

Forebyggelse af komælksallergi med modificeret valleprotein

Varmebehandling og moderat hydrolyse er effektive metoder til produktion af modermælkserstatninger til forebyggelse af komælksallergi uanset tarmens mikrobiota-sammensætning.

Baggrund for projektet

Som udgangspunkt vil eksponering for fødevareproteiner via mave-tarmkanalen resultere i udvikling af oral tolerance, mens manglende tolerance resulterer i fødevareallergi. Mekanismerne er endnu uklare, men studier indikerer, at manglende tolerance er forbundet med en ubalance i bakteriesammensætning i tarmen forårsaget af miljø- eller livsstilsfaktorer.

Komælksallergi er den mest udbredte fødevareallergi hos småbørn. Det er stærkt omdiskuteret, hvilken type modermælkserstatning der bør anbefales til ikke-fuld-ammende spædbørn i højrisikogruppen for udvikling af komælksallergi. Modermælkserstatninger baseret på hydrolyserede komælksproteiner er foreslået som det bedste alternativ til modermælk pga. deres reducerede evne til at inducere allergi. Der er dog tvivl om, hvorvidt disse produkter forebygger komælksallergi. Alternative for-

bejdningmetoder såsom varmebehandling undersøges med henblik på at reducere de allergi-inducerende og samtidig bevare de tolerance-inducerende egenskaber. Målet i projektet "Mikroflora og komælkstolerance" var udvikling af produkter, der kan forebygge og behandle komælksallergi.

Forarbejdning af valleprotein til hypoallergene modermælkserstatning

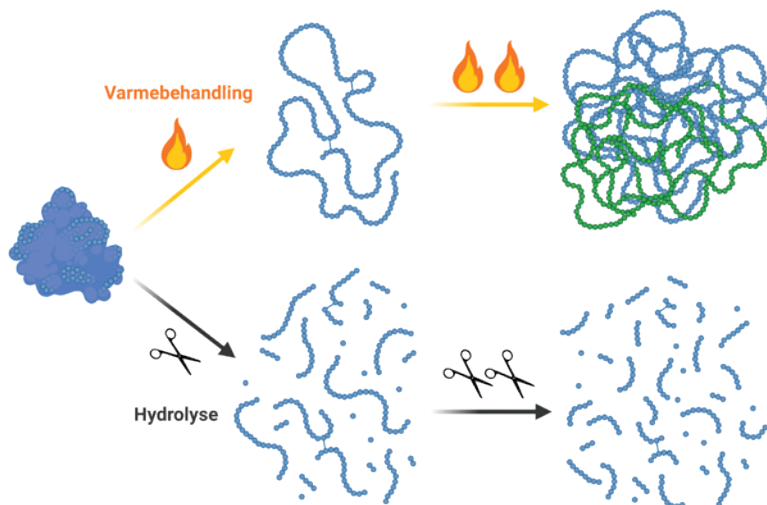
Et mål var at undersøge, hvordan forskellige forarbejdningmetoder påvirker allergi- og tolerance-inducerende egenskaber af valleprotein. Specifikt undersøgte effekten af mild varmebehandling og forskellige grader af hydrolyse. Disse forarbejdningmetoder ændrer proteinerne på forskellig vis, hvilket kan påvirke, hvordan kroppens immunsystem reagerer på dem. Ved hydrolyse nedbrydes proteiner til kortere peptid-fragmenter. Varmebehandlingen nedbryder derimod ikke proteiner, men påvirker deres struktur – de



udfoldes (denatureres), og proteinerne klumper sammen til protein-aggregater. De forarbejdede valleproteinprodukter blev fremstillet af Arla Foods Ingredients. Figur 1 viser, hvordan forarbejdningmetoderne ændrer proteinerne på forskellig vis (lavet med Bio-Render.com).

Allergi- versus tolerance-inducerende egenskaber

De allergi- og tolerance-inducerende egenskaber af valleproteinprodukterne blev undersøgt i rotter ved at måle antistofniveauer samt allergiske reaktioner efter eksponering. Der var særligt fokus på produkternes evne til at inducere tolerance og dermed forebygge senere udvikling af allergi hos rot-



Figur 1 viser, hvordan forarbejdningmetoderne ændrer proteinerne på forskellig vis (lavet med BioRender.com).



Projektinfo

Titel: Mikroflora og komælkstolerance
Projektleder: Katrine Lindholm Bøgh, Forskningsgruppeleder, ph.d., Fødevareinstituttet, DTU

Deltagere: Arla Foods Ingredients og Odense Universitetshospital

Projektperiode: Januar 2016 – december 2019

Hovedformål: At undersøge hvordan forskellige proteiningredienser til modermælkserstatninger påvirker tarmmikrobiotaen, og hvordan tarmmikrobiotaen påvirker forskellige proteiningrediensers evne til at inducere tolerance over for komælk.

MEJERIBRUGETS FORSKNINGSFOND

terne. Vores resultater bekræftede, at en høj hydrolysegrad reducerede den allergi-inducerende, men desværre også den tolerance-inducerende evne af valleprotein, hvorfor disse produkter ikke er optimale til forebyggelse. Derimod fandt vi, at moderat hydrolyse og mild varmebehandling reducerede den allergi-inducerende evne uden at reducere den allergi-forebyggende evne, hvorfor disse produkter er et godt bud på proteiningredienser til modernælkserstatninger, der forebygger komælksallergi.

Varmebehandling påvirker tarmoptaget af valleprotein

Udover at undersøge produkternes allergi- og tolerance-inducerende egenskaber ønskede vi at afklare de underliggende mekanismer. Dette inkluderede bl.a. måling af tarmoptaget af valleproteinerne. Resultaterne tyder på, at varmebehandling ændrer optagelsen i tarmen, hvorved en mindre andel optages igennem epitelcellelaget, imens en større del optages igennem Peyrletterne. Dette forklarer sandsynligvis, hvorfor varmebehandlet valleprotein gav anledning til mildere allergiske reaktioner sammenlignet med ubehandlet valleprotein. Disse resultater pointerer vigtigheden af at undersøge, hvordan proteiner optages over tarmen i forbindelse med udvikling og test af nye (forarbejdede) proteiningredienser.

Tolerance-induktion uafhængig af balancen i tarmmikrobiotaen

Et andet mål var at undersøge, hvordan samspillet mellem valleproteiner i kosten og tarmmikrobiotaen påvirker udviklingen af tolerance. Effekten af mikrobiota-sammensætningen på tolerance-udvikling blev undersøgt ved at manipulere rotters mikrobiota med antibiotikummet amoxicillin, som ofte anvendes til behandling af infektioner hos spædbørn. Studiet viste, at daglig behandling med amoxicillin resulterede i øjeblikkelige og dramatiske ændringer i mikrobiota-sammensætningen, kendetegnet ved reduceret diversitet samt øget mængde af bl.a. Gammaproteobacteria. På trods af denne dramatiske ubalance påvirkede behandling med amoxicillin ikke udviklingen af tolerance negativt. Dette resultat er

positivt nyt for de spædbørn, der behandles med amoxicillin. Resultatet pointerer samtidig behovet for mere viden om, hvilke typer af ubalance i mikrobiota-sammensætningen som påvirker allergiudvikling negativt.

Hydrolysegrad påvirker fækale bakterier

Slutteligt undersøgte vi effekten af hydrolyseret valleprotein på væksten af tarmbakterier fra raske spædbørn. På trods af stigende opmærksomhed på tarmmikrobiotaens betydning for allergiudvikling, er studiet blandt de første, der undersøger, hvordan hydrolyserede proteiner til hypoallergene modernælkserstatninger påvirker tarmmikrobiotaen. Fækale prøver blev indsamlet i samarbejde med Odense Universitetshospital og inkuberet i medie tilsat valleprotein med forskellig hydrolysegrad under forhold, der simulerede dem i tarmen, hvorefter væksten af udvalgte bakteriegrupper blev målt. Forsøgene viste, at produkter med moderat hydrolyseret valleprotein fremmede væksten af bakterier af slægten *Enterococcus*. Skønt disse bakterier almindeligvis er til stede i tarmen tidligt i livet, er en høj forekomst blevet koblet til øget risiko for udvikling af allergiske sygdomme. Eventuelle negative effekter af hydrolyserede produkter på spædbørns mikrobiota-sammensætning bør derfor undersøges nærmere.

Hvad kan det bruges til?

Vi forventer, at resultaterne kan bidrage til en fortsat forbedring af modernælkserstatning



AF PH.D.-STUDERENDE KATRINE BÆKBY GRAVERSEN OG FORSKNINGSGRUPPELEDER KATRINE LINDHOLM BØGH, FØDEVAREINSTITUTTET, DANMARKS TEKNISKE UNIVERSITET.

til forebyggelse af komælksallergi hos spædbørn i højrisiko for at udvikle allergi.

Resultaterne indikerer, at både varmebehandling og moderat hydrolyse er potentielle metoder til at producere effektive og sikre modernælkserstatninger beregnet til forebyggelse af allergi. Resultaterne tyder ikke på, at spædbørn med ubalance i tarmmikrobiotaen forårsaget af fx behandling med antibiotikummet amoxicillin vil have mere gavn af en anderledes modernælkserstatning end de børn med en balanceret tarmmikrobiota.

Resultaterne fra inkubationsforsøg indikerede, at hydrolyserede valleproteiner kan påvirke tarmmikrobiotaen i negativ retning, hvilket bør undersøges nærmere. Hvis dette bekræftes af yderligere studier, kan denne viden hjælpe producenter af modernælkserstatning, så de kan sammensætte deres produkter af ingredienser, der kompenserer for en eventuel negativ effekt af hydrolyserede proteiner på tarmmikrobiotaen. ●

Resume

Projektet undersøgte, hvordan forskellige valleprotein-ingredienser til modernælkserstatninger påvirker tarmmikrobiotaen, og hvordan tarmmikrobiotaen påvirker forskellige proteiningrediensers evne til at inducere tolerance over for komælk. Resultaterne viser, at både mild hydrolyse og varmebehandling reducerede valleproteins allergi-inducerende evne uden at kompromittere deres tolerance-inducerende evne. For varmebehandling var reduktionen i allergenicitet sandsynligvis relateret til ændringer i proteinerne aggregering. Resultaterne viser, at amoxicillin-induceret ubalance af tarmmikrobiotaen ikke påvirkede udviklingen af tolerance negativt. Samlet set fremhæver projektet både varmebehandling og moderat hydrolyse som potentielle metoder til at producere effektive og sikre modernælkserstatninger beregnet til forebyggelse af komælksallergi hos spædbørn uafhængigt af deres tarmmikrobiota-sammensætning.