezelrijke vruchten, groenten of noten boven andere koolhydraatrijke producten.

See next page for English version |

Abstract

Introduction Recent studies suggest that a Low Carbohydrate-High Fat (LCHF) diet may play a relevant role in managing weight loss, type II diabetes and cardiovascular diseases. At the same time the intestinal microbiome plays an important role in modulating risk of several chronic diseases including obesity, type 2 diabetes and cardiovascular diseases. This is partially due to its anti-inflammatory properties and by-products which act as a major energy source for intestinal epithelial cells and may therefore strengthen the mucosal barrier. It is now thought that significantly lowering carbohydrates may alter the gut microbiome positively in favour of these properties. Therefore, the main target of this thesis is to answer the following main question: ‘What is known about the effects of LCHF diet on four biomarkers in the gut?’.

The carefully selected biomarkers are: **1.** relative abundance of *Akkermansia Muciniphila*, **2.** ratio of *Firmicutes* and *Bacteroidetes*, **3.** Relative abundance of *Faecalibacterium Prausnitzii* and **4.** Butyrate fermentation.

Method Randomised controlled trials and reviews were searched for which included dietary interventions, were published between 2016 and 2018 and peer-reviewed. PubMed, Nature, Wiley and ScienceDirect were searched. Results were analysed, summarized and processed in an Excel file concerning the main points of each article. The Excel File was followed by an outline on which the thesis is based. Forty studies were eligible for inclusion within the scope of the systematic review.

Results Analysis suggested that the LCHF intervention promote favourable outcomes in terms of blood sugar, insulin resistance and weightless. However, the results do not show an association with the microbiome and its health-promoting properties. Saturated fats and animal proteins -very abundant in LCHF- are negatively associated with all four biomarkers, whereas carbohydrates and dietary fibres are positively associated with the biomarkers. Plant-based unsaturated fats and proteins are positively correlated too. This makes a functional role of LCHF in the microbiome very unlikely.

Conclusion Even though there’s a possible positive associations with type II diabetes, obesity and cardiovascular discomfort, this phenomenon unlikely due to microbial changes caused by LCHF interventions. However, if microbial health effects are desired, it’s advised to favour fish, poultry and plant-based proteins above red meat. Also, it is important to shift to a more high fibre-based diet including fruits, vegetables and nuts.

1. Inleiding

De World Health Organization (WHO) en verschillende gezondheidsinstituten hebben aangegeven dat de dagelijkse consumptie van koolhydraten moet worden verminderd (Hauner et. al, 2012; gezondheidsraad, 2015; Nutrition SACo, 2015; WHO, 2015a; WHO, 2015b; Amine et. al, 2002). Snel verteerbare koolhydraten zouden een risicofactor zijn voor obesitas, diabetes en cardiovasculaire aandoeningen (CVD) (WHO, 2015a; Nutrition SACo, 2015). Een relatief nieuw dieet, het Low Carb-High Fat (LCHF, koolhydraatarm) dieet, haakt aan op dit advies. In het dieet worden koolhydraten grotendeels vervangen door vetten, eiwitten en complexe koolhydraten zoals voedingsvezels. Het dieet zou helpen bij afvallen en de kans op een aantal chronische aandoeningen verlagen (Nu, 2017; Helmstäter, 2017; Puurfiguur, 2017; Jaspersalblas, 2017, Maastrichtuniversiteit, 2018).

Eén van de mechanismen dat hieraan ten grondslag ligt is volgens MyMicrozoo (MMZ) het darmmicrobioom¹. Meerdere studies hebben laten zien dat het darmmicrobioom een rol speelt in chronische aandoeningen, waaronder prikkelbaar darmsyndroom, crohn,, vormen van kanker, maar ook diabetes type II, obesitas en CVD (Feinman, 2015; Westman, 2007; Scott, 2013; Sears & Garret, 2014). Dieetinterventies, zoals het LCHF dieet, zorgen binnen vier weken voor significante veranderingen in het darmmicrobioom (Scott, 2013; Walker et. al, 2011; David et. al, 2014). Deze verandering kunnen mogelijk een therapeutische functie vervullen voor mensen met de bovengenoemde ziekten (Gui & Lu, 2015; Sears, 2014; Shukla et. al, 2017; Van de Wiele & De Weirdt, 2015). Vanuit het werkveld is daarom de vraag wat het effect is van het LCHF-dieet op het darmmicrobioom. Patiënten met diabetes type II, obesitas en darmproblematiek kunnen baat hebben bij deze informatie, ook zonder professionele hulp.

Het darmmicrobioom bestaat uit circa 100 miljard commensalen² micro-organismen. Negentig procent daarvan zijn 52 specifiek geïdentificeerde bacteriestammen die bijna iedereen heeft. Welke soorten daarvan domineren verschilt per individu en is afhankelijk van het DNA, het afweersysteem van de gastheer, leeftijd en het dieet (Kootte et. al, 2017; Van de Wiele & De Weirdt, 2015; Bäckhed et. al, 2012). Doordat er per individu andere bacteriën domineren worden er ook andere stoffen gefermenteerd. Hierdoor heerst er een ander milieu in zijn of haar darmen. Dit milieu heeft op haar beurt effect op de hormoonhuishouding, welke voedingsstoffen worden opgenomen en de functie van het immuunsysteem (Sonneburg & Backhed, 2016; Thais A. & Niv, 2016; kootte et. al, 2017). Daarom is het van belang dat het darmmicrobioom in homeostase is en de juiste stoffen worden geproduceerd voor optimale gezondheid.

Het is echter moeilijk om te bepalen wat een 'gezond' darmmicrobioom is. Naast dat gezondheid een breed begrip is, is ook het darmmicrobioom zeer complex. Het darmmicrobioom bestaat uit te veel variabelen om te kunnen bepalen wat goed is. Wel zijn er zogenoemde gezondheidsmarkers³ waarvan afgeleid kan worden of een individu een verhoogd risico heeft op specifieke ziekten. Het gaat hierbij om fermentatieproducten in het colon, hoe bepaalde bacteriefamilies zich verhouden tot elkaar, of er ziektekiemen aanwezig zijn en de aanwezigheid van specifieke bacteriën (Taciak et. al, 2015; Bäckhed et. al, 2012). Een fermentatieproduct zou bijvoorbeeld in voldoende mate geproduceerd moeten worden en bepaalde bacteriën moeten voldoende aanwezig zijn ten opzichte van andere bacteriën.

In dit afstudeerwerkstuk wordt gefocust op vier gezondheidsmarkers: 1. de aanwezigheid van de bacterie *Akkermansia Muciniphila*, 2. de verhouding tussen de bacteriegroepen *Bacteroidetes* en *Firmicutes*, 3. de aanwezigheid van de bacterie *Faecalibacterium Prausnitzii* en 4. de mate van butyraatfermentatie. Requena et. al (2018) licht toe dat vooral deze markers aantonen of een dieet zoals LCHF een positief of negatief effect heeft op de algemene gezondheid van het darmmicrobioom.

De bacterie *Akkermansia Muciniphila* speelt een sleutelrol tussen het microbioom en gastheercellen in de darm. Dit komt voornamelijk doordat de bacterie een aantrekkelijker milieu creëert voor butyraat

¹ Het darmmicrobioom Alle levende darmbacteriën in het colon

² Commensaal Organisme dat met een ander organisme samenleeft, zonder dit te schaden (vgl. parasiet, parasitair, symbiose)

³ Gezondheidsmarker Meetbare stoffen/organismen die geassocieerd worden met verlaagde kans op uiteenlopende ziekten en aandoeningen

producerende bacteriën zoals *Faecalibacterium Prausnitzii*, dat wordt geassocieerd met een verbeterde darmfunctie (Kroemer & Zitvogel, 2018; De La Cuesta-Zuluaga et. al, 2017; Derrien et. al, 2017; Requena et. al, 2018). Verder wordt een verhoogde relatieve hoeveelheid *Firmicutes* ten opzichte van *Bacteroidetes* geassocieerd met insulinegevoeligheid, een risicofactor voor metabool syndroom, en obesitas (Yang, 2017; Vrieze et. al, 2012; Requena et. al, 2018). Ten slotte heeft *Faecalibacterium Prausnitzii* een directe invloed op het afweersysteem en heeft het anti-inflammatoire eigenschappen. Afwezigheid van deze bacterie wordt geassocieerd met obesitas, astma, de ziekte van crohn en psychische klachten (Valasquez-Manoff, 2015; Scott, 2013; Requena et. al, 2018). Deze associaties zijn voornamelijk toe te wijten aan één eigenschap: butyraatfermentatie. Butyraat, de laatst genoemde gezondheidsmarker, is een vetzuur dat onder andere genexpressie in het darmepitheel beïnvloed, zorgt voor (afweer)celdifferentiatie en epitheelweefselgroei. Onvoldoende butyraatproductie door het microbiom wordt geassocieerd met diarree, prikkelbaar darmsyndroom en crohn (Sonnenburg & Backhed, 2016; Duncan, 2016; Bedford & Gong, 2017; Kootte, 2017; Requena et. al, 2018).

Knowledge gap

Vanuit het werkveld is de vraag wat het effect is van het Low Carb-High Fat dieet op het microbiom en welke mogelijke ziekteassociaties er zijn.

Hoofdvraag

“Wat is er bekend over het effect van het Low Carb-High Fat dieet op vier gezondheidsmarkers van het darmmicrobiom?”

De vier gezondheidsmarkers zijn het voorkomen van *Akkermansia Muciniphila* in het colon, de *Bacteroidetes/Firmicutes*-verhouding, het voorkomen van *Faecalibacterium Prausnitzii* in het colon en butyraatproductie.

Deelvragen

Om de hoofdvraag te beantwoorden zijn de volgende deelvragen opgesteld:

1. Wat is het Low Carb-High Fat dieet en wat is er bewezen met betrekking tot ziekteassociaties?
2. Wat is het effect van het Low Carb-High Fat dieet op het voorkomen van *M. Akkermansia* in het colon?
3. Wat is het effect van het Low Carb-High Fat dieet op de *Bacteroidetes/Firmicutes* verhouding in het colon?
4. Wat is het effect van het Low Carb-High Fat dieet op het voorkomen van butyraat producerende *F. Prausnitzii* en butyraatproductie in het colon?

2. Methode

In maart 2018 is een systematische literatuurstudie gedaan door gebruik te maken van de online databanken ScienceDirect, Nature, Springer en PubMed. Per deelvraag zijn de volgende zoektermen gebruikt:

- Deelvraag 1:** "Low Carb", "High Fat diet" met "obesity" of "diabetes II" of "insulin sensitivity"
- Deelvraag 2:** "*Akkermansia muciniphila*" met "diet", "protein" of "fatty acids" of "carbohydrates", "systemic diseases" of "metabolic syndrom", "microbiota", "microbiome"
- Deelvraag 3:** "Bacteroidetes/firmicutes ratio" met "diet", "protein" of "fatty acids" of "carbohydrates" "systemic diseases" of "metabolic syndrom", "microbiota", "microbiome"
- Deelvraag 4:** "*Faecalibacterium Prausnitzii*" of "Butyratefermentation" met "diet", "protein" of "fatty acids" of "carbohydrates", "systemic diseases" of "metabolic syndrom", "microbiota", "microbiome"

Selectiecriteria

De artikelen die aan de hand van deze zoektermen gevonden zijn, zijn gelimiteerd tot Engelstalig publicaties, met reviews en gerandomiseerd onderzoek met controlegroep (RCT) die tussen 2016 en 2018 zijn gepubliceerd. RCT's zijn enkel gebruikt wanneer het double peer reviewed onderzoek betrof. Vervolgens zijn artikelen uitgesloten waarin niet expliciet sprake is van een *dieetinterventie* op het darmmicrobioom. Dit is geconcludeerd na van het lezen van de abstracts.

De overgebleven tweeënvijftig artikelen zijn per deelvraag verwerkt in een matrix in Excel en voorzien van de volgende labels: *APA*, *keywords*, *publicatiejaar*, *type onderzoek*, *de hoofdvraag* en *het onderwerp*. Vervolgens zijn de artikelen gelezen en is er een overzicht gemaakt van de belangrijke punten per artikel en zijn figuren verzameld die deze punten mogelijk kunnen ondersteunen. Onder *belangrijke punten* wordt verstaan: ondervindingen die de deelvraag (gedeeltelijk) beantwoord en/of bewijzen die het artikel levert die context bieden voor de deelvraag.

Deze punten zijn onder elkaar gezet en vergeleken met de uitkomsten van de andere artikelen. Daarna is beoordeeld welke artikelen dezelfde conclusies trekken, welke artikelen elkaar tegenspreken en zijn discussiepunten verzameld. In dit proces zijn twaalf artikelen verworpen, omdat ze zich buiten de scope van het onderzoek bevonden. Voor de studie zijn daardoor in totaal veertig artikelen gebruikt. Vervolgens is per deelvraag een 'backbone' geschreven waar alle voor- en tegenargumenten in verwerkt zijn en dat is uitgeschreven tot een verhaal.

Na het verwerken van de literatuur is in het hoofdstuk '*discussie*' kritisch gereflecteerd op de methode en de uitvoering van het onderzoek, waarna de resultaten van het onderzoek worden geïnterpreteerd en verklaard. Dit is beargumenteerd met ondervindingen en verklaringen uit de gebruikte literatuur en vervolgens is gekeken wat dit betekent voor de maatschappij. Ten slotte zijn er conclusies getrokken op basis van relevante feiten en is er een aanbeveling gedaan voor MyMicrozoo.

3. Resultaten

3.1 Het Low Carb-High Fat dieet en ziekteassociaties

Het Low Carb-High Fat (LCHF) dieet is ontstaan uit de veronderstelling dat koolhydraten, snel verteerbare suikers in het bijzonder, het risico op overgewicht en metabole stoornissen verhoogd (Brouns, 2018; Huntriss, Campbell & Bedwell, 2017). Uit een cohortstudie (n=6039) blijkt bijvoorbeeld dat mensen die uitsluitend suikerhoudende dranken drinken 44% meer risico hebben op metabool syndroom en 26% meer kans op diabetes type II dan mensen die niet tot nauwelijks suikerhoudende dranken drinken (Giugliano, et al., 2018). In het LCHF dieet worden daarom koolhydraten, met uitzondering van vezels, voor het grootste deel vervangen door vet en gedeeltelijk door eiwitten. Echter is het de vraag hoe dit dieet er precies uitziet en welke lange termijn implicaties dit heeft voor de gezondheid.

Het Low Carb-High Fat dieet

Het LCHF dieet draait voornamelijk om koolhydraatrijke producten zoals pasta vervangen door vezelrijke groenten, vetrijke plantaardige producten en dierlijke producten. Hierdoor wordt de koolhydraatconsumptie van circa 50% koolhydraten verlaagd naar 20-35% (Huntriss, Campbell & Bedwell, 2017; Sato et al., 2017; Clarke, & Best, 2017; Brouns, 2018). De koolhydraatinname moet tussen de 20 en 25% blijven, want bij minder dan 20% is er sprake van *ketogeen dieet* waardoor het lichaam in ketose⁴ raakt. Bij meer dan 35% koolhydraten is het dieet niet meer koolhydraatarm en daarom geen LCHF dieet.

Huntriss, Campbell & Bedwell hebben in een review over LCHF onderzocht welke verhoudingen er gemiddeld door onderzoekers gebruikt worden ten opzichte van een normaal dieet (n=12), zie Tabel 1. In de linker kolom is te zien welke componenten worden vergeleken van het LCHF en het controle dieet. Rechts daarvan is aangegeven hoeveel het LCHF verschilt van het controle dieet in kcal of gram inclusief P-waarde.

Tabel 2: Voedingswaarden van interventie (LCHF) en controle per 100 gram die gebruikt zijn bij twaalf studies (Huntriss, Campbell & Bedwell, 2017)

Component	LCHF (SD)	Controle (SD)	Vershil (gemiddeld)	P-waarde
Calorieën (kcal)	1577,8 (188,3)	1613,4 (194,0)	-35,6	0,458
Koolhydraten (g)	26,65 (10,6)	47,68 (3,0)	-21,0	<0,001
Vezels (g)	19,52 (6,6)	23,58 (7,8)	-4,0	0,01
Eiwitten (g)	24,56 (2,8)	19,02 (1,2)	5,6	<0,001
Vet (g)	48,26 (8,5)	31,79 (4,2)	16,5	<0,001
SFA (g)	13,92 (3,8)	10,40 (1,9)	3,5	0,007
PUFA (g)	8,81 (2,7)	5,50 (1,3)	3,3	0,033
MUFA (g)	17,90 (7,8)	10,44 (2,9)	7,5	0,016

SD Standaard deviatie, kcal kilocalorieën, g gram, SFA verzadigde vetzuren, PUFA meervoudig onverzadigde vetzuren, MUFA enkelvoudig onverzadigde vetzuren

Uit de tabel is af te lezen dat de calorische inname van het LCHF niet verschilt van het controle dieet (P=0,458). Koolhydraten (-21g), vezels (-4g), eiwitten (+5,6g) en vetten (+16,5g) verschillen daarentegen wel. Gemiddeld bestaat het LCHF-dieet voor 41% uit vet, 22% uit koolhydraten, 21% uit eiwitten en 16% uit vezels.

Ziekteassociaties met Low Carb-High Fat dieet

Er zijn verschillende associaties gevonden met het LCHF dieet. Deze associaties zijn overzichtelijk opgesomd in tabel 2. In de tabel is links de ziekte of risicogroep te zien met rechts daarvan cijfers en een eventuele toelichting van deze cijfers of associatie.

Het LCHF dieet wordt geassocieerd met gewichtsverlies. Een studie (n=390) vond dat het LCHF dieet zorgde voor één kilo meer gewichtsverlies (4,8 kg totaal) dan het controle dieet uit tabel 1 (Giugliano, et al., 2018). Een andere studie vond drie maal zo veel gewichtsverlies ten opzichte van een calorierestrictie (Sato et. al 2016) en

⁴ Ketose Noodoplossing waarbij het lichaam compenseert voor lage bloedsuiker door *ketonen* -vetzuren- te gebruiken als primaire energiebron (Brouns, 2018; Waldman, 2018)

een review (n=10) liet zien dat het LFHC zorgt voor significant gewichtsverlies ten opzichte van het controle dieet uit tabel 1 (Huntriss, Campbell & Bedwell, 2017). Echter wordt in meerdere studies betwijfeld of deze verschillen groot genoeg zijn voor klinische implementaties (Giugliano, et al., 2018; Hall, 2017; Brouns, 2018; Sato et. al 2016). Bovendien vinden niet alle studies de zelfde significante verschillen onder invloed van het LCHF dieet, waardoor het dieet nog meer in twijfel wordt gebracht (Wycherley et al, 2016; Brouns, 2018).

Tabel 2 ziekteassociaties met LFHC dieet

Ziekte- en risicogroep	Risico en cijfer	Referentie
Gewichtsverlies	Verlaagd significant op zowel korte als lange termijn	Giugliano, et al., 2018; Brouns, 2018; Wycherley et al, 2016; Sato et. al 2016; Hall, 2017; Huntriss, Campbell & Bedwell, 2017
Serum insuline	Verlaagd significant	Waldman et. al, 2017; Sato et. al 2016
Insuline resistentie	Verhoogde ongevoeligheid voor insuline	Giugliano, et al., 2018; Waldman et. al, 2017; Sato et. al, 2016
Bloedsuiker (HbA1c)	Geen verandering na 3 maanden, significant verschil na 1 jaar	Wycherley et al, 2016; Sato et. al, 2016; Huntriss, Campbell & Bedwell, 2017
Bloeddruk	Geen significante verschillen	Huntriss, Campbell & Bedwell, 2017

Verder is gevonden dat het LCHF dieet insuline in het bloed verlaagd en insuline gevoeligheid verhoogd, twee componenten van diabetes type II (Giugliano, et al., 2018; Waldman et. al, 2017; Sato et. al, 2016). Dit wekt het vermoeden dat het LCHF dieet gunstig kan zijn voor diabetes type II en dat is inderdaad het geval (Brouns, 2017). Bovendien is in meerdere studies gevonden, waaronder een review met 18 studies, dat de bloedsuiker significant lager is en stabiel is ten opzichte van het controle dieet uit tabel 1 (Wycherley et al, 2016; Huntriss, Campbell & Bedwell, 2017). Dit gold ook voor mensen met diabetes type II (Sato et. al, 2016).

Samengevat bestaat het LCHF-dieet voor 41% uit vet, 22% uit koolhydraten, 21% uit eiwitten en 16% uit vezels. Studies laten zeer consequent zien dat er positieve associaties zijn die gunstig zijn voor mensen met diabetes type II of obesitas. Het vermoeden is daarom dat het LCHF dieet in de toekomst een klinische bijdrage kan leveren. Echter is nog niet geheel bekend welk mechanisme hieraan ten grondslag ligt en welke rol het darmmicrobioom hierin speelt. Ook is er nauwelijks onderzocht wat specifiek het LCHF dieet doet met het darmmicrobioom, daarom is er in deze studie gekeken naar het effect van losse elementen uit het dieet, zodat er een inschatting gemaakt kan worden wat het LCHF dieet zou kunnen doen voor mensen met bijvoorbeeld diabetes type II.

3.2 Akkermansia Muciniphila

De eerste gezondheidsmarker is de aanwezigheid van de bacterie *Akkermansia Muciniphila*. Dit is een strikt anaerobe, gramnegatieve bacterie dat mucine⁵ als koolstof-, energie- en stikstofbron gebruikt (Guo et. al, 2017). Bij mensen zonder darmproblematiek vertegenwoordigt *A. Muciniphila* 1 tot 5% van de totale microbiële gemeenschap in het colon en is daarmee een van de meest aanwezige bacteriën (Li et. al, 2016; Guo et. al, 2017). Mensen met darmontstekingsziekten zoals crohn, colitis ulcerosa, chronische diarree en blindedarmontsteking hebben deze bacterie significant minder dan mensen zonder darmontstekingen (Zhu et. al, 2017; Li et. al, 2016; Guo et. al, 2017). Daarnaast zijn er relaties gevonden met lichamelijke ontstekingsziekten zoals reuma, artherosclerose en, net zoals het LCHF dieet, diabetes type II (Song et. al, 2016; Li et. al, 2016; Guo et. al, 2017; Zhu et. al, 2017). *A. Muciniphila* lijkt daarom een rol te spelen in de algehele gezondheid van de mens en is daarom uitgebreid onderzocht voor klinische doeleinde.

In de toekomst wordt bijvoorbeeld verwacht dat een probiotica van *A. Muciniphila* vervanging kan zijn voor medicatie zoals metformin tegen diabetes type II (Song et. al, 2016), evenals bloedverdunders, statines en therapieën tegen CVD in specifieke gevallen (Li et. al, 2016; Zhu et. al, 2017). Probiotica van dit organisme zijn echter nog niet op de markt, omdat *A. Muciniphila* strikt anaeroob is en daardoor moeilijk gekweekt kan worden. Volgens dr. Clara Belzer van de Wageningen Universiteit is dit in de nabije toekomst wel mogelijk, maar tot dit tijd zullen diëten en specifieke levensmiddelen de relatieve aanwezigheid van *A. Muciniphila* positief moeten stimuleren (Mu et. al, 2017).

Het mechanisme

De voordelen van dit organisme houden zich schuil achter twee mechanismen. Ten eerste correleert *A. Muciniphila* merkwaardig genoeg positief met een verdikte darmslijmvlies in het colon, ondanks dat de bacterie mucine afbreekt (Power et. al, 2016). Deze slijm laag is de eerstelijnsdefensie van het afweersysteem en beschermd tegen pathogenen (Power et. al, 2016; Zhu et. al, 2017). De tweede eigenschap is dat *A. Muciniphila* acetaat en propionaat produceert (Power et. al, 2016). Deze korteketenvezuren zijn gunstig voor de gastheer en dienen als brandstof voor andere gunstige bacteriën. Het vermoeden is dat deze twee eigenschappen zorgen voor een minder inflammatoire milieu in en rond de darm dat gunstig is tegen de bovengenoemde ontstekingsziekten (Zhu et. al, 2017; Li et. al, 2016; Guo et. al, 2017).

Dieet-geïnduceerde veranderingen

Welke bacteriën domineren in het microbioom is sterk afhankelijk van het dieet, waaronder dus het LCHF dieet (Mu et. al, 2017). Tot nu toe zijn er nog geen studies beschikbaar waarbij het LCHF dieet wordt getest op de relatieve aanwezigheid van *Akkermansia Muciniphila*. Daarom is een overzicht gemaakt van componenten uit het dieet die mogelijk fysiologische verbeteringen tot stand kunnen brengen in tabel 3. Zowel muis- als mensmodellen zijn gebruikt om het effect van deze dieetcomponenten (links in de tabel) op *A. Muciniphila* te benaderen (zie *fysiologische veranderingen*).

Er is duidelijke consensus dat verzadigde vetzuren de relatieve aanwezigheid van *A. Muciniphila* negatief beïnvloed. Dit geldt ook voor transvetzuren (Singh et. al, 2017b). In de studies is gebruik gemaakt van een gestandaardiseerd dieet dat voor vijftig procent bestaat uit verschillende onverzadigde vetzuren en voor tien procent uit plantaardig vet. De rest van het dieet bestaat uit een mix van verschillende eiwitten en koolhydraten die in alle studies gelijk aan elkaar zijn. Het dieet zorgt voor verhoogde ontstekingsfactoren in en rondom de darm, dat wordt gecorreleerd een verhoogd risico op obesitas, insulineresistentie, diabetes type I en IBS bij zowel muizen als mensen (Guo et. al, 2017).

Onverzadigde vetzuren hebben een omgekeerde werking en, zoals blijkt uit tabel 3, is dit gunstig voor *A. Muciniphila* en de mucusproductie t.o.v. het controle dieet zonder toegevoegde onverzadigde vetzuren ($P < 0,05$).

⁵ Mucine Een slijmachtig eiwit dat onderdeel uitmaakt van het darmslijmvlies (Guo et. al, 2017)

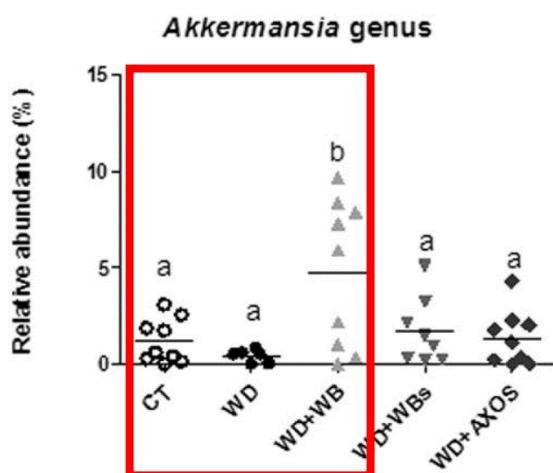
Tabel 3 Effecten van dieetcomponenten op *A. Muciniphila* en fysiologische veranderingen

Factor van invloed	Representatie <i>Akkermansia</i>	Fysiologische veranderingen	Referenties
Verzadigde vetten in dieet (>60%)	↓	↑ (s)IgA in het colon en ↑ serum LPS; verhoogd risico CVD;	Kuda et. al, 2017; Shang et. al, 2017; Singh et. al, 2017a; Villamil et. al, 2017; Zhu et. al, 2017; Rabot et. al, 2016
Toegevoegd <i>onverzadigde</i> vetzuren bij westers dieet (>10%)	↑	↑ mucusproductie	Power et. al, 2016; Singh et. al, 2017b
Koolhydraten (>50%) <i>sucrose, tarwe zetmeel</i>	↑	↑ fermentatie; ↑ korte ketenvetzuren in darm	Mu et. al, 2017; Singh et. al, 2017b
Voedingsvezels (+5%) toegevoegd aan dieet	↑	↑ T_{reg} differentiatie rondom colon; ↑ korte ketenvetzuren	Mu et. al, 2017; Villamil et. al, 2017; Suriano et. al, 2017; Singh et. al, 2017b
Dierlijke proteïne in dieet (>50%)	Geen consensus	Verhoogd risico op IBD; ↑ IGF-1; stimuleert insulineresistentie; ↓ butyraatproductie	Mu et. al, 2017; Wang et. al, 2017a; Singh et. al, 2017b
Plantaardig proteïne in dieet (>50%)	↑	Onderdrukt opname vetweefsel; ↑ korte ketenvetzuren productie	Song et. al, 2016; Singh et. al, 2017b
Polyfenolen toegevoegd (+5%) aan dieet (bonen, cranberry, druivenschil en thee extract)	↑	↓ serum TNF α en ↓ IL-6 (induceert koorts); onderdrukt opname vetweefsel; onderdrukt insulineresistentie	Roopchand et. al, 2016; Shang et. al, 2017; Singh et. al, 2017a; Singh et. al, 2017b

↑ verhoogd, ↓ verlaagd, LPS Lipoproteïne, (s)IgA vrij IgA in darm lumen, CVD Cardiovasculaire aandoeningen, T_{reg} regulatie T-cel subset, IBD prikkelbaar darmsyndroom, IGF-1 Insuline groeifactor hormoon, TNF α ontstekingsfactor, IL-6 Interleukine 6

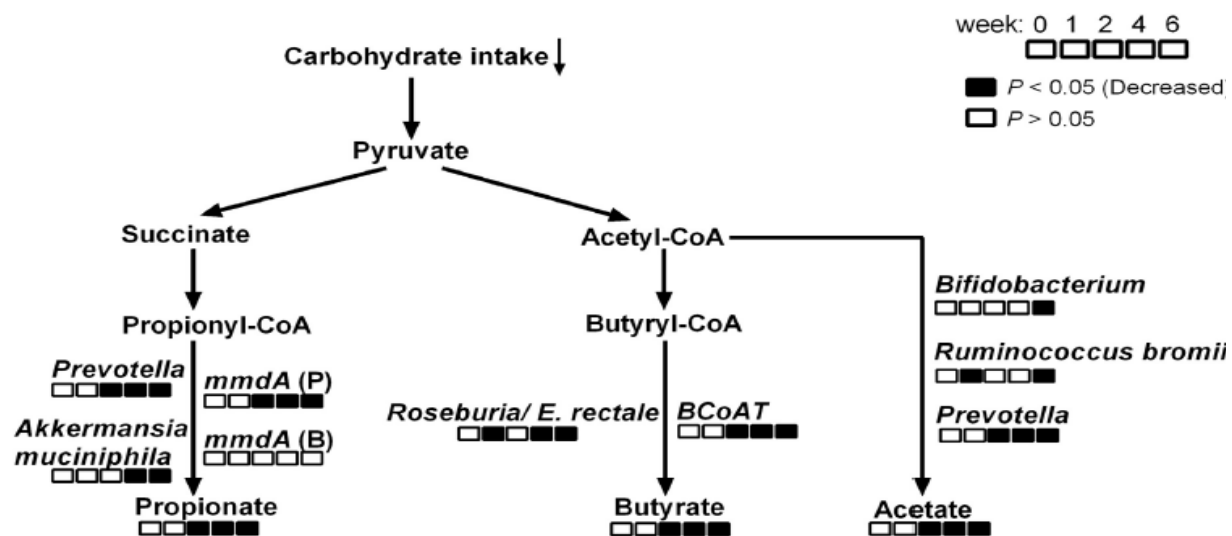
Koolhydraten bestaan uit twee variaties: verteerbaar en onverteerbaar. Verteerbare koolhydraten worden enzymatisch afgebroken tot eenvoudige suikers en voor het grootste deel opgenomen in de dunne darm. Dit dient als energiebron voor de mens. In tabel 3 is te zien dat verteerbare koolhydraten zorgen voor meer (gunstige) korteketenvezuren zoals butyraat dan een dieet dat 5 keer minder koolhydraten heeft (Song et. al, 2016). Dit is ook gebleken uit een mensenstudie (Singh et. al, 2017b).

In tegenstelling tot verteerbare koolhydraten worden onverteerbare koolhydraten niet enzymatisch afgebroken, maar afgebroken door bacteriën in het colon: fermentatie. Microben breken voedingsvezels af tot korteketenvezuren die als energiebron dienen voor zowel het darmepitheel van de gastheer als andere bacteriën in het colon. Dit is niet alleen gunstig voor *A. Akkermansia*, zie Figuur 2, maar er zijn ook significant minder ontstekingsfactoren aanwezig in en rond te darm. (Suriano et. al, 2017; Singh et. al, 2017b)



Figuur 2 Effect westers dieet (WD) en westers dieet + zemelen (WD+WB) op relatieve aanwezigheid van *Akkermansia Muciniphila* t.o.v. van controle dieet (CT) (Suriano et. al, 2017)

Mu et. al heeft onderzocht wat het gevolg is als koolhydraten worden vervangen door een eiwitrijkdiët (+50% eiwitten). Uit figuur 3 is af te lezen dat de eliminatie van koolhydraten binnen drie weken negatieve impact heeft op verschillende korteketenvezuren -butyraat, acetaat, propionaat- en ook dat *A. Muciniphila* hier onder lijdt. (Mu et. al, 2017)



Figuur 3 Samenvatting van tijdelijke inpak koolhydraten op darmmicrobiota. De blokjes geven tijd in weken aan, waarbij de zwarte blokjes indiceren of het eiwitrijkdiët significant verminderd dan een eiwitarm diët ($P > 0,05$) (Mu et. al, 2017).

Een vergelijkbare studie vond echter andere resultaten. Bij de muizen uit de studie werd meer verzadiging gemeten, meer vetverlies en bovendien een verhoging van (enkel) *A. Muciniphila* (Wang et. al, 2017a). De verklaring is dat beide studies testte op een eiwitrijkdiët, maar de controle van Wang et. al is een (verzadigd) vetrijkdiët in plaats van een koolhydraatrijkdiët. Het is daarom de vraag of de resultaten van Wang et. al tot stand zijn gekomen doordat eiwitten goed zijn, of dat overmatig verzadigd vet eten slecht is.

Singh et. al toonde in een review ($n=24$) aan dat een eiwitrijkdiët over het algemeen zorgt voor gewichtsverlies, maar dat gunstige veranderingen in het darmmicrobioom afhankelijk zijn van het type eiwit en de matrix waarin het eiwit zich verhoudt. Trimethylamine-N-oxide is bijvoorbeeld een metaboliet van eiwitten uit rood vlees dat wordt geassocieerd met verhoogd risico op CVD en mogelijk de microbiota beïnvloed. Verder is de matrix van dierlijke eiwitten vaker vetrijk, terwijl de matrix van plantaardige eiwitten vaker vezelrijk is. In een studie waarin de eiwitten vergeleken worden, blijkt ook dat plantaardige eiwitten gunstiger zijn voor *A. Muciniphila* dan dierlijke eiwitten (Song et. al, 2016). Daarbij verhoogt het risico op kanker, hartfalen en diabetes type II significant door dierlijk eiwitten in een muizenstudie. (Singh et. al, 2017b)

Een ander voordeel van plantaardige eiwitten ten opzichte van dierlijke, is dat plantaardige eiwitten vaak rijk zijn aan polyfenolen, net zoals verschillende vruchten, zaden, thee en wijn. Naast dat polyfenolen anti-oxidatief zijn, stimuleert het ook de groei van *A. Muciniphila* (Roopchand et. al, 2016; Shang et. al, 2017; Singh et. al, 2017a; Singh et. al, 2017b). Uiteraard brengt dit verschillende gezondheidsvoordelen met zich mee, zoals te zien is in Tabel 3.

In het kort heeft *A. Muciniphila* een symbiotische relatie met de mens en is het een belangrijke schakel in het darmmicrobioom (Guo et. al, 2017). De relatieve aanwezigheid van *Akkermansia Muciniphila* in het colon is sterk afhankelijk van het dieet, zoals is verwerkt in tabel 3 (Mu et. al, 2017). Meerdere studies tonen aan dat componenten in het dieet verschillende fysiologische verbeteringen tot stand kunnen brengen en dat heeft voordelen voor mensen met crohn, colitis ulcerosa, chronische diarree, en mensen met ernstig overgewicht ($BMI \geq 30$) (Guo et. al, 2017; Li et. al, 2016; Zhu et. al, 2017; Li et. al, 2016; Guo et. al, 2017). Het is echter sterk de vraag of het LCHF dieet hieraan kan bijdrage, omdat bijvoorbeeld koolhydraten positief correleren met *A. Muciniphila*, terwijl koolhydraten nauwelijks deel uitmaken van het dieet. Het vermoeden is daarom dat het LCHF dieet niet bijdraagt aan een verhoogde relatieve aanwezigheid van *A. Muciniphila*.

3.3 Verhouding Firmicutes/Bacteroidetes in het colon

Het darmmicrobioom wordt gekoloniseerd door zes *fyla* (Koliada et. al, 2017). Een fyllum is een taxonomische onderverdeling van het bacterierijk dat classificeert op bouwplan en gemeenschappelijke voorouder. Momenteel zijn er 29 *fyla* vastgesteld waarvan er twee domineren in de darmen van zoogdieren: *Firmicutes* en *Bacteroidetes*. Daarnaast zijn vier *fyla* verantwoordelijk voor circa tien procent van het darmmicrobioom, namelijk: *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* en *Verrucomicrobia* (Cândido et. al, 2018; Koliada et. al, 2017; Nakayama et. al, 2017; Barczynska et. Al, 2015).

Hoe de *Firmicutes* zich verhoudt tot de *Bacteroidetes* heeft impact verschillende processen in het lichaam (Cândido et. al, 2018; Koliada et. al, 2017). Uit een kleine studie (n=7) is bijvoorbeeld gebleken dat darmbacteriën van dikke kinderen voor ruim 50% afkomstig zijn van het fyllum *Firmicutes*, ten opzichte van circa 35% bij dunne kinderen (Barczynska et. Al, 2015). Vergelijkbare resultaten zijn gevonden in een grotere mensstudie, zie tabel 4, en in diermodellen (Cândido et. Al, 2018; Liu et. al, 2016)

Tabel 4 Relatieve aanwezigheid van ieder fyllum binnen vier BMI-categorieën (Koliada et. al, 2017).

Phylum	BMI category				p
	<18.5	18.5-24.9	25-29.9	≥30	
Actinobacteria	5 (3-6)	6 (4-9)	6 (3.5-8)	6 (4-11)	.707
Firmicutes	35 (22-37)	32 (29-43)	48 (33-56)	52 (36-56)	.010
Bacteroidetes	47 (35-54)	42 (34-46)	38 (29-47)	33 (25-38)	.016
F/B	0.7 (0.6-0.7)	0.8 (0.7-1.0)	1.3 (0.7-2.0)	1.6 (1.1-2.2)	.005

Cross-sectioneel onderzoek (n= 61) waarbij willekeurig geselecteerde mensen opgedeeld zijn in 4 BMI-categorieën: <18,5 (n=7); 18,5-24,9 (n=27); 25-29,9 (n=16); ≥30 (n=11). Per categorie is op een moment fecesonderzoek gedaan en gekeken naar de relatieve verhouding tussen drie *fyla*. Er is gecorrigeerd op leeftijd, geslacht, fysieke activiteit en roken.

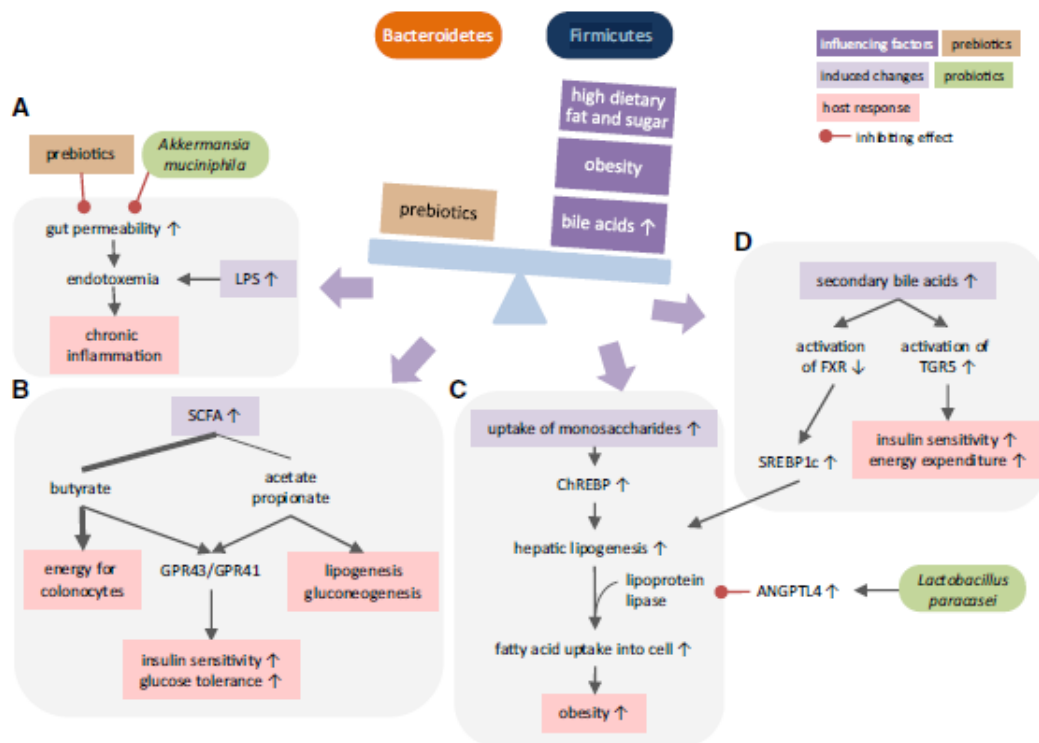
Uit de tabel is af te lezen dat er een duidelijk lineaire correlatie is tussen BMI en de *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) ratio. Bij mensen met een F/B ratio groter dan 1 wordt gemiddeld 23% vaker overgewicht waargenomen dan bij mensen met een ratio kleiner dan 1 (Koliada et. al, 2017).

Verder is uit de tabel af te lezen relatieve aanwezigheid van het fyllum *Actinobacteria* onveranderd blijft, onafhankelijk van de BMI, maar dat de relatieve aanwezigheid voor *andere fyla* wel veranderd: respectievelijk 13% bij BMI <18.5, 20% bij BMI 18.5-24.9, 8% bij BMI 25-29.9 en 7% bij BMI ≥30. Dit bevestigt de aanname uit het vorige hoofdstuk dat *A. Muciniphila*, afkomstig uit het fyllum *Verrucomicrobia*, minder aanwezig is bij mensen met overgewicht. Deze resultaten zijn ook gevonden in diermodellen (Cândido et. Al, 2018; Liu et. al, 2016).

Naast de correlatie met obesitas, zijn er relaties met IBS en de ziekte van Crohn. Mensen met IBS of Crohn hebben, zoals in het geval van obesitas, een significant *verhoogde F/B ratio* (Wilson & Whelan, 2017). Verder zijn er associaties gevonden met een verhoogde F/B ratio en darmkanker (Weiss & Hennet, 2017).

Het Mechanisme

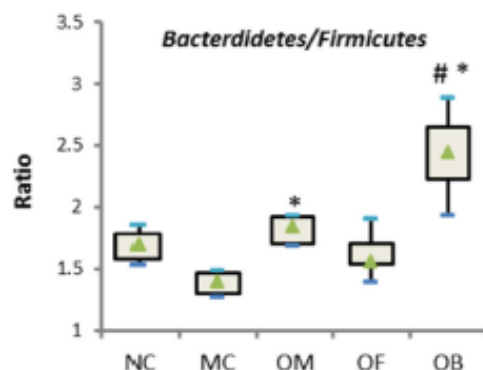
Het mechanisme dat mogelijk ten grondslag ligt aan de gevolgen van relatief meer *Firmicutes* is weergegeven in figuur 4. Bovenaan de figuur is de balans tussen *Firmicutes* en *Bacteroidetes* geïllustreerd op een weegschaal. Prebiotica, waaronder vezels, zorgen voor relatief meer *Bacteroidetes*, terwijl verzadigde vetten, suiker, obesitas en galzuur zorgen voor relatief meer *Firmicutes* in het colon. In de figuur is weergegeven dat een verhoogde F/B ratio zorgt voor verhoogd serum LPS dat afkomstig is van bacteriën (A). LPS kan via het colon in het bloed terecht komen en zorgen voor een ontstekingsreactie. Dit verhoogt het risico op chronische inflammatie en de ernst van inflammatoziekten in de darm zoals IBS, Crohn en andere inflammatoziekten zoals reuma (Weiss & Hennet, 2017). Verder verhoogt het de opname van korte ketenvetzuren (B) en monosacharide (C) door de gastheer, dit zorgt voor een complexe eiwitcascade in de lever. De eiwitten zorgen o.a. voor verhoogde vetopnamen door vetweefsel dat het risico op obesitas verhoogd (Weiss & Hennet, 2017; Dong et. al, 2016). Ten slotte worden er meer (secundaire) metabolieten gefermenteerd uit galzuur door *Firmicutes* bacteriën (D). Ook deze metabolieten zorgen voor een verhoogde vetweefselopname en daarnaast verhoogde insulinegevoeligheid (Weiss & Hennet, 2017).



Figuur 4 Consequenties van dieet-geïnduceerde disbalans tussen Firmicutes en Bacteroidetes (Weiss & Henne, 2017). Obesitas, verzadigd vet- en suikerinname en verhoogd galzuur verhogen de F/B ratio. Dit beïnvloedt chronische ontstekingen en metabole veranderingen. LPS van bacteriën (a), kortketenvetzuren (b), verhoogde suikeropname (c) en secundaire galmetabolisme zijn de voornaamste oorzaken van deze veranderingen

Dieet geïnduceerde veranderingen

Alle dieet-geïnduceerde veranderingen zijn overzichtelijk weergegeven in tabel 5. In de tabel is te zien dat verzadigde vetzuren in het dieet de relatieve aanwezigheid van *Firmicutes* verhoogd, in tegenstelling tot onverzadigde vetzuren (Cândido et. al, 2018). Bovendien verlaagd de diversiteit van het microbioom onder invloed van verzadigde vetzuren dat geassocieerd wordt met verschillende ziekten (Cândido et. al, 2018). Volgens Weiss & Henne zouden ook koolhydraten de relatieve aanwezigheid van *Firmicutes* verhogen, echter hebben twee andere studies geen significante veranderingen waargenomen (Li et. al, 2017; Cândido et. al, 2018). Onverteerbare koolhydraten daarentegen zorgen wel voor een verlaagde relatieve aanwezigheid van *Firmicutes* (Cândido et. al, 2018; Dong et. al, 2016; Wilson & Whelan, 2017; Li et. al, 2017). Opmerkelijk genoeg is uit een muizenstudie (n=80) gebleken dat gemalen havervezels geen significant effect heeft op de F/B ratio ten opzichte van ongemalen haver, zie figuur 5. Haver waarvan ook het kaf niet verwijderd is, heeft een extra positief effect op de relatieve aanwezigheid van *Bacteroidetes*.



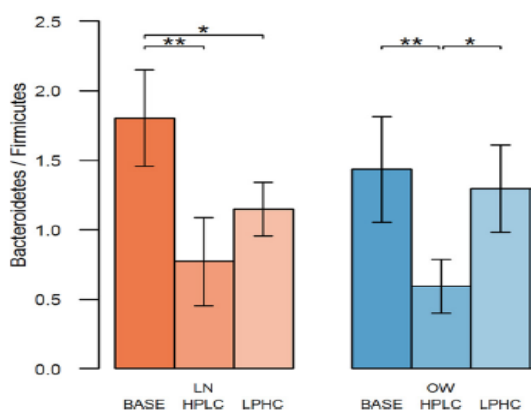
Figuur 5 Relatieve aanwezigheid van *Bacteroidetes* en *Firmicutes* na 8 weken (Dong et. al, 2016) NC normaal dieet, MC Model controle, OM havermout, OF haverbloem, OB haverzemelen, # significant verschil met NC groep, * significant verschil met MC groep

Tabel 5 Effecten van dieetcomponenten op F/B ratio en fysiologische veranderingen

Factor van invloed	F/B ratio	Fysiologische veranderingen	Referenties
Verzadigde vetten in dieet (>60%)	↑	↓ diversiteit in het colon,	Barczynska et. al, 2015; Cândido et. al, 2018; Weiss & Hennet, 2017; Dong et. al, 2016; Koliada et. al, 2017; Liu et. al, 2016
Toegevoegd transvetten (>5%)	↑	Significante toename vetweefsel	Cândido et. al, 2018
Toegevoegd onverzadigde vetzuren bij westers dieet (>10%)	↓	Significant verlaagde F/B ratio zonder gewichtsverlies	Cândido et. al, 2018
Koolhydraten (>50%) <i>sucrose</i> , <i>tarwezetmeel</i>	-	Geen toename <i>Firmicutes</i> of <i>Bacteroidetes</i> , ↑ korte ketenvetzuren in het colon	Li et. al, 2017; Cândido et. al, 2018; Weiss & Hennet, 2017
Voedingsvezels (+5%) toegevoegd aan dieet	↓	↑ korte ketenvetzuren in het colon	Cândido et. al, 2018; Dong et. al, 2016; Wilson & Whelan, 2017; Li et. al, 2017
Dierlijke proteïne in dieet (>50%)	Geen consensus	Significante afname <i>Bacteroidetes</i>	Li et. al, 2017
Plantaardig proteïne in dieet	Geen resultaten	-	-
Polyfenolen toegevoegd (+5%) aan dieet	Geen veranderingen	↓ eetlust en gemiddeld gewicht	Huang et. al, 2016; Cândido et. al, 2018

↑ verhoogd, ↓ verlaagd,

De effecten van verschillende eiwitten zijn onduidelijk. Er is enkel een studie gedaan bij honden en dierlijke eiwitten, zie figuur 6. Dunne honden en honden met overgewicht kregen een eiwitrijk (50%) of eiwitarm (28%) dieet toegereikt en dat werd vergeleken met een 'normaal' dieet. Het is onbekend wat de afkomst is van deze eiwitten. Uit de studie blijkt dat zowel het eiwitrijke als eiwitarme dieet de relatieve aanwezigheid van *Bacteroidetes* verlaagd ten opzichte van *Firmicutes* bij allebei de hondengroepen (Li et. al, 2017). Ten slotte zijn er twee studies gedaan met verschillende polyfenolen. In tegenstelling tot de positieve invloed op *A. Muciniphila*, is er geen effect gevonden op de F/B ratio (Huang et. al, 2016; Cândido et. al, 2018)



Figuur 6 Effect van eiwitrijk en eiwitarm dieet op B/F ratio bij honden (Li et. al, 2017)
LN ondergewicht, OW overgewicht, BASE controle dieet, HPLC Eiwitrijkdiet, LPHC Eiwitarm dieet

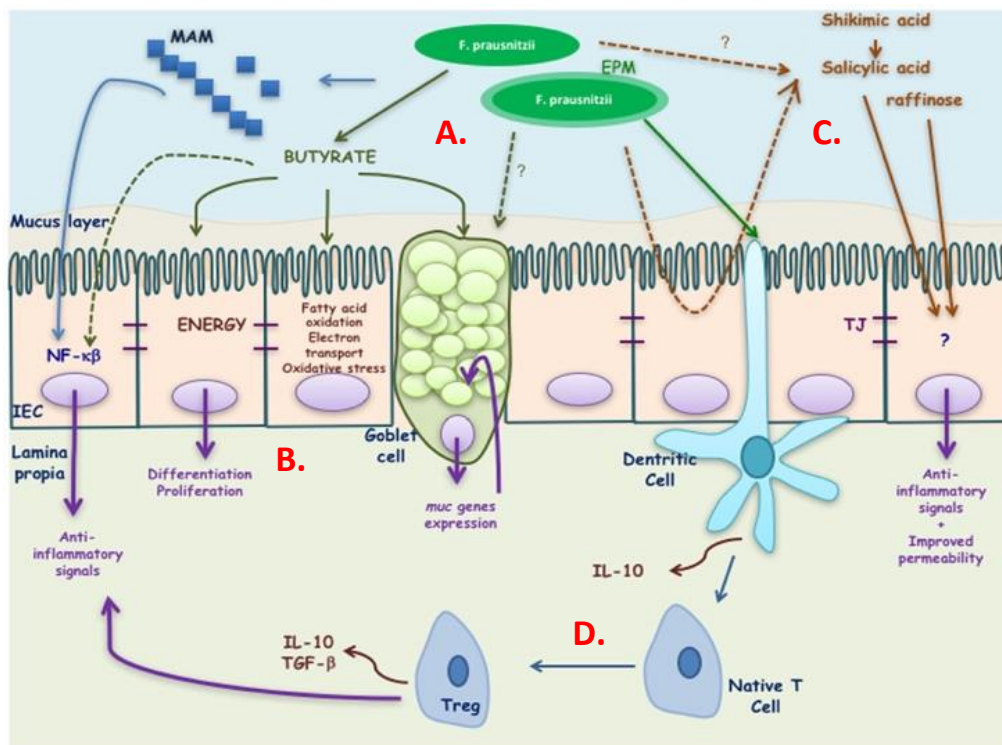
Samengevat is het belangrijk dat mensen met overgewicht voldoende vezels eten en verzadigde vetzuren vermijden om zo de *Firmicutes*/*Bacteroidetes* ratio onder 1 te houden, omdat een F/B ratio van >1 geassocieerd wordt met obesitas (Koliada et. al, 2017; Cândido et. al, 2018; Liu et. al, 2016). Dit geldt ook voor prikkelbaar darmsyndroom, crohn en darmkanker (Wilson & Whelan, 2017; Weiss & Hennet, 2017). De resultaten van tabel 5 wekken daarom de indruk dat het LFHC dieet in potentie een positieve bijdrage kan leveren aan mensen met darm-gerelateerde problematiek, mits er voldoende vezels voorkomen in het dieet en verzadigd vet niet overmatig wordt gegeten.

3.4 *F. Prausnitzii* en butyraatproductie

De een na laatste marker is een bekende *Firmicutes* bacterie die een sleutelrol vertolkt in het microbioom: *Faecalibacterium Prausnitzii*. Dit organisme is een van de meest aanwezige butyraat producerende bacteriën in het darmmicrobiom die een belangrijke rol speelt in darmhomeostase (Martin, Bermudez & Lengella, 2018; El Hage, Hernandez & Van de Wiele, 2017). Afwezigheid van deze bacterie wordt geassocieerd met prikkelbaar darmsyndroom, darmkanker, obesitas, coeliakie, diabetes type II en ouderdom (Martin, Bermudez & Lengella, 2018; Manukka et. al, 2017; Ferreira-Halder et. al, 2017; Gao et. al, 2018). De voordelige effecten van *F. Prausnitzii* zijn grotendeels toe te wijden aan de laatste gezondheidsmarker butyraat, zie figuur 7 (A). Butyraat is een korteketenvetzuur dat als energiebron dient voor darmepitheelcellen en andere omringende bacteriën zoals *Bifidobacterium*. Daarnaast onderdrukt het oxidatieve stres en inflammatie in het darmepitheel (B). Naast butyraat produceert *F. Prausnitzii* salicylzuur, shikiminezuur, raffinose, ontstekingsremmende stoffen (MAM's) en tot tien andere stoffen die niet onbelangrijk zijn (C). Deze stoffen zijn precursors voor stoffen met anti-inflammatoire eigenschappen, stimuleren mucusproductie en/of verstevigen de *tight junctions* (TJ) tussen darmepitheelcellen (Manukka et. al, 2017; Ferreira-Halder et. al, 2017). Ten slotte zorgen deze stoffen, inclusief butyraat, voor T_{reg}-celproliferatie (D). Deze T-cellen zijn significant minder aanwezig bij mensen met inflammatieziekten zoals prikkelbaar darmsyndroom (Ferreira-Halder et. al, 2017). Het vermoeden is daarom dat *F. Prausnitzii* hier een rol in speelt en net zoals *A. Muciniphila* medicatie zou kunnen vervangen in specifieke gevallen als probiotica (El Hage, Hernandez & Van de Wiele, 2017).

F. Prausnitzii is een zeer weerbare bacterie die nauwelijks door dieetfactoren wordt beïnvloed (Martin, Bermudez & Lengella, 2018; Gao et. al, 2018). Enkel zeer vetrijke diëten en onvoldoende essentiële nutriënten zorgen voor een relatief lagere aanwezigheid van *F. Prausnitzii* (Manukka et. al, 2017; Lopez-Siles et. al, 2017; Noriega et. al, 2016; Heinritz et. al, 2016). Dit komt doordat het organisme bijna alle soorten koolhydraten en aminozuren fermenteert die in het colon terechtkomen en daardoor grotendeels onafhankelijk is van het dieet zolang de gastheer voldoende eet (Belzer et. al, 2017; Lopez-Siles et. al, 2017; El Hage, Hernandez & Van de Wiele, 2017). Hierdoor kan de relatieve aanwezigheid van *F. Prausnitzii* binnen vier weken hersteld zijn middels een koolhydraat- en vitaminerijk dieet (Noriega et. al, 2016).

Butyraatproductie door andere bacteriën is meer afhankelijk van diëten en verhoogd met name door een vezelrijkdieet, omdat butyraat wordt omgezet uit vezels (Pham et. al, 2017; Martin, Bermudez & Lengella, 2018; El Hage, Hernandez & Van de Wiele, 2017).



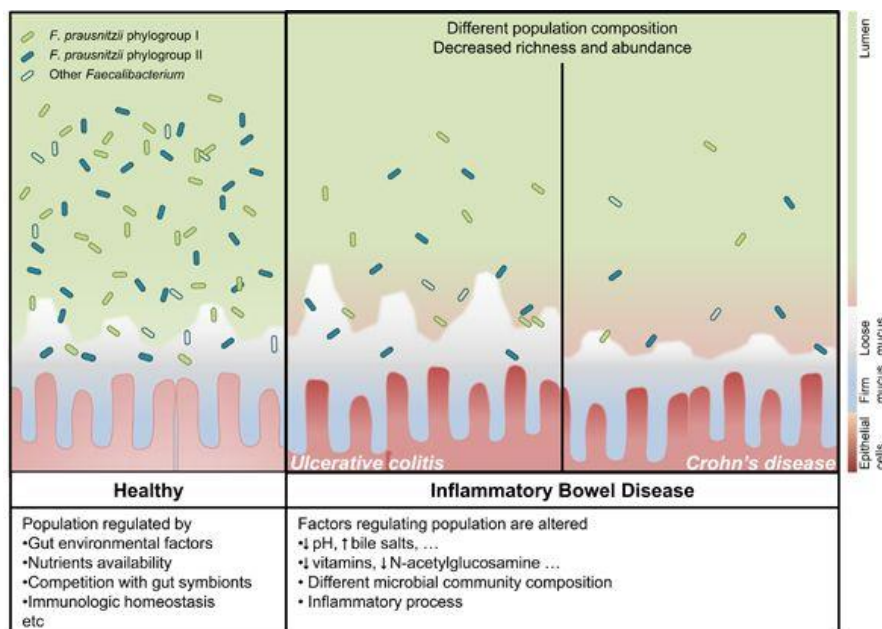
Figuur 7 Het effect van *F. Prausnitzii* op het darmepitheel van de gastheer (Martin, Bermudez & Lengella, 2018)

Dieet-onafhankelijk effecten

Desondanks hebben mensen met overgewicht, crohn, darmkanker en andere darmaandoeningen, onafhankelijk van dieet, significant minder *F. Prausnitzii* in het colon en minder butyraatfermentatie (Gao et. al, 2018). Er zijn dus andere factoren die de relatieve aanwezigheid van *F. Prausnitzii* onderdrukken. Deze factoren zijn een zuur milieu, omringende darmbacteriën, onvoldoende essentiële nutriënten en ontstekingen, zoals is geïllustreerd in figuur 8. Links in de figuur is te zien hoe een 'gezond' darmmicrobioom eruit ziet, namelijk een dik darmslijmvlies, voldoende nutriënten, normale competitie met andere gunstige bacteriën en een stabiel milieu in het colon. Rechts is te zien dat bij colitis ulcerosa en crohn de pH waarde laag is en er onvoldoende nutriënten zijn. Als gevolg daar van zijn er meer ongunstige omgevingsbacteriën en meer ontstekingsfactoren aanwezig (Gao et. al, 2018).

De ideale pH-waarde van het lumen zou tussen de 5,7 en 6,7 moeten zijn. Bij een pH-waarde lager dan 3,5 is het voor *F. Prausnitzii* onmogelijk om te kunnen groeien. Dit is iets dat veel voorkomt bij crohn patiënten door extra galzuurproductie (Lopez-Siles et. al, 2017). Verder onderzoek is echter nog nodig om vast te stellen of dit vermoeden klopt.

Andere bacteriën kunnen op twee manieren invloed hebben op *F. Prausnitzii*. Allereerst zijn er bacteriën die het zuurstofgehalte verhogen in het colon, waardoor de groei van *F. Prausnitzii* beïnvloed wordt (Lopez-Siles et. al, 2017). Het is echter nog onduidelijk wat hier tegen gedaan kan worden. Ten tweede concurreren bacteriën met *F. Prausnitzii* voor nutriënten of overleven beter bij een te lage/hoge pH (Noriega et. al, 2016).



Figuur 8 *F. Prausnitzii* in gezonde toestand (links) en bij prikkelbaar darmsyndroom (rechts) (Lopez-Siles et. al, 2017)

Net als de andere twee gezondheidsmarkers worden ook *F. Prausnitzii* en butyraatproductie geassocieerd met prikkelbaar darmsyndroom, darmkanker, obesitas en diabetes type II. In tegenstelling tot de andere gezondheidsmarkers is *F. Prausnitzii* minder gevoelig voor voedingseffecten, behalve voor hoge hoeveelheden vet. Het gaat hierbij om zowel verzadigd als onverzadigde vetzuren. Onafhankelijk van de bacterie *F. Prausnitzii* beïnvloed een vezelrijkdieet de butyraatproductie positief. Het vermoeden is dat het LCHF dieet geen voordelig effect zal hebben op *F. Prausnitzii*, omdat het dieet zeer vetrijk is, echter is de bacterie relatief ongevoelig voor dieetinterventies zolang de pH goed is en er voldoende essentiële nutriënten beschikbaar zijn. Butyraatproductie is vooral gevoelig voor vezels en moet daarom binnen het LCHF dieet voldoende beschikbaar zijn.

4. Discussie

Het doel van deze scriptie was om te onderzoeken wat het effect is van het Low Carb-High Fat dieet op geassocieerde ziekte en welke rol het darmmicrobioom hier mogelijk in kan spelen. Met name mensen met diabetes type II, overgewicht en cardiovasculaire aandoeningen kunnen baat hebben bij deze informatie, omdat zij op basis van deze informatie het dieet kunnen aanpassen voor klinische doeleinden.

De hoofdvraag: “Wat is er bekend over het effect van het Low Carb-High Fat dieet op vier gezondheidsmarkers van het darmmicrobioom?” is opgedeeld in vier markers waarvan afgeleid kan worden of het LCHF dieet positieve effecten heeft op het darmmicrobioom. Het gaat om de aanwezigheid van de bacterie *Akkermansia muciniphila*, de verhouding tussen de bacteriegroepen *Bacteroidetes* en *Firmicutes*, de aanwezigheid van de bacterie *Faecalibacterium prausnitzii* en de mate van butyraatfermentatie. De verwachting was dat veranderingen van deze gezondheidsmarkers verantwoordelijk zijn voor de voordelen van het LCHF dieet. Het gaat hierbij om gewichtsverlies, verbeterde insulinegevoeligheid, verlaagd serum insuline en verbeterde bloedsuiker homeostase.

Om het effect van dit dieet te bepalen is gebruik gemaakt van bestaande literatuur uit elektronische databanken. Allereerst is gekeken wat het dieet precies inhoudt. Uit het onderzoek bleek dat het LCHF dieet bestaat uit circa 25% koolhydraten (waarvan 20% vezels), circa 25% eiwitten en circa 50% vetten (waarvan de helft onverzadigde vetzuren). Hoe de koolhydraten worden vervangen wordt in het midden gelaten, het gaat vooral om de eliminatie van koolhydraten.

Vervolgens is gekeken naar dieet-geïnduceerde effecten op de vier gezondheidsmarkers. De belangrijkste resultaten uit deze studie zijn dat verzadigde vetzuren en dierlijke eiwitten negatief correleren met de vier gezondheidsmarkers. Koolhydraten en met name vezels daarentegen worden positief geassocieerd met de vier markers. Dit geldt ook voor onverzadigde vetzuren, eiwitten en polyfenolen van plantaardige afkomst. Doordat koolhydraten gedeeltelijk worden vervangen door vetten en eiwitten van dierlijke afkomst, wekt dit het vermoeden dat de voordelen van het Low Carb-High Fat dieet niet toe te wijden zijn aan de effecten op het darmmicrobioom. Dit betekent dat het LCHF dieet niet voldoet aan de verwachting.

De onderzoeksmethode

Om de hoofd- en deelvragen te beantwoorden is een systematische literatuurstudie gedaan. Hierbij is bestaande literatuur en hun bevindingen geanalyseerd en samengevat tot één review. Deze methode heeft een aantal discussiepunten naar voren gebracht, omdat er binnen de studie een aantal beperkingen zijn en tegenstrijdigheden.

Om te beginnen is er nog relatief weinig data beschikbaar over het LCHF. De huidige bevindingen laten voordelige associatie zien, maar tonen nog niet aan dat het dieet klinische implicaties kan hebben (Giugliano, et al., 2018; Hall, 2017; Brouns, 2018; Sato et al. 2016). Dit komt grotendeels doordat er nog te weinig lange termijn data beschikbaar is (Mu et al., 2017) en bovendien zijn conclusies getrokken uit relatief kleine groepen met veel ‘drop-outs’ doordat het dieet zeer intensief is (Brouns, 2018).

Verder is er weinig bekend over het effect op het darmmicrobioom door het LCHF dieet. Er is daarom ook voor gekozen om te kijken naar algemene dieet-geïnduceerde veranderingen, zodat deze data vergeleken kan worden met het LCHF dieet. Echter gaat dit wel ten kosten van de validiteit.

Verder bestaat er niet één LCHF dieet. Het dieet pleit enkel voor minder koolhydraten en meer vet, maar geeft geen dieetrichtlijnen. Dit laat voor onderzoekers ruimte over voor speculaties als het gaat om de invulling van het dieet. Hierdoor kunnen betrekkelijk ongezondere producten verkozen worden boven de koolhydraatrijke levensmiddelen. Een voorbeeld is rood vlees dat in grotere hoeveelheden het risico op vormen van kanker, obesitas en darmproblematiek significant verhoogd in verschillende cohorten (n=52) (Yip, Lam & Fielding, 2018), terwijl er ook gekozen kan worden voor gevogelte, vis of eiwitten van een plantaardige bron, waar deze relaties niet mee gevonden zijn.

Ook zijn er binnen het dieet veel soorten fruit niet meer toegestaan, dus wat betekent dit voor de vitamine- en vezelinname? Zinn, Rush en Johnson hebben daarom twee LCHF diëten getest bij een populatie uit Australië op micronutriënten. Dieet 1 bevatte minder dan 10% verzadigd vet en dieet 2 bevatte verzadigd vet zonder begrenzing. Beide diëten bestonden voornamelijk uit groenten, melkproducten, zaden, bessen en vlees of vis. Na het onderzoek voldeden beide diëten voor 86%–98% aan de algemene voedingsrichtlijnen van Australië

voor zowel mannen als vrouwen en daarnaast aan de eisen zoals beschreven in tabel 1 (Zinn, Rush & Johnson, 2017). De enige aantekening was dat dieet 2 de algemene dagelijkse hoeveelheid voor verzadigde vetzuren gematigd oversteeg. Het is in ieder geval mogelijk om met het LCHF dieet te voldoen aan de aanbevolen richtlijnen voor micronutriënten.

Een laatste beperking van het onderzoek is dat er per deelvraag niet evenveel literatuur beschikbaar was. Dit komt gedeeltelijk doordat een groot deel -circa 50 artikelen- niet bruikbaar was, omdat er getest werd met zeer eenzijdige diëten. Een voorbeeld is een dieet dat voor 50% bestaan uit caseïne en wordt vergeleken met een 40% botervetdieet. Dit is geen natuurgetrouwe reflectie van de werkelijkheid en hierdoor kunnen verkeerde conclusies getrokken worden.

Verder is over *A. Muciniphila* relatief veel bekend in tegenstelling tot *F. Prausnitzii* en de *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio. Over butyraat is overigens wel veel bekend, maar studies die *enkel* over butyraat gaan zijn beperkt. Dit heeft er toe geleid dat sommige deelvragen breder uitgewerkt zijn dan andere deelvragen. Desondanks heeft de kwaliteit van de studie hier niet onder geleden.

Naast beperkingen zijn er ook tegenstrijdigheden gevonden in het onderzoek. In tabel 3 is er bijvoorbeeld geen consensus of eiwitten van dierlijke afkomst een positief of negatief effect hebben op de relatieve aanwezigheid van *A. Muciniphila*. Bij een studie werd een eiwitrijk dieet positief geassocieerd met *A. Muciniphila* ten opzichte van een koolhydraatrijk dieet (Wang et. al, 2017a), in tegenstelling tot een twee andere onderzoeken die ondervonden dat een eiwitrijk dieet negatief wordt geassocieerd met de bacterie (Song et. al, 2016; Singh et. al, 2017b). De verklaring is dat zowel Song et. al als Singh et. al, in tegenstelling tot Wang et. al, gebruik maakte van relatief veel rood vlees in het dieet. Het vermoeden is dat de bijkomende verzadigde vetzuren uit vlees de reden zijn voor deze resultaten (Singh et. al, 2017b). Interessant genoeg worden de negatieve effecten van rood vlees op *A. Muciniphila* teniet gedaan door extra toegevoegde vezels aan het dieet (Suriano et. al, 2017). Dat brengt ons bij het volgende discussiepunt: gezondheid is complex.

Gezond zijn en blijven is complex

De ziekten die in deze studie benoemd zijn, zijn multifactorieel en het darmmicrobioom is daarom slechts één speler in een veel groter geheel. Bovendien is het darmmicrobioom op zichzelf ook een complex ecosysteem, dat door verschillende factoren wordt beïnvloed. Dit leidt ertoe dat ziekten zoals diabetes type II, obesitas, darmaandoeningen en cardiovasculaire ziekten ook te maken hebben met meer dan één factor.

Diabetes type II is bijvoorbeeld een lifestyle ziekte dat negatief wordt beïnvloed door onvoldoende beweging, insuline ongevoeligheid, te veel stres, genetica (Hackett & Steptoe, 2017) en er zijn relaties gevonden met vasculaire aandoeningen (Knapp, Tu & Wu, 2018) en vormen van dementie (Biessels & Despa, 2018). Het zelfde geldt voor obesitas en CVD dat net als diabetes type II sterk afhankelijk is van lifestyle, hormoonhuishouding en genetica (Pan & Myers Jr, 2018).

Verder kan in twijfel gebracht worden of koolhydraten in algemene zin daadwerkelijk het risico op obesitas, diabetes type II of CVD verhogen. Er is bijvoorbeeld een 'blue zone'⁶ gemeenschap in Japan waar het dieet gemiddeld uit ruim 60% koolhydraten bestaat (Brouns, 2018). Het dieet van deze gemeenschap karakteriseert zich echter wel met een hoog vezelpercentage tegenover weinig verzadigde vetzuren, doordat het grotendeels bestaat uit zoete aardappel, zeewier en lokale vruchten: een koolhydraatrijk dieet met een hoge levensverwachting. De resultaten uit tabel 3, 5 en figuur 7 doen vermoeden dat de vier gezondheidsmarkers positief beïnvloed zullen worden door dit dieet, omdat het rijk is aan vezels en eiwitten van plantaardige afkomst. Wellicht ligt het probleem niet bij koolhydraten, maar bij de kwaliteit van de koolhydraten. Giugliano et. al, die een review schreven over het LCHF dieet, zien daarom weinig winst in het drastisch aanpassen van de leefstijl, terwijl ook kleine veranderingen zoals vezelrijker eten, grote veranderingen kunnen hebben (Giugliano, et al., 2018).

⁶ Blue zone Afgebakend gebieden waarvan de bevolking een specifieke levensstijl en leefomgeving deelt en waar de mensen meetbaar langer leven

5. Conclusie

Het darmmicrobioom heeft een zeer directe invloed op de homeostase van de mens en is daarbij van belang voor optimale gezondheid. Dit heeft te maken met haar ontstekingsremmende eigenschappen en verschillende energierijke producten die het produceert die voordelig zijn voor de gastheer. Door deze eigenschappen wordt het darmmicrobioom, net zoals het Low Carb-High Fat (LCHF) dieet, positief geassocieerd met onder meer diabetes type II, obesitas en het risico op cardiovasculaire aandoeningen. Mogelijk is er ook een relatie tussen het LCHF dieet en het darmmicrobioom. Daarom is er vanuit het werkveld de wens om te onderzoeken wat het effect is van LCHF op het darmmicrobioom met als doel om te achterhalen wat dit betekent voor diabetici, mensen met overgewicht of cardiovasculaire aandoeningen.

Om 'het effect op darmmicrobioom' te specificeren is gefocust op vier gezondheidsmarkers uit de darm: 1. de aanwezigheid van de bacterie *Akkermansia Muciniphila*, 2. de verhouding tussen de bacteriegroepen *Bacteroidetes* en *Firmicutes*, 3. de aanwezigheid van de bacterie *Faecalibacterium Prausnitzii* en 4. de mate van butyraatfermentatie. Deze markers tonen aan of een dieet zoals LCHF een positief of negatief effect heeft op de algemene gezondheid van het darmmicrobioom. De gezondheidsmarkers zijn uiteindelijk getest op algemene dieetinvloeden waaronder verschillende soorten vetzuren, koolhydraten en eiwitten.

5.1 Akkermansia Muciniphila

A. Muciniphila degradeert mucine en produceert acetaat en propionaat. Deze eigenschappen zorgen naar alle waarschijnlijkheid voor een verdikt darmslijmvlies en een minder inflammatoir milieu in en rond de darm. Dit is voordelig voor mensen met verschillende ontstekingsziekten, diabetes type II en obesitas. Er is duidelijke consensus dat verzadigde vetzuren een negatieve relatie en koolhydraten, vezels in het bijzonder, een positieve relatie heeft met de relatieve aanwezigheid van *A. Muciniphila*. Het vermoeden is daarom dat het LFHC dieet niet bijdraagt aan een verhoogde relatieve aanwezigheid van *A. Muciniphila*.

5.2 Ratio Firmicutes tot Bacteroidetes

Firmicutes en *Bacteroidetes* zijn benamingen voor twee grote groepen darmbacteriën: Fyla. De ratio tussen deze fyla heeft invloed op de gezondheid. Bij mensen met een ratio van *Firmicutes* tot *Bacteroidetes* groter dan 1 wordt gemiddeld 23% vaker overgewicht waargenomen dan bij mensen met een ratio kleiner dan 1. Verder zijn er relaties gevonden met IBS en de ziekte van Crohn. Daarom is het belangrijk om een dominante *Firmicutes* te voorkomen. Prebiotica, waaronder vezels, en onverzadigde vetzuren zorgen voor relatief meer *Bacteroidetes*, terwijl verzadigde vetten, eiwitten van dierlijke afkomst en suikers zorgen voor relatief meer *Firmicutes* in het colon. Dit wekt de indruk dat het LFHC dieet in potentie een positieve bijdrage kan leveren aan mensen met darm-gerelateerde problematiek, mits er voldoende vezels voorkomen in het dieet en dierlijke producten worden geminderd.

5.3 Faecalibacterium Prausnitzii en butyraatfermentatie

Dit organisme is een van de meest aanwezige butyraat producerende bacteriën in het darmmicrobioom die een belangrijke rol speelt in darmhomeostase. Afwezigheid van deze bacterie wordt geassocieerd met prikkelbaar darmsyndroom, darmkanker, obesitas, coeliakie en diabetes type II. *F. Prausnitzii* is een zeer weerbare bacterie die nauwelijks door dieetfactoren wordt beïnvloed, omdat het net als andere butyraat producerende bacteriën verschillende voedingsstoffen kan gebruiken als energiebron. Echter worden verzadigde vetzuren negatief geassocieerd met zowel *F. Prausnitzii* als butyraatproductie. Naar alle waarschijnlijkheid zal het LCHF dieet daarom geen voordelig effect hebben op *F. Prausnitzii* en butyraatproductie.

5.4 Wat is het effect van LCHF dieet op de vier gezondheidsmarkers?

Hoewel er positieve associaties zijn met het LCHF dieet overtuigd het dieet onvoldoende om via het darmmicrobioom klinische voordelen te bieden voor ziekten zoals diabetes type II, obesitas of cardiovasculaire aandoeningen. Daarbij is het onzeker of koolhydraten daadwerkelijk zo slecht zijn voor de gezondheid. Uit de resultaten is echter wel duidelijk gebleken dat dieetaanpassingen wel degelijk kunnen bijdragen aan verschillende gezondheidsvoordelen via het darmmicrobioom.

Producten van dierlijke afkomst lijken negatief te associëren met de verschillende gezondheidsmarkers, terwijl producten van plantaardige afkomst, met name voedingsvezels, positief associëren met de markers. Echter moet wel gerealiseerd worden dat de negatieve associaties van vlees teniet gedaan worden als er

voldoende vezels gegeten worden. Bovendien bevat vlees ook micro-elementen die belangrijk zijn om voldoende nutriënten binnen te krijgen.

Ten slotte is het optimale percentage koolhydraten persoonsgebonden en, zoals blijkt uit de resultaten, is het afhankelijk van zowel demografische als lichamelijke factoren. Individuen met diabetes type II, overgewicht of andere metabole stoornissen hebben door hun ziekten minder baat bij koolhydraatrijke producten dan mensen zonder deze ziekten. Maar voor zowel diabetici als gezonde mensen kan over het algemeen gesteld worden dat vooral de kwaliteit van de voeding uitmaakt voor de gezondheid. Als het doel is om de vier gezondheidsmarkers positief te stimuleren is het wenselijk om producten van dierlijke afkomst te minderen of rood vlees te vervangen door gevogelte, vis of plantaardige vleesvervangers. Daarnaast is er voorkeur voor vezelrijke vruchten of groenten boven andere koolhydraatrijke producten en moeten vezelarme producten zoals frisdrank vermeden moeten worden.

Referenties

- Amine E, Baba N, Belhadj M, Deurenberg-Yap M, Djazayeri A, Forrester T, Galuska D, Herman S, James W, Mbuyamba J (2002). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. World Health Organization. http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/trs_916/en/gsfao_introduction.pdf. geraadpleegd op 11 april 2018.
- Bedford, A., & Gong, J. (2017). Implications of butyrate and its derivatives for gut health and animal production. *Animal Nutrition*.
- Belzer, C., Chia, L. W., Aalvink, S., Chamlagain, B., Piironen, V., Knol, J., & de Vos, W. M. (2017). Microbial metabolic networks at the mucus layer lead to diet-independent butyrate and vitamin B12 production by intestinal symbionts. *MBio*, 8(5).
- Biessels, G. J., & Despa, F. (2018). Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. *Nature Reviews Endocrinology*, 1.
- Brouns, F. (2018). Overweight and diabetes prevention: is a low-carbohydrate–high-fat diet recommendable?. *European journal of nutrition*, 1-12.
- Clarke, C., & Best, T. (2017). Low-carbohydrate, high-fat dieters: Characteristic food choice motivations, health perceptions and behaviours. *Food Quality and Preference*, 62, 162-171.
- De La Cuesta-Zuluaga, J., Mueller, N. T., Corrales-Agudelo, V., Velásquez-Mejía, E. P., Carmona, J. A., Abad, J. M., & Escobar, J. S. (2017). Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading Akkermansia muciniphila and several short-chain fatty acid–producing microbiota in the gut. *Diabetes Care*, 40, 54-62.
- Derrien, M., Belzer, C., & de Vos, W. M. (2017). Akkermansia muciniphila and its role in regulating host functions. *Microbial pathogenesis*, 106, 171-181.
- Duncan, S. H. (2016). Wheat bran promotes enrichment within the human colonic microbiota of butyrate-producing bacteria that release ferulic acid. *Environmental microbiology*, 2214-2225.
- El Hage, R., Hernandez-Sanabria, E., & Van de Wiele, T. (2017). Emerging trends in “smart probiotics”: functional consideration for the development of novel health and industrial applications. *Frontiers in microbiology*, 8, 1889.
- Feinman RD, Pogozelski WK, Astrup A, Bernstein RK, Fine EJ, Westman EC, Accurso A, Frassetto L, Gower BA, McFarlane SI (2015). Dietary carbohydrate restriction as the first approach in diabetes management: critical review and evidence base. *Nutrition* 31.
- Ferreira-Halder, C. V., de Sousa Faria, A. V., & Andrade, S. S. (2017). Action and function of Faecalibacterium prausnitzii in health and disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*.
- Gao, X., Xie, Q., Kong, P., Liu, L., Sun, S., Xiong, B., ... & Xiang, H. (2017). Polyphenol-and caffeine-rich post-fermented Pu-er tea improves diet-induced metabolic syndrome by remodeling intestinal homeostasis in mice. *Infection and immunity*.
- Gezondheidsraad (2015). Richtlijnen goede voeding 2015. https://www.gezondheidsraad.nl/sites/default/files/201524_richtlijnen_goede_voeding_2015.pdf. Geraadpleegd op 11 april 2018.
- Giugliano, D., Maiorino, M. I., Bellastella, G., & Esposito, K. (2018). More sugar? No, thank you! The elusive nature of low carbohydrate diets. *Endocrine*, 1-5.
- Gui, Q.-F., & Lu, H.-F. (2015). Well-balanced commensal microbiota contributes to anti-cancer response in a lung cancer mouse model. *Genetics and Molecular Research*.
- Guo, X., Li, S., Zhang, J., Wu, F., Li, X., Wu, D., ... & Li, P. (2017). Genome sequencing of 39 Akkermansia muciniphila isolates reveals its population structure, genomic and functional diversity, and global distribution in mammalian gut microbiotas. *BMC genomics*, 18(1).
- Hackett, R. A., & Steptoe, A. (2017). Type 2 diabetes mellitus and psychological stress—a modifiable risk factor. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(9), 547.
- Hall, K. D. (2017). A review of the carbohydrate–insulin model of obesity. *European journal of clinical nutrition*, 71(3), 323.
- Hauner H, Bechthold A, Boeing H, Brönstrup A, Buyken A, Leschik-Bonnet E, Linseisen J, Schulze M, Strohm D, Wolfram G (2012) Evidence-based guideline of the German Nutrition Society: carbohydrate intake and prevention of nutrition-related diseases.
- Helmstäter L. (2017). <https://echtgezondafvallen.nl/koolhydraatarm-dieet/>. geraadpleegd 22 maart 2018.
- Jandhyala, S. M., Madhulika, A., Deepika, G., Rao, G. V., Reddy, D. N., Subramanyam, C., ... & Talukdar, R. (2017). Altered intestinal microbiota in patients with chronic pancreatitis: implications in diabetes and metabolic abnormalities. *Scientific reports*, 7, 43640.
- Jasperalblas (2017). <https://www.jasperalblas.nl/koolhydraatarm-dieet-recepten/>. geraadpleegd 22 maart 2018.

- Javurek, A. B., Spollen, W. G., Johnson, S. A., Bivens, N. J., Bromert, K. H., Givan, S. A., & Rosenfeld, C. S. (2017). Consumption of a high-fat diet alters the seminal fluid and gut microbiomes in male mice. *Reproduction, Fertility and Development*, 29(8), 1602-1612.
- Knapp, M., Tu, X., & Wu, R. (2018). Vascular endothelial dysfunction, a major mediator in diabetic cardiomyopathy. *Acta pharmacologica Sinica*, 1.
- Kootte, R. S., Levin, E., Salojärvi, J., Smits, L. P., Hartstra, A. V., Udayappan, S. D., ... & Knop, F. K. (2017). Improvement of insulin sensitivity after lean donor feces in metabolic syndrome is driven by baseline intestinal microbiota composition. *Cell metabolism*, 26(4), 611-619.
- Kroemer, G., & Zitvogel, L. (2018). Cancer immunotherapy in 2017: The breakthrough of the microbiota. *Nature Reviews Immunology*.
- Kuda, T., Yokota, Y., Shikano, A., Takei, M., Takahashi, H., & Kimura, B. (2017). Dietary and lifestyle disease indices and caecal microbiota in high fat diet, dietary fibre free diet, or DSS induced IBD models in ICR mice. *Journal of Functional Foods*, 35, 605-614.
- Lopez-Siles, M., Duncan, S. H., Garcia-Gil, L. J., & Martinez-Medina, M. (2017). *Faecalibacterium prausnitzii*: from microbiology to diagnostics and prognostics. *The ISME journal*, 11(4), 841.
- Li, J., Lin, S., Vanhoutte, P. M., Woo, C. W., & Xu, A. (2016). *Akkermansia muciniphila* protects against atherosclerosis by preventing metabolic endotoxemia-induced inflammation in Apoe^{-/-} mice.
- Maastrichtuniversiteit (2018), <https://www.maastrichtuniversity.nl/nl/nieuws/ernstige-twijfels-aan-nut-van-koolhydraatarm-dieet>, geraadpleegd 22 maart 2018.
- Martín, R., Bermúdez-Humarán, L. G., & Langella, P. (2018). Searching for the Bacterial Effector: The Example of the Multi-Skilled Commensal Bacterium *Faecalibacterium prausnitzii*. *Frontiers in microbiology*, 9, 346.
- Mousavi, S. N., Koohdani, F., Shidfar, F., & Eslaminejad, M. B. (2016). Comparison of maternal isocaloric high carbohydrate and high fat diets on osteogenic and adipogenic genes expression in adolescent mice offspring. *Nutrition & metabolism*, 13(1), 69.
- Mu, C., Yang, Y., Luo, Z., Guan, L., & Zhu, W. (2016). The Colonic Microbiome and Epithelial Transcriptome Are Altered in Rats Fed a High-Protein Diet Compared with a Normal-Protein Diet-3. *The Journal of nutrition*, 146(3), 474-483.
- Mu, C., Yang, Y., Luo, Z., & Zhu, W. (2017). Temporal microbiota changes of high-protein diet intake in a rat model. *Anaerobe*, 47, 218-225.
- Munukka, E., Rintala, A., Toivonen, R., Nylund, M., Yang, B., Takanen, A., ... & Pekkala, S. (2017). *Faecalibacterium prausnitzii* treatment improves hepatic health and reduces adipose tissue inflammation in high-fat fed mice. *The ISME journal*, 11(7), 1667.
- Newell, C., Bomhof, M. R., Reimer, R. A., Hittel, D. S., Rho, J. M., & Shearer, J. (2016). Ketogenic diet modifies the gut microbiota in a murine model of autism spectrum disorder. *Molecular autism*, 7(1), 37.
- Noriega, B. S., Sanchez-Gonzalez, M. A., Salyakina, D., & Coffman, J. (2016). Understanding the impact of omega-3 rich diet on the gut microbiota. *Case reports in medicine*, 2016.
- Nu (2017), <https://www.nu.nl/161543/video/hoer-gezond-is-een-koolhydraatarm-dieet-voor-je.html>, geraadpleegd 22 maart 2018.
- Nutrition SACo (2015) Carbohydrates and health. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/445503/SACN_Carbohydrates_and_Health.pdf. Geraadpleegd op 11 april 2018.
- Pan, W. W., & Myers Jr, M. G. (2018). Leptin and the maintenance of elevated body weight. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(2), 95.
- Pham, T., Teoh, K. T., Savary, B. J., Chen, M. H., McClung, A., & Lee, S. O. (2017). In vitro fermentation patterns of rice bran components by human gut microbiota. *Nutrients*.
- Power, K. A., Lepp, D., Zarepoor, L., Monk, J. M., Wu, W., Tsao, R., & Liu, R. (2016). Dietary flaxseed modulates the colonic microenvironment in healthy C57Bl/6 male mice which may alter susceptibility to gut-associated diseases. *The Journal of nutritional biochemistry*, 28, 61-69.
- Puurfiguur (2017), <https://www.puurfiguur.nl/koolhydraatarm-dieet/>, geraadpleegd 22 maart 2018.
- Rabot, S., Membrez, M., Blancher, F., Berger, B., Moine, D., Krause, L., ... & Lauber, C. L. (2016). High fat diet drives obesity regardless the composition of gut microbiota in mice. *Scientific reports*, 6, 32484.
- Roopchand, D. E., Carmody, R. N., Kuhn, P., Moskal, K., Rojas-Silva, P., Turnbaugh, P. J., & Raskin, I. (2015). Dietary polyphenols promote growth of the gut bacterium *Akkermansia muciniphila* and attenuate high-fat diet-induced metabolic syndrome. *Diabetes*, 64(8), 2847-2858.
- Sato, J., Kanazawa, A., Makita, S., Hatae, C., Komiya, K., Shimizu, T., ... & Goto, H. (2017). A randomized controlled trial of 130 g/day low-carbohydrate diet in type 2 diabetes with poor glycemic control. *Clinical Nutrition*, 36(4), 992-1000.
- Scott, K. P. (2013). The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacological research*, Elsevier, 52-60.

- Sears, C. L., & Garret, W. S. (2014). Microbes, Microbiota, and Colon Cancer. *Cell Host & Microbe*, 317-328.
- Shang, Q., Song, G., Zhang, M., Shi, J., Xu, C., Hao, J., ... & Yu, G. (2017). Dietary fucoidan improves metabolic syndrome in association with increased Akkermansia population in the gut microbiota of high-fat diet-fed mice. *Journal of Functional Foods*, 28, 138-146.
- Shukla, S. D., Budden, K. F., & Neal, R. (2017). Microbiome effects on immunity, health and disease in the lung. *Clinical & Translational Immunology*, 133.
- Singh, D. P., Singh, S., Bijalwan, V., Kumar, V., Khare, P., Baboota, R. K., ... & Chopra, K. (2017a). Co-supplementation of isomaltoligosaccharides potentiates metabolic health benefits of polyphenol-rich cranberry extract in high fat diet-fed mice via enhanced gut butyrate production. *European journal of nutrition*, 1-15.
- Singh, R. K., Chang, H. W., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., ... & Bhutani, T. (2017b). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of translational medicine*, 15(1), 73.
- Song, H., Han, W., Yan, F., Xu, D., Chu, Q., & Zheng, X. (2016). Dietary *Phaseolus vulgaris* extract alleviated diet-induced obesity, insulin resistance and hepatic steatosis and alters gut microbiota composition in mice. *Journal of Functional Foods*, 20, 236-244.
- Sonneburg, J. L., & Backhed, F. (2016). Diet-microbiota interaction as moderators of human metabolism. *Nature*, 55-64.
- Suriano, F., Bindels, L. B., Verspreet, J., Courtin, C. M., Verbeke, K., Cani, P. D., ... & Delzenne, N. M. (2017). Fat binding capacity and modulation of the gut microbiota both determine the effect of wheat bran fractions on adiposity. *Scientific reports*, 7(1), 5621.
- Thais A., C., & Niv, Z. (2016). The microbiome and innate immunity. *Department of immunology, nature*, 65-72
- Tranfield, D., Denyer, D., & Smart, P. (2003). Towards a methodology for developing evidence-informed management knowledge by means of systematic review. *British journal of management*, 207-222.
- Van de Wiele, T., & de Weirdt, R. (2015). Micromanagement in the gut: microenvironmental factors govern colon mucosal biofilm structure and functionality. *Biofilms and Microbiomes*.
- Velasquez-Manoff, M. (2015). Gut microbiome: the peacekeepers. *Nature*, 518.
- Villamil, S. I., Huerlimann, R., Morianos, C., Sarnyai, Z., & Maes, G. E. (2017). Adverse effect of early life high-fat/high-carbohydrate ('Western') diet on bacterial community in the distal bowel of mice. *Nutrition Research*.
- Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojärvi, J., Kootte, R. S., Bartelsman, J. F., ... & Derrien, M. (2012). Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 143(4), 913-916.
- Waldman, H. S., Krings, B. M., Smith, J. W., & McAllister, M. J. (2018). A shift toward a high-fat diet in the current metabolic paradigm: A new perspective. *Nutrition*, 46, 33-35.
- Wang, L., Jacobs, J. P., Lagishetty, V., Yuan, P. Q., Wu, S. V., Million, M., ... & Taché, Y. (2017). High-protein diet improves sensitivity to cholecystokinin and shifts the cecal microbiome without altering brain inflammation in diet-induced obesity in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 313(4).
- Westman EC, Feinman RD, Mavropoulos JC, Vernon MC, Volek JS, Wortman JA, Yancy WS, Phinney SD (2007) Low-carbohydrate nutrition and metabolism. *Am J Clin Nutr* 86:276–284.
- World Health Organization (2015a). Guideline: sugars intake for adults and children. World Health Organization. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149782/1/9789241549028_eng.pdf geraadpleegd op 11 april 2018.
- World Health Organization (2015b). Global status report on noncommunicable diseases, 2014: attaining the nine global noncommunicable diseases targets; a shared responsibility. World Health Organization, Geneva. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf?ua=1 geraadpleegd op 11 april 2018.
- Wycherley, T. P., Thompson, C. H., Buckley, J. D., Luscombe-Marsh, N. D., Noakes, M., Wittert, G. A., & Brinkworth, G. D. (2016). Long-term effects of weight loss with a very-low carbohydrate, low saturated fat diet on flow mediated dilatation in patients with type 2 diabetes: A randomised controlled trial. *Atherosclerosis*, 252, 28-31.
- Yang, J. Y., Lee, Y. S., Kim, Y., Lee, S. H., Ryu, S., Fukuda, S., ... & Kim, H. M. (2017). Gut commensal *Bacteroides acidifaciens* prevents obesity and improves insulin sensitivity in mice. *Mucosal immunology*.
- Zhu, L., Zhang, D., Zhu, H., Zhu, J., Weng, S., Dong, L., ... & Shen, X. (2018). Berberine treatment increases Akkermansia in the gut and improves high-fat diet-induced atherosclerosis in Apoe^{-/-} mice. *Atherosclerosis*, 268, 117-126
- Zinn, C., Rush, A., & Johnson, R. (2018). Assessing the nutrient intake of a low-carbohydrate, high-fat (LCHF) diet: a hypothetical case study design. *BMJ open*, 8(2).