

Sensing and signalling in the upper gastrointestinal tract

Citation for published version (APA):

Alleleyn, A. M. E. (2021). *Sensing and signalling in the upper gastrointestinal tract*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20211013aa>

Document status and date:

Published: 01/01/2021

DOI:

[10.26481/dis.20211013aa](https://doi.org/10.26481/dis.20211013aa)

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

The gastrointestinal (GI) tract is a large sensory organ that responds to a wide variety of signals originating from the GI lumen, for example, nutrients and endogenous or exogenous substances that can have beneficial effects but also potentially noxious. Sensing of these substances via the mucosal receptors and the signals arising from these responses are crucial for maintaining physiological homeostatic processes. We focused on the ability of the GI lumen to sense nutrients or food components and consequently activating signals to influence food intake and satiety. Furthermore, we investigated the effect of a potentially noxious substance on pain regulation in the esophagus.

In **Chapter 2**, we reviewed studies in which gastrointestinal nutrient (protein, fat and carbohydrates) infusion was performed. There was substantial evidence that all parts of the GI tract are able to activate the so-called 'intestinal brake', a negative feedback mechanism on food intake and satiety. We observed a difference between the site and the length of infusion in the small intestine and the magnitude of this effect on food intake and satiety. In several studies it was observed that the ileum had the most potent effect on food intake and satiety. A proximal to distal gradient with regards to gastrointestinal nutrient infusion seems to exist.

In **Chapter 2**, we concluded that activation of the 'ileal brake' reduces food intake and alters satiety to the greatest extent. Other studies also showed the potential of repetitive ileal brake activation and its possible effect on long term weight management. These studies were performed with naso-intestinal catheters. To investigate the possible clinical application of ileal brake activation, less invasive strategies are needed. In **Chapter 3**, we performed a 'proof of concept' study in which we investigated the effect of encapsulated macronutrients (protein, fat and carbohydrates) targeting the distal small intestine. The effect on food intake and satiety was compared to a control product that integrated in the proximal GI tract (stomach). Fifty-nine healthy volunteers with overweight were included in this double-blind randomized, controlled, cross-over study. The study was performed within two test days in which the volunteers received in random order the encapsulated nutrient mixture or the control product. Visual analogue scale (VAS) scores for satiety and blood samples for glucose analysis were collected during the test day and food intake was measured with an *ad libitum* meal at the end of the test day. Ingestion of the encapsulated nutrient mixture decreased food intake compared to the control product. Moreover, VAS scores for hunger and satiety were significant

different from the control product. Plasma glucose concentrations immediately increased after ingestion of the control product, while the encapsulated nutrient mixture did not show an increase. This observation suggests more distal release of the encapsulated nutrient mixture and a proximal release of the control product. Future studies are needed to investigate whether this effect is sustained after repetitive ingestion of the encapsulated nutrient mixture. Future studies should also focus on long-term results after orally ingested macronutrients with distal release and whether this strategy can be used in weight management.

In **Chapter 4**, we investigated whether lipids, encapsulated in calcium alginate beads, delay lipolysis with the purpose to prevent absorption in the proximal small intestine and as a result increase the exposure in the distal small intestine. These emulsion-alginate beads were added to yoghurt and ingested by healthy overweight subjects in a cross-over design. The control product contained an equicaloric mixture of non-encapsulated nutrients with similar sensory properties. Food intake was measured with an *ad libitum* meal and satiety scores were measured during the test day. We observed that food intake significantly reduced compared to the control product.

In contrast to chapter 3 and 4, where nutrient sensing of the small intestine was investigated to reduce food intake and increase satiety, in **Chapter 5** we investigated an intervention to increase food intake and alter satiety via a gastric intervention. Increasing food intake could be beneficial in the elderly population who suffer from 'anorexia of aging' or patients with chronic diseases in which anorexia or cachexia (for example cancer cachexia) occur. We hypothesized that inhibition of signals arising from the mechanoreceptors in the stomach wall by lidocaine, a local anesthetic, caused a greater distension during a meal, and consequently have a negative feedback on satiety and food intake. In rats, it was already observed that this intervention increased food intake. In this human trial, we were not able to replicate the results observed in rats. We observed a modest, non-significant, increase in food intake after infusion of 200 mg lidocaine with a catheter in the stomach compared to placebo infusion. The small, non-significant increase can be explained by the fact that in this study we only include healthy participants and not patients with disturbed gastrointestinal sensory perception. Previous studies have shown that sensory pathways in the GI tract are affected by age. The results in **Chapter 3, 4** and **5** show that the GI tract is an attractive target in altering food intake and satiety and this paves the way for future studies to further elucidate the concept of modifying responses arising from the GI tract to the content of the intestinal lumen and consequently influence food intake and satiety.

Another important function of the gastrointestinal tract is sensing different taste signals. There are five basic tastes: bitter, sour, sweet, salty and umami. The function of taste receptors in the GI tract is to sense food components. Several studies have shown that these taste receptors are expressed throughout the entire GI tract. It was already observed that duodenal infusion of a combination of sweet, bitter and umami significantly decreased food intake and increased satiety scores. In **Chapter 6**, we investigated whether the aforementioned proximal-to-distal gradient found for the intestinal brake (**Chapter 2**) is also operative for taste receptor activation. We conducted a single-blind randomized cross-over trial in which 14 participants were intubated with a nasoduodenal ileal catheter. They all received four infusion regimens: duodenal and ileal placebo, duodenal tastants and ileal placebo, duodenal placebo ileal tastants, duodenal tastants and ileal tastants. We observed no differences in food intake or satiety between the various interventions. A possible explanation for not being able to replicate the results from a previous study is that all participants were intubated with a catheter for four consecutive days, which may have influenced small effects on eating behavior.

The physiological role of the GI tract is to sense nutrients and activate appropriate effector mechanisms. Another important role of the intestinal lumen is to detect and eliminate potentially harmful substances and consequently initiate several protective responses. We investigated in **Chapter 7** whether a possible protective response occurs after perfusion of a potentially harmful substance in the esophagus. Capsaicin, the pungent substance is known for its ability to induce pain via the Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV-1) channel. This receptor plays an important role in nociceptive signalling of somatic and visceral pain. In this study, we investigated whether esophageal TRPV1 activation by capsaicin perfusion induces pain and affects the mucosal barrier integrity. The mucosal barrier integrity was evaluated by intraluminal impedance measurements and evaluation of intercellular space width by transmission electron microscopy (TEM). We observed that capsaicin perfusion resulted in TRPV1 activation and consequently induced more pain compared to the saline-treated participants. This is likely to be explained by an impaired mucosal barrier and defective restoration capacity in the esophagus. A disrupted mucosal barrier in the esophagus results in more TRPV1 activation by the phenomenon that the sensory nerve afferents which express the TRPV1 receptor are more exposed to capsaicin. The sensing mechanism of capsaicin in the esophageal lumen and the signals arising from this pain sensation could provide rationale for esophageal barrier protection as a therapeutic modality.

In **Chapter 8**, we compared two different methods to evaluate intercellular space in esophageal biopsies. In this study we compared the classic evaluation of the intercellular space (ISDc) with an alternative method; the relative intercellular space area (ISA). The most important difference between these two methods is the number of transmission electron microscopy photos needed for analysis (10 vs. 3). Another importation concern is that ISDc may not fully take the irregularity of intercellular space delineation into account. The results showed that evaluation of the intercellular space using the alternative ISA method showed a strong correlation with the values obtained with ISDc. The alternative method (ISDc) is more representative and less time-consuming. ISA also showed a high intra and interobserver agreement. This more representative and less timeconsuming approach can be used to reliably assess the intercellular space in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD) or nonerosive gastroesophageal reflux disease (NERD) in future studies.

In **Chapter 9**, we summarized and integrated the key findings of the studies presented in this thesis. New findings in relation to previous described studies with regards to the sensing and signaling function of the upper GI tract are also discussed.

Samenvatting

Het maag-darmstelsel is een orgaan dat reageert op een breed scala aan signalen afkomstig vanuit het lumen van het maag-darmstelsel. Voorbeelden hiervan zijn voedingsstoffen, endogene of exogene stoffen met potentieel gunstige of potentieel schadelijke effecten. Het detecteren ('sensing') van deze stoffen via de mucosale receptoren en de signalen die hierna ontstaan zijn cruciaal voor het in standhouden van verschillende fysiologische homeostatische processen in het lichaam. We hebben ons in dit proefschrift gefocust op de eigenschappen van het lumen van het maag-darmstelsel om voedingsstoffen of voedselcomponenten te detecteren en als gevolg hiervan signalen te activeren om de voedselinname en verzadiging te beïnvloeden. Daarnaast onderzochten we het beschermende effect van een potentieel schadelijke stof en de relatie met pijnregulatie in de slokdarm.

In **Hoofdstuk 2** evalueren we studies waarin macronutriënten (eiwitten, vetten en koolhydraten) in verschillende delen van het maag-darmstelsel werden geïnfundeerd. Er is substantieel bewijs dat alle delen van het maag-darmstelsel de zogenoemde 'intestinal brake' kunnen activeren. Dit beschrijft een negatief feedbackmechanisme op voedselinname en verzadiging. We observeerden een verschil tussen de plaats en de lengte van de infusie in de dunne darm en de mate van dit effect op de voedselinname en verzadiging. Verschillende studies toonden dat het ileum het grootste negatieve effect had op voedselinname en verzadiging. Er lijkt een proximale naar distale gradiënt te bestaan met betrekking tot infusie van macronutriënten in de dunne darm en het effect op voedselinname en verzadiging.

In **Hoofdstuk 2** concludeerden we dat activering van de 'ileal brake' het grootste effect heeft op voedselinname en verzadiging. Andere studies toonden ook dat herhaaldelijke activering van de 'ileal brake' een mogelijk effect heeft op lichaamsreductie voor de langere termijn. Deze studies zijn uitgevoerd met neusdarm katheters. Minder invasieve strategieën zijn nodig om de klinische toepassing van 'ileal brake' activering te onderzoeken.

In **Hoofdstuk 3** hebben we een proof of concept studie uitgevoerd waarin we het effect van ge-encapsuleerde macronutriënten (eiwitten, vetten en koolhydraten) die opgenomen werden in de distale dunne darm onderzocht. Het effect van deze ge-encapsuleerde macronutriënten op voedselinname en verzadiging werd vergeleken met een controle product dat in het proximale deel van het maag-darmstelsel werd opgenomen. 59 gezonde vrijwilligers met overgewicht werden geïncludeerd in deze dubbelblinde, gerandomiseerde, placebo-gecontroleerde, cross-over studie. De

studie werd uitgevoerd op twee testdagen waarin de vrijwilligers in willekeurige volgorde of het actieve ge-encapsuleerde product of het controle product innamen. Gedurende de testdag werden VAS-scores voor verzadiging en bloedmonsters voor glucose verzameld en de voedselinname werd gemeten middels een *ad libitum* maaltijd aan het einde van de testdag. Inname van het actieve ge-encapsuleerde product resulteerde in een significante afname van de voedselinname in vergelijking met het controle product. Daarnaast zagen wij een significante afname van VAS-scores voor honger en een significante toename van VAS-scores voor verzadiging na inname van het actieve ge-encapsuleerde product vergeleken met het controle product. Plasma glucose levels namen onmiddellijk toe na inname van het controle product, terwijl het actieve ge-encapsuleerde product geen toename liet zien. Deze resultaten suggereren dat het controle product direct in het proximale gedeelte van het maag-darmstelsel werd opgenomen en dat het actieve ge-encapsuleerde product mogelijk in het laatste stuk van het maag-darmstelsel werd opgenomen. Toekomstige studies zijn nodig om te onderzoeken of dit effect aanhoudt na herhaaldelijke inname van het ge-encapsuleerde product en zo te onderzoeken of deze strategie toepasbaar is voor gewichtsreductie op de lange termijn.

In **Hoofdstuk 4** hebben we onderzocht of vetten, ingekapseld in calcium alginaat korrels, lipolyse vertragen met als doel absorptie in de proximale dunne darm te voorkomen en als resultaat de blootstelling in de distale dunne darm te vergroten. Deze emulsie alginaat korrels werden toegevoegd aan yoghurt en ingenomen door gezonde proefpersonen met overgewicht in een cross-over design. Het controle product bevatte een equicalorisch mengsel van niet-ingekapselde voedingsstoffen met vergelijkbare sensorische eigenschappen. Voedselinname werd gemeten met een *ad libitum* maaltijd en verzadigingsscores werden gemeten gedurende de testdag. We observeerden dat de voedselinname significant verminderde na inname van het yoghurt product met de ingekapselde vetten in vergelijking met het controle product.

In tegenstelling tot hoofdstuk 3 en 4, waar het detecteren van voedingsstoffen in de dunne darm werd onderzocht om voedselinname te verminderen en verzadiging te verhogen, onderzochten we in **Hoofdstuk 5** een interventie om de voedselinname te verhogen en de verzadiging te beïnvloeden met een interventie via de maag. Het verhogen van de voedselinname kan gunstig zijn voor ouderen die lijden aan 'anorexia of aging' of patiënten met chronische ziekten waarbij anorexia of cachexie (bijvoorbeeld kankercachexie) voorkomt. Onze hypothese was dat remming van signalen afkomstig van de mechanoreceptoren in de maagwand door infusie van

lidocaïne, een lokaal anestheticum, een negatieve feedback heeft op verzadiging en voedselinname. Bij ratten werd dit fenomeen al geobserveerd en toediening van lidocaïne zorgde voor een toename van de voedselinname. In deze humane studie waren we niet in staat om de resultaten die bij ratten werden waargenomen te repliceren. We zagen een kleine, niet-significante, toename van de voedselinname na infusie van 200 mg lidocaïne via een maagkatheter in vergelijking met infusie van de placebo. Deze, niet-significante toename kan worden verklaard door het feit dat we in deze studie alleen gezonde deelnemers hebben geïncludeerd en geen personen met een gestoorde gastro-intestinale sensorische functie. Eerdere studies hebben aangetoond dat de sensorische pathway in het maag-darmstelsel wordt beïnvloed door leeftijd. De resultaten van **Hoofdstuk 3, 4 en 5** laten zien dat het maag-darmstelsel een interessant target is om voedselinname en verzadiging te beïnvloeden. Dit maakt de weg vrij voor toekomstige studies om het concept van het modificeren van reacties die voortkomen uit het maag-darmstelsel als reactie op de inhoud van de intestinale lumen en als gevolg daarvan voedselinname en verzadiging te beïnvloeden verder te onderzoeken.

Een andere belangrijke functie van het maag-darmstelsel is het waarnemen van verschillende smaaksignalen. Er zijn vijf basissmaken: bitter, zuur, zoet, zout en umami. De functie van smaakreceptoren in het maag-darmstelsel is het waarnemen van voedselcomponenten. Verschillende onderzoeken hebben aangetoond dat deze smaakreceptoren door het hele maag-darmstelsel tot expressie worden gebracht. Er werd al eerder waargenomen dat duodenale infusie van een combinatie van zoet, bitter en umami de voedselinname significant verminderde en de verzadiging deed toenemen. In **Hoofdstuk 6** hebben we onderzocht of de eerdergenoemde proximale-naar-distale gradiënt gevonden voor de 'intestinal brake' activering (**Hoofdstuk 2**) ook toepasbaar is voor activatie van smaakreceptoren. We hebben een single-blind, gerandomiseerde, cross-over studie uitgevoerd waarbij bij 14 deelnemers een naso-duodenale-ileale katheter werd ingebracht. Ze kregen allemaal vier infusie regimes: duodenum en ileum placebo, duodenum smaakstoffen en ileum placebo, duodenum placebo ileum smaakstoffen, duodenum smaakstoffen en ileum smaakstoffen. We zagen geen verschil in voedselinname of verzadiging tussen de verschillende infusie regimes. Een mogelijke verklaring voor het niet kunnen repliceren van de resultaten van de eerder genoemde studie is dat alle deelnemers vier opeenvolgende dagen een katheter hadden, wat mogelijk een invloed had op het eetgedrag.

De fysiologische rol van het maag-darmstelsel is het detecteren van voedingsstoffen en het activeren en toepassen van effectormechanismen. Een andere belangrijke rol

van het lumen van de darm is het detecteren en elimineren van potentieel schadelijke stoffen en het initiëren van verschillende beschermende reacties. In **Hoofdstuk 7** hebben we onderzocht of er een mogelijke beschermende reactie optreedt na perfusie van een potentieel schadelijke stof in de slokdarm. Capsaïcine staat bekend om zijn vermogen om pijn te veroorzaken via het Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV-1) kanaal. Deze receptor speelt een belangrijke rol bij de nociceptieve signalering van somatische en viscerale pijn. In deze studie hebben we onderzocht of oesofagiale TRPV1-activering door perfusie van capsaïcine in de slokdarm pijn veroorzaakt en de integriteit van de mucosale barrière beïnvloedt. De integriteit van de mucosale barrière werd geëvalueerd door middel van intraluminale impedantiemetingen en evaluatie van de intercellulaire afstand door transmissie-elektronenmicroscopie (TEM). We hebben geobserveerd dat capsaïcine perfusie resulteerde in TRPV1-activering en meer pijn veroorzaakte in vergelijking met perfusie van de zout oplossing. Dit wordt waarschijnlijk verklaard door een verminderde mucosale barrière en een onvermogen tot herstel hiervan in de slokdarm. Een verstoorde mucosale barrière in de slokdarm resulteert in meer TRPV1-activering door het fenomeen dat de sensorische zenuwafferenten, die de TRPV1-receptor tot expressie brengen, meer worden blootgesteld aan capsaïcine. Het detectiemechanisme van capsaïcine in het lumen van de slokdarm en de signalen die voortkomen uit deze pijnsensatie geven onderbouwing voor bescherming van de slokdarmbarrière als een therapeutische modaliteit.

In **Hoofdstuk 8** hebben we twee verschillende methoden vergeleken om de intercellulaire afstand in slokdarmbiopten te evalueren. In deze studie vergeleken we de klassieke evaluatie van de intercellulaire afstand (ISDc) met een alternatieve methode; relatieve intercellulaire afstand (ISA). Het belangrijkste verschil tussen deze twee methoden is het aantal transmissie-elektronen microscopiefoto's dat nodig is voor analyse (10 versus 3). Een ander belangrijk gegeven is dat ISDc niet volledig rekening houdt met de onregelmatigheid van de afbakening van de intercellulaire ruimte. De resultaten toonden aan dat evaluatie van de intercellulaire ruimte met behulp van de alternatieve ISA-methode een sterke correlatie vertoonde met de waarden verkregen met ISDc. De alternatieve methode (ISA) is representatiever en minder tijdrovend. ISA liet ook een hoge intra- en interobserver overeenkomst zien. Deze meer representatieve en minder tijdrovende benadering kan in toekomstige studies worden gebruikt om de intercellulaire afstand bij patiënten met gastro-oesofageale refluxziekte (GERD) of niet-erosieve gastro-oesofageale refluxziekte (NERD) betrouwbaar te beoordelen.

In **Hoofdstuk 9** vatten we de belangrijkste bevindingen van de onderzoeken in dit proefschrift samen. Nieuwe bevindingen en de relatie tot de resultaten in eerder beschreven studies met betrekking tot de detectie- en signaleringsfunctie van het maag-darmstelsel worden besproken.