

Gastrointestinal targets to modulate satiety and food intake

Citation for published version (APA):

Geraedts, M. C. P. (2010). *Gastrointestinal targets to modulate satiety and food intake*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20101203mg>

Document status and date:

Published: 01/01/2010

DOI:

[10.26481/dis.20101203mg](https://doi.org/10.26481/dis.20101203mg)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

SUMMARY

Overweight and obesity have become a major health problem and strategies for prevention and treatment are needed. The most effective treatment is to decrease food intake, thereby modulating appetite sensations. The concept of appetite includes at least two separate components: satiation and satiety. Satiation refers to the processes that promote meal termination, thereby limiting meal size. Satiation results from signals that are produced in the gut in response to food-induced mechanical and chemical stimuli, such as the release of the satiety hormones cholecystokinin (CCK), glucagon-like peptide 1 (GLP-1), and peptide YY (PYY). These hormones are secreted upon food intake, since the gastrointestinal tract contains chemosensors that sense lumen contents and induce changes in gastrointestinal function and food intake through the release of these satiety hormones. Not only the macronutrient composition of the diet plays an important role in the release of these satiety hormones, but also the compounds, such as sweeteners, used to add flavour to the food affect hormone release. From the macronutrients, it seems that protein has the highest satiating effect when compared to other macronutrients in humans and animal studies. However, proteins differ in their amino acid composition and metabolism and thus may influence the satiating effects differently. There are also indications that tastants are able to affect hormone release from enteroendocrine cells, but whether this is true for all tastants, and whether there are differences between tastants is still unknown. In the present thesis several techniques are used to identify proteins and tastants that affected the gastrointestinal satiety hormone release the strongest.

The first technique that was used was the *in vitro* cell culture system. The STC-1 cell line, derived from an intestinal tumor arising in double transgenic mice, is known to secrete CCK and GLP-1 after exposure to nutritional compounds. STC-1 cells were incubated with several different proteins, hydrolysates, and synthetic peptides, and CCK and GLP-1 release was measured. We demonstrated that intact proteins such as casein, whey, and pea showed strongest effects on CCK release, whereas casein, codfish, egg, and wheat showed most pronounced effects on GLP-1 release. Egg-hydrolysate stimulated release of CCK and GLP-1, whereas all other tested hydrolysates and synthetic-peptides showed no significant effects on hormone release. As a second technique, the Ussing chambers were used. These chambers allow fresh human or animal tissue to stay alive for approximately 3-4 hours. The luminal side of both rat and human duodenal tissue was exposed to egg protein, codfish protein, pea protein, ovomucoid, or wheat protein for 2 hours. CCK and GLP-1 release was measured at the serosal side. Remarkably, no effects on CCK and GLP-1 release were found using rat duodenal tissue, whereas addition of pea and wheat protein did affect CCK and GLP-1 release from human duodenal tissue.

Overall, intact pea protein seemed to be the most potent protein to stimulate hormone release from duodenal tissue; however, this had to be confirmed in a human intervention study. The study described in the present thesis compared the effects of intact pea protein on satiety hormone levels and food intake after either oral ingestion or duodenal administration in both lean and obese subjects. We showed that food intake was decreased after intraduodenal protein administration in both lean and obese subjects, in contrast to food intake after oral ingestion of the protein. Although there were no differences in appetite ratings between both groups, we observed elevated levels of CCK in obese subjects, and GLP-1 and PYY were elevated in both groups. These data suggest that the degradation of intact pea protein in the stomach must be prevented in order to decrease food intake. Additionally, the results from this *in vivo* intervention study were compared to results obtained from Ussing chamber experiments, using the same volunteers. It was demonstrated that the trend in hormone release measured in the Ussing chambers was comparable with the trend that was observed in the intervention study, indicating that the Ussing chamber technology provides a valid screening tool to study the effects of nutritional compounds on hormone release.

Not only the effects of proteins, but also the effects of several tastants were tested on their effects on hormone release from STC-1 cells. All tastants increased CCK levels both dose- and time-dependently. GLP-1 release dose-dependently increased after addition of all tastants, with the exception of citric acid. GLP-1 was released in a time-dependent manner after addition of all tastants, but bitter tastants stimulated GLP-1 release only during the first 15 minutes of exposure. All commercial sweeteners elevated CCK and GLP-1 levels, with Tagatasse® containing sucralose exerting the strongest effects.

Since sweeteners seemed to be the most potent tastants to stimulate hormone release, it might be possible that when combining sweeteners with intact pea protein, synergistic effects on hormone release may occur. Exposure to aspartame, sucralose, sucrose, pea, and pea with sucralose secreted elevated levels of CCK, whereas GLP-1 levels were increased after addition of all test-products. However, addition of sucrose and sucralose to human duodenal biopsies did not affect CCK and GLP-1 release; addition of pea did stimulate CCK and GLP-1 secretion. Combining pea protein with sucrose and sucralose induced even higher levels of CCK and GLP-1.

Overall, these studies show that infusing intact pea protein into the duodenum has the strongest effects on plasma hormone levels, and has the greatest effect on food intake. It has also been demonstrated that the combinations of dietary compounds may provide a novel dietary tool to adjust appetite and food intake. However, more studies will have to be performed to identify the lowest effective dose of the protein and sweetener, and whether (micro-) encapsulated proteins show the

same effects on food intake. Also, long-term intervention studies will have to be performed to demonstrate the effects of intraduodenal pea protein administration on weight loss and weight maintenance.

SAMENVATTING

Overgewicht en obesitas zijn een van de grootste voeding gerelateerde gezondheidsproblemen geworden en strategieën voor de preventie en behandeling hiervan zijn nodig. De meest effectieve behandeling is het verminderen van voedselinname, waarbij ook de eetlust modulerende sensaties worden veranderd. Het concept van verzadiging omvat ten minste twee afzonderlijke processen. Het eerste proces speelt een rol bij de beëindiging van de maaltijd, waarbij de grootte van de maaltijd wordt beperkt. Het andere proces speelt een rol bij de duur tussen de maaltijden en het moment dat er weer gegeten gaat worden. Verzadiging ontstaat door signalen vanuit de darm in reactie op voedsel-geïnduceerde mechanische en chemische prikkels, zoals de afgifte door de enteroendocriene cellen in de darmwand van verzadigingshormonen zoals cholecystokinine (CCK), glucagon-like peptide 1 (GLP-1) en peptide YY (PYY). Het maag-darm kanaal bevat chemosensoren die de inhoud van de darm kunnen waarnemen en daardoor de opname van voedsel in de darm aanpassen en reguleren door de afgifte van deze verzadigingshormonen. Niet alleen de macronutriënten samenstelling van het voedsel speelt een belangrijke rol in de secretie van de verzadigingshormonen, maar ook andere bestanddelen zoals zoetstoffen welke gebruikt worden om smaak toe te voegen aan het voedsel stimuleren de vrijlating van verzadigingshormonen. Van alle macronutriënten blijkt eiwit het meest verzadigende effect te hebben in vergelijking met andere macronutriënten in zowel humane als dierexperimentele onderzoeken. Echter, eiwitten verschillen in aminozuur samenstelling en metabolisme wat het effect op verzadiging kan beïnvloeden tussen de verschillende eiwitten. Ook zijn er aanwijzingen dat smaakstoffen in staat zijn om de afgifte van verzadigingshormonen uit enteroendocriene cellen te stimuleren, maar of dit waar is voor alle smaakstoffen, en of er verschillen zijn tussen de smaakstoffen is nog onbekend. In dit proefschrift worden verschillende technieken gebruikt om specifieke eiwitten en smaakstoffen te identificeren welke de sterkste effecten hebben op de afgifte van verzadigingshormonen vanuit de darm.

De eerste techniek die werd gebruikt was het *in vitro* celkweek systeem. De STC-1 cellijn, afgeleid van een intestinale tumor ontstaan in dubbel transgene muizen, is in staat om CCK en GLP-1 uit te scheiden na blootstelling aan voedingsstoffen. STC-1 cellen werden geïncubeerd met verschillende eiwitten, hydrolysaten en synthetische peptiden, waarna de afgifte van CCK en GLP-1 gemeten werd. We hebben aangetoond dat intacte eiwitten zoals caseïne, whey en erwten eiwit het sterkste effect hadden op de CCK afgifte, terwijl caseïne, kabeljauw, ei en tarwe eiwit de meest uitgesproken effecten hadden op GLP-1 afgifte. Ei hydrolysaat stimuleerde ook de afgifte van CCK en GLP-1, terwijl alle andere geteste hydrolysaten en synthetische peptiden geen significante effecten hadden op de afgifte van de verzadigingshormonen. Als tweede techniek werden de Ussing kamers gebruikt. Deze kamers maken het mogelijk om menselijk of dierlijk weefsel in leven te houden

gedurende 3-4 uur. De luminale zijde van zowel ratten- als humane dunne darm werd blootgesteld aan ei eiwit, kabeljauw eiwit, erwten eiwit, ovomucoïde, of tarwe eiwit gedurende 2 uur. CCK en GLP-1 afgifte werd gemeten aan de serosale zijde van het darmweefsel. Opmerkelijk was dat er geen veranderingen in CCK en GLP-1 afgifte gemeten werden bij de rattendarm, terwijl blootstelling aan erwten eiwit en tarwe eiwit een verhoogde CCK en GLP-1 afgifte tot gevolg hadden na blootstelling aan de menselijke darm.

Over het algemeen leek het intacte erwten eiwit het meest potente eiwit om afgifte van de verzadigingshormonen te stimuleren, maar dit moest worden bevestigd in een humane interventie studie. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift vergeleek de effecten van intacte erwten eiwit op afgifte van verzadigingshormonen en voedsel inname na een orale inname of directe toediening in de dunne darm, in zowel slanke als obese mannelijke vrijwilligers. We lieten zien dat na toediening van het intacte eiwit rechtstreeks in de dunne darm voedsel inname was afgenomen in zowel slanke en obese mannen, in tegenstelling tot orale inname van het intacte eiwit wat geen effect had op de voedsel inname. Hoewel er geen verschillen waren in eetlust waarnemingen tussen beide groepen, zagen we een verhoogde afgifte van CCK in obese vrijwilligers. GLP-1 en PYY levels waren verhoogd in beide groepen. Deze gegevens suggereren dat als onverteerd eiwit in de dunne darm komt er een regulatie proces opgang komt dat er voor zorgt dat de passage van voedsel vertraagd wordt om alsnog het onverteerde eiwit zo snel mogelijk af te breken. Als consequentie zal de voedsel inname verlaagd worden. Daarnaast werden de resultaten van deze *in vivo* interventie studie vergeleken met de resultaten verkregen uit experimenten met de Ussing kamers, waarbij darmweefsel van dezelfde vrijwilligers werd gebruikt. Er werd aangetoond dat de trend in de afgifte van verzadigingshormonen gemeten in de Ussing kamers vergelijkbaar was met de trend die werd waargenomen in de humane interventie studie. Hieruit blijkt dat de Ussing kamer technologie een goed screenings instrument is om de effecten van voedings bestanddelen te bestuderen op de afgifte van verzadigingshormonen.

Niet alleen de effecten van eiwitten, maar ook verschillende smaakstoffen werden getest op hun effect van de afgifte van hormonen door de STC-1 cellen. Alle smaakstoffen zorgden voor een verhoogde afgifte van CCK zowel dosis- en tijdsafhankelijk. De afgifte van GLP-1 nam dosis afhankelijk toe na toevoeging van alle smaakstoffen, met de uitzondering van citroenzuur. De afgifte van GLP-1 nam ook tijdsafhankelijk toe na toevoeging van alle smaakstoffen, maar bittere smaakstoffen stimuleerde GLP-1 afgifte alleen gedurende de eerste 15 minuten na blootstelling. Alle commerciële zoetstoffen verhoogde CCK en GLP-1 afgifte, waarbij Tagatose®, dat sucralose bevat, het sterkste effect had.

Omdat zoetstoffen de meest potente smaakstoffen bleken te zijn om de afgifte van verzadigingshormonen te stimuleren, is het misschien ook mogelijk dat de

combinatie van zoetstoffen met intact erwten eiwit een synergistisch effect kan hebben op de afgifte van verzadigingshormonen. Blootstelling van STC-1 cellen aan aspartaam, sucralose, suiker, erwten eiwit en erwten eiwit gecombineerd met sucralose resulteerde in verhoogde afgifte van CCK, terwijl de afgifte van GLP-1 werd verhoogd na toevoeging van alle testproducten. Echter, blootstelling van sucrose en sucralose aan human dunne darm weefsel had geen invloed op de afgifte van CCK en GLP-1; erwten eiwit verhoogde de afgifte van CCK en GLP-1 wel. De combinatie van erwten eiwit met sucrose en sucralose resulteerde in nog hogere niveaus van CCK en GLP-1 afgifte.

In conclusie, deze studies tonen aan dat de infusie van intacte erwten eiwitten in de dunne darm de sterkte effecten heeft op plasma verzadigingshormoon spiegels en het grootste effect heeft op de voedselinname. We hebben ook aangetoond dat de combinatie van verschillende voedingsingrediënten nieuwe inzichten kan geven om de eetlust en voedsel inname aan te passen. Echter, meer studies zullen moeten worden uitgevoerd om de laagste effectieve dosis van eiwit en de zoetstoffen te bepalen, en of (micro) geïncapsuleerde eiwitten dezelfde effecten geven op voedselinname. Ook zullen lange termijn studies moeten worden uitgevoerd om aan te tonen dat het inbrengen van intacte eiwitten in de dunne darm een langdurig effect heeft op gewichtsverlies en gewichts controle.

