



## Samenvatting van het proefschrift

M. van Avesaat

*"Nutrient Sensing in the gut. Appetite regulation in health and obesity."*

**Promotiedatum:** 5 juli 2018

**Universiteit:** Universiteit van Maastricht

**Promotores:**

Prof. dr. A.A.M. Masclee

**Copromotores:**

Dr. H.F.J. Hendriks

Dr. F.J. Troost

Het maag-darmstelsel speelt een belangrijke rol in de regulatie van voedselinname en verzadiging. Door het exacte mechanisme achter voedselinname en verzadiging te achterhalen komen nieuwe behandelmogelijkheden voor overgewicht en obesitas steeds dichterbij. Dit proefschrift bestaat uit studies waarin de rol van voedseladditieven en macronutriënten (eiwitten, koolhydraten en vetten) op de regulatie van voedsel inname, verzadiging en het vrijkomen van darmhormonen (ook wel verzadigingshormonen genoemd) is onderzocht. Daarnaast hebben we ons ook bezig gehouden met de effecten van nieuwe, anatomie sparende, minimaal invasieve chirurgische en endoscopische procedures voor de behandeling van ernstige obesitas (morbide obesitas).

In **hoofdstuk 2** wordt een studie beschreven waarin naar expressie patronen van bepaalde genen is gekeken. Deze genen zijn betrokken bij de regulatie van voedselinname op het moment dat voedingsstoffen in de dunne darm terechtkomen. We hebben in deze studie niet alleen gekeken naar de expressie van deze genen bij de mens, maar ook bij de muis en het varken. Tijdens routine maag- en dikke darm-onderzoeken werden er bij gezonde mensen kleine hapjes (biopten) van de darm afgenomen. Dit werd gedaan van de twaalfvingerige darm

(net na de maag), van de kronkeldarm (het ileum, laatste stuk van de dunne darm) en de dikke darm (op 3 verschillende plekken). Daarnaast werden ook bipten van de darmen van muizen en varkens genomen. Vervolgens werd de gen expressie (voorkomen van bepaalde genen) van verschillende genen geanalyseerd. Met deze studie hebben we aangetoond dat de expressie patronen van genen betrokken bij het waarnemen van voedingsstoffen in het ileum en de dikke darm bij zowel de mens als het varken sterk overeenkomen. Hiermee tonen we aan dat, gezien deze overeenkomst, het varken als model voor de mens gebruikt zou kunnen worden in eventuele toekomstige studies. Daarnaast hebben we laten zien dat de bestudeerde genen een specifiek expressie patroon door het maag-darmstelsel lieten zien. Deze informatie zorgt voor een beter begrip van de verzadigende effecten van bepaalde macronutriënten en producten die zouden kunnen leiden tot nieuwe strategieën in het reduceren van voedselinname. De mens is in staat om vijf verschillende smaken te detecteren, namelijk: bitter, zoet, umami, zuur en zout. Het detecteren van deze smaken wordt mogelijk gemaakt door smaakreceptoren op de tong. Echter, deze smaakreceptoren bevinden zich ook in de maag, dunne darm en de dikke darm. Het is daardoor mogelijk dat 'smaak' en dus deze smaakreceptoren een grote rol bij verzadiging en voedselinname kunnen spelen. In **hoofdstuk 3** van dit proefschrift hebben we verschillende smaakstoffen via een sonde rechtstreeks in de twaalfvingerige darm ingespoten. Op deze manier hebben we onderzocht wat de effecten van het toedienen van deze smaakstoffen op voedselinname, honger gevoelens en verzadiging en het vrijkomen van verzadigingshormonen zijn. Hiervoor is er bij 15 gezonde vrijwilligers gedurende 5 verschillende testdagen een neus-maagsonde geplaatst om vervolgens een van de of de combinatie van smaakstoffen (placebo, bitter, zoet, umami of de combinatie van drie) via de sonde toe te dienen. Tijdens de testdagen werden bloedmonsters afgenomen om het vrijkomen van darmhormonen in het bloed te bepalen, werden honger en verzadigingsvragenlijsten afgenomen en werd de ad libitum voedselinname onderzocht. Er werd geconstateerd dat het infunderen van de combinatie van smaakstoffen (bitter, zoet en umami) resulteerde in een afname van de voedselinname en hunger scores in vergelijking met infusie van placebo. Deze afname in voedselinname ging interessant genoeg niet gepaard met het vrijkomen van verzadigingshormonen in het bloed. Hiermee toonden we dus aan dat verdere studies noodzakelijk zijn om de exacte rol van smaakstoffen en smaakreceptoren bij voedselinname te achterhalen. Capsaicine, bekend als de

pittige substantie in rode chili pepers, wordt steeds vaker in verband gebracht met mogelijke anti-obesitas eigenschappen. Om het effect van capsaïcine infusie in de twaalfvingerige darm op honger, verzadiging, gastro-intestinale symptomen en het vrijkomen van verzadigingshormonen te onderzoeken werd de studie beschreven in **hoofdstuk 4** uitgevoerd. Tijdens een tweetal testdagen kregen gezonde proefpersonen via een sonde capsaïcine of placebo direct in de twaalfvingerige darm gespoten. Vervolgens is er op verschillende momenten gekeken naar honger en verzadiging scores en zijn er bloedmonsters voor de bepaling van verzadigingshormonen afgenomen. Het infunderen van capsaïcine in de twaalfvingerige darm resulteerde in een toename van verzadiging, maar resulteerde ook in een toename van pijn, brandend gevoel, misselijkheid en opgeblazen gevoel. Er werden tevens geen veranderingen in het vrijkomen van de verzadigingshormonen GLP-1 en PYY gevonden. Deze bevindingen suggereren dat het effect van capsaïcine infusie op verzadiging is mogelijk wordt veroorzaakt door gastro-intestinale stress. Het vrijkomen van intacte macronutriënten (eiwitten, koolhydraten of vetten) in het laatste stuk van de dunne darm resulteert in het activeren van de zogenaamde 'ileal brake'. Activatie van dit negatieve feedbackmechanisme beïnvloedt de regulatie van verzadiging, voedselinname, gastro-intestinale motiliteit en vrijkomen van gastro-intestinale hormonen. In het verleden is reeds uitgebreid onderzoek gedaan naar de effecten van vet infusie in de dunne darm. Hiertegenover staat dat de effecten van andere macronutriënten niet bekend zijn. In **hoofdstuk 5** van dit proefschrift hebben we de effecten van ileale infusie van het koolhydraat sucrose en het eiwit caseïne op voedselinname, het vrijkomen van gastro-intestinale hormonen, maaglediging en dunne darm passagetijd onderzocht. Saffloer olie werd hierbij gezien de reeds bekende effecten van vetten gebruikt als positieve controle. In deze studie werd er bij 13 gezonde vrijwilligers een naso-ileale sonde geplaatst en werd er gedurende vier opeenvolgende testdagen: placebo (water), sucrose, caseïne of saffloer olie rechtstreeks in het ileum geïnfundeed. Met behulp van een ad libitum test maaltijd aan het einde van de testdag werd de voedselinname onderzocht. Het bleek dat ileale infusie van vet, eiwit en koolhydraat resulteerde in een significante afname van de voedselinname wanneer dit werd vergeleken met de placebo infusie. Zelfs wanneer het aantal kilocalorieën van de geïnfundeerde stoffen bij de kilocalorieën van de maaltijd werd opgeteld, bleek er nog altijd een reductie in energie inname te bestaan.

Er werd verder geconcludeerd dat deze resultaten gepaard gingen met een toename van de gastro-intestinale hormonen CCK en PYY. Hiermee is door ons aangetoond dat, naast vetten, ook het koolhydraat sucrose en het eiwit caseïne in staat zijn om de ileal brake te activeren.

**Hoofdstuk 6** bestaat uit een review waarbij we de resultaten van verschillende studies op het gebied van gastro-intestinale nutriënt infusie hebben geëvalueerd. Er werd substantieel bewijs gevonden dat alle regio's van de dunne darm in staat zijn om negatieve feedback signalen te genereren. Echter, er lijken wel duidelijke verschillen tussen de verschillende regio's in de dunne darm te bestaan. Zo lijkt er een proximale naar distale gradient met betrekking tot intestinale infusie van macronutriënten te bestaan. Om de verschillen tussen de regio's van de dunne darm (duodenum, jejunum en ileum) te onderzoeken werd de studie in **hoofdstuk 7** uitgevoerd. Hierbij was het doel om eiwit rechtstreeks in het duodenum, jejunum of ileum te infunderen. Er werd vervolgens bekeken of er verschillen tussen deze regio's van de dunne darm bestonden op het gebied van ab libitum voedselinname, honger- en verzadigingsgevoelens en het vrijkomen van gastro-intestinale hormonen. In deze dubbelblind, gerandomiseerde placebo-gecontroleerde cross-over studie werden 14 gezonde vrijwilligers geïnccludeerd. Er werd een naso-ileale sonde geplaatst en gedurende vier testdagen werd er caseïne in het duodenum, jejunum of ileum geïnfundeerd. Er werd gevonden dat intraileale eiwit infusie resulteerde in een vermindering van voedselinname vergeleken met zowel intra-duodenale eiwit infusie als placebo infusie. GLP-1 concentraties stegen na ileale infusie vergeleken met jejunale en placebo infusie. Deze studie geeft hiermee additioneel bewijs voor locatie specifieke effecten in de dunne darm na infusie van eiwit. Nutritionele interventies zouden zich in de toekomst daarom het best kunnen richten op het afleveren van nutriënten in het laatste stuk van de dunne darm. Studies die het 'intestinal brake' mechanisme hebben onderzocht, hebben zich meestal gefocused op de acute effecten van nutriënt infusie. Er is daarom niet bekend of de eerder geobserveerde effecten blijven bestaan bij meer chronische infusie danwel activatie. In **hoofdstuk 8** van dit proefschrift hebben we een studie uitgevoerd waarbij is gekeken naar de effecten van repeterende 'ileal brake' activatie op ad libitum voedselinname, gevoelens van honger en verzadiging, maaglediging, dunne darm passage tijd en het vrijkomen van gastro-intestinale hormonen. Er werden 26 gezonde vrijwilligers geïnccludeerd in deze single blinde, gerandomiseerde placebo-gecontroleerde, twee-arm parallel studie. Vrijwilligers kregen een naso-ileale sonde en werden gerandomiseerd

voor de behandeling met intra-ileale eiwit infusie danwel placebo (water) voor vier opeenvolgende dagen. Er werd gevonden dat de ab libitum voedselinname niet significant verschilde tussen de eiwit en placebo groep. Echter bleek wel dat de voedselinname in de eiwit groep niet veranderde over de vier opeenvolgende testdagen. Daarnaast bleek intra-ileale eiwit infusie het verlangen naar voedselinname te verminderen, vertraagde het de maaglediging en zorgde het voor een toename van de gastro-intestinale hormonen CCK en GLP-1. Deze verschillen bleven zichtbaar over de 4 opeenvolgende testdagen. Hiermee wordt geïmpliceerd dat het effect van ileal brake activatie blijft behouden na infusie gedurende een aantal opeenvolgende dagen. In een aantal van de hierboven beschreven studies werd het eiwit caseïne rechtstreeks in het laatste stuk van de dunne darm geïnfundeed. Hierdoor wordt het eerste stuk van de dunne darm (duodenum en jejunum) overgeslagen of gebypassed. Aangezien eiwitten normaliter in het begin van de dunne darm worden afgebroken en opgenomen is het de vraag is dit ook optreedt wanneer de eiwitten rechtstreeks in het laatste deel van de dunne darm worden ingespoten. In **hoofdstuk 9** van dit proefschrift beschrijven we een studie waarin we hebben gekeken naar effecten van intraileale eiwit infusie op digestie (vertering van het eiwit) maar ook opname van het eiwit en eventuele activatie van het immuunsysteem. In de bloedmonsters die werden verzameld tijdens een van de eerdere studies werd onderzoek gedaan naar onder andere de aminozuren, CRP en pro-inflammatoire cytokines. Hierbij werd gevonden dat geen van de vrijwilligers gastro-intestinale symptomen rapporteerde na infusie van het eiwit. Daarnaast resulteerde intra-ileale eiwit infusie in een concentratie- en tijdsafhankelijke toename van aminozuren (bestanddelen van een eiwit) zonder dat er tekenen van immuun activatie waren. Deze data suggereren daarom een adequate digestie en absorptie van aminozuren na infusie van eiwit in het ileum. Bovengenoemde studies laten zien dat 'ileal brake' activatie het mogelijk maakt om een reductie van kilocalorie inname te bewerkstelligen. De vraag blijft echter of deze afname van energie intake ook op de langere termijn leidt tot gewichtsafname. Aangezien de meeste studies gebruik maken invasieve nasointestinale sondes, zijn non-invasieve methoden essentieel om het lange termijn effect van ileal brake activatie te onderzoeken. In **hoofdstuk 10** tonen we de resultaten van een proof of concept studie waarin we ge-encapsuleerde macro-nutrienten hebben gebruikt die vrijkomen in het laatste stuk van de dunne darm. Hierbij hebben we onderzocht of een oraal toegediende

ge-encapsuleerde nutriënt mix (eiwit en koolhydraat) die het laatste stuk van de dunne darm target, resulteert in een verandering in voedselinname en verzadiging vergeleken met een product dat direct in de maag uit elkaar valt en wordt opgenomen in het begin van de dunne darm. 59 vrijwilligers met overgewicht die verder gezond waren werden geïncludeerd in deze dubbel-blinde, gerandomiseerde, placebogecontroleerde, cross-over studie. Gedurende twee testdagen kregen de vrijwilligers of het actieve ge-encapsuleerde product of de placebo. Voedselinname werd gemeten middels intake tijdens een ad libitum maaltijd. Scores voor verzadiging en bloedmonsters voor glucose bepalingen werden op verschillende momenten afgenomen. Er werd gevonden dat ingestie van het actieve product resulteerde in een significante afname van de voedselinname vergeleken met het placebo/controle product. Daarnaast bleken VAS scores voor honger afgenomen en scores voor verzadiging toegenomen. Ingestie van het controle product leek te resulteren in een bijna onmiddellijke stijging van het plasma glucose level terwijl het actieve product deze piek niet liet zijn, mogelijk passend bij het vrijkomen in het laatste stuk van de dunne darm. Met deze studie tonen we dat ingestie van een ge-encapsuleerde nutrienten mix zorgt voor afname van de voedselinname, honger en een toename van verzadiging. Hiermee wordt de weg vrijgemaakt voor toekomstige studies die de effecten van langdurige 'ileal brake' activatie kunnen onderzoeken. In **hoofdstuk 11** tonen en bespreken we de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift and bediscussiëren we de nieuwe inzichten en richtingen voor de toekomst.