



Doctoral Thesis

## **Mechanisms and mediators of the anorexia during bacterial infection**

**Author(s):**

Porter, Marty Harold

**Publication Date:**

1998

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001980343> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETHex. B

Diss ETH No. 12706

MECHANISMS AND MEDIATORS OF THE ANOREXIA  
DURING BACTERIAL INFECTION

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH  
for the degree of Doctor of Natural Sciences



presented by

MARTY HAROLD PORTER

B.S. Biology (University of Georgia)

M.S. Nutrition (University of Georgia)

born April 27, 1971, citizen of USA

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. W. Langhans, examiner  
Prof. Dr. R.J. Martin, co-examiner  
Prof. Dr. G.J. Schwartz, co-examiner

Zurich 1998

## 1 SUMMARY

Acute bacterial infections trigger a generalized host defense reaction that is referred to as the acute phase response. The acute response is usually accompanied by anorexia, which appears to function as an early mechanism of host defense. However, longer lasting anorexia has detrimental effects. Lipopolysaccharides (LPS), which are the major constituents of the outer cell wall of gram-negative bacteria, and muramyl dipeptide (MDP), which is the minimal immunologically active structure of gram-positive bacterial cell walls are major promoters of the acute phase response. Doses of LPS and MDP that mimic the clinical features of the acute phase response reduce food intake after parenteral administration in various animal species. Many effects of LPS and MDP are mediated by cytokines such as tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), which are produced and released from macrophages in response to bacterial products and other challenges of the immune system. TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  potently reduce food intake after both peripheral and central administration and may therefore mediate the anorectic effect of bacterial products, but there are many open questions concerning this view. In the present thesis we investigated the mechanisms of anorexia during bacterial infections and tested the hypothesis that TNF- $\alpha$  plays a major role in the anorexic effects of bacterial products.

In the first study (Section 4) we examined the role of the liver in lipopolysaccharide (LPS)-induced hypophagia by investigating the effect of hepatic portal and vena cava infusions (1 ml/30 min) of LPS (100  $\mu$ g/kg b.wt.) on feeding in rats. LPS infusion significantly reduced food intake when administered via either the hepatic portal vein or the vena cava. Both the magnitude and time course of this hypophagia were similar regardless of the infusion route. As in previous experiments of ours in which LPS was administered by intraperitoneal injection, LPS reduced food intake by decreasing meal frequency, without affecting meal size or meal duration. The results

suggest that peripherally administered LPS does not act primarily in the liver to reduce food intake.

In the second study (Section 5) we investigated the extrinsic gut neural mediation of the suppression of food intake in male Sprague Dawley rats induced by peripheral IP administration of 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  interleukin 1- $\beta$  (Il-1 $\beta$ ), 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bacterial lipopolysaccharide (LPS), and 2  $\text{mg}/\text{kg}$  muramyl dipeptide (MDP). Food intake during the first 3 and 6 h of the dark cycle was measured in rats with subdiaphragmatic vagal deafferentation (SDA, N = 9), celiac superior mesenteric ganglionectomy (CGX, N = 9), combined vagotomy and ganglionectomy (COM, N = 9), and sham deafferentation (SHAM, N = 9). Both Il-1 $\beta$  and LPS suppressed food intake at 3 and 6 h in all surgical groups. MDP reduced food intake at 3 h in all but the SDA operated rats, and suppressed intake in all groups at 6 h. The results demonstrate that neither vagal nor non-vagal afferent nerves from the upper gut are necessary for the feeding suppressive effects of IP Il-1 $\beta$ , LPS, or MDP in the rat, and suggest that peripheral administration of immunomodulators produces anorexia via a humoral pathway.

In the third study (Section 6) we investigated the role of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in bacterial lipopolysaccharide (LPS)-induced hypophagia. We tested whether a cross tolerance between LPS and TNF- $\alpha$  exists with respect to their anorectic effects. Only the first of three subsequent intraperitoneal (ip) injections of LPS (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  body wt), given every 2nd day at dark onset (12/12h light-dark cycle), led to a significant reduction of food intake in male rats. Likewise, ip injections of human recombinant TNF- $\alpha$  (150  $\mu\text{g} \geq 3 \times 10^6$  U/kg body wt) also resulted in tolerance to its hypophagic effect. LPS tolerance did not alter the hypophagic response to subsequently injected TNF- $\alpha$  (n = 14). However, TNF- $\alpha$  pretreatment completely blocked the hypophagic response to LPS (n = 14). The results demonstrate that tolerance to the hypophagic effect of exogenous TNF- $\alpha$  is

sufficient to eliminate LPS-induced hypophagia. This is consistent with the hypothesis that endogenous TNF- $\alpha$  plays a major role in LPS-induced hypophagia. The ineffectiveness of LPS tolerance to attenuate TNF- $\alpha$  induced hypophagia is compatible with findings demonstrating that a reduced TNF- $\alpha$  production is an important feature of LPS tolerance.

In the fourth study (Section 7) we investigated the ability of pentoxifylline (PTX), a potent inhibitor of TNF- $\alpha$  production, to block the anorectic effects of the bacterial products lipopolysaccharides (LPS) and muramyl dipeptide (MDP) in rats. Intraperitoneally (IP) injected PTX (100 mg/kg body weight = BW) completely eliminated the anorectic effect of IP injected LPS (100  $\mu$ g/kg BW). Concurrently, PTX pretreatment suppressed LPS-induced TNF- $\alpha$  production by more than 95% and Il-1 $\beta$  production 39%, as measured by ELISA. PTX administration also attenuated the tolerance that is normally observed with a second injection of LPS. In addition, PTX pretreatment attenuated the hypophagic effect of IP injected MDP (2 mg/kg BW) but had no effect on the anorectic response to IP injected recombinant human TNF $\alpha$  (150  $\mu$ g/kg BW, IP). The results suggest that suppression of TNF $\alpha$  production is sufficient to eliminate LPS and MDP-induced anorexia. This is consistent with the hypothesis that TNF- $\alpha$  plays a major role in the anorexia during bacterial infection.

These studies provide information about the anorexia that accompanies bacterial infection. Bacterial products themselves or cytokines such as Il-1 $\beta$  act through humoral pathways to suppress feeding through central or peripheral mechanisms. However, other mediators also play a role. The anorexia during bacterial infections is most likely the result of complex neural, neurohumoral, and endocrine interactions between bacterial products and endogenous mediators acting centrally and peripherally. Further work will be necessary to fully understand these complex interactions and to identify the most promising therapeutic interventions.

## 2 ZUSAMMENFASSUNG

Akute bakterielle Infektionen lösen eine generalisierte Abwehrreaktion des Wirtes aus, die als Akutphasenantwort (APR) bezeichnet wird. Die APR wird gewöhnlich von Anorexie begleitet, die initial zur Abwehr beiträgt. Länger dauernde Anorexie hat jedoch negative Effekte. Lipopolysaccharide (LPS), die Hauptbestandteile der äusseren Zellwand gram-negativer Bakterien, und Muramyl-Dipeptid (MDP), die kleinste immunologisch wirksame Struktur von Zellwänden gram-positiver Bakterien, sind Hauptauslöser der APR bei bakteriellen Infektionen. In Dosen, die das klinische Erscheinungsbild von Infektionen imitieren, reduzieren LPS und MDP die Nahrungsaufnahme nach parenteraler Administration bei unterschiedlichen Spezies. Viele Effekte von LPS und MDP werden durch proinflammatorische Cytokine wie Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-1-beta (Il-1 $\beta$ ) vermittelt, welche von Makrophagen und anderen Zellen als Antwort auf Immunstimuli produziert werden. TNF- $\alpha$  und Il-1 $\beta$  reduzieren den Verzehr nach peripherer und zentraler Administration und könnten deshalb den anorektischen Effekt von LPS und MDP vermitteln. Es gibt diesbezüglich jedoch viele offene Fragen. In der vorliegenden Arbeit wurden die Mechanismen des verzehrsreduzierenden Effekts von LPS und MDP bei männlichen Ratten untersucht. Insbesondere wurde die Hypothese geprüft, dass TNF- $\alpha$  dabei eine Hauptrolle spielt.

In der ersten Studie (Abschnitt 4) wurde die Rolle der Leber bei der LPS-induzierten Hypophagie überprüft, indem der Effekt von LPS-Infusionen (100  $\mu$ g/kg KG) in Pfortader und Vena cava (1 ml/30 min) bei ad libitum gefütterten Ratten verglichen wurde. Sowohl Ausprägung als auch zeitlicher Verlauf des verzehrsreduzierenden Effekts von LPS waren dabei unabhängig vom Infusionsweg. Wie in früheren Experimenten unserer Gruppe, in denen LPS intraperitoneal (IP) injiziert wurde,

reduzierte LPS den Verzehr durch eine selektive Verminderung der Mahlzeitenfrequenz. Generell deuten die Ergebnisse darauf hin, dass peripher verabreichtes LPS die Nahrungsaufnahme nicht primär über eine Wirkung in der Leber reduziert.

In der zweiten Studie (Abschnitt 5) wurde die Rolle von afferenten Nerven beim verzehrsreduzierenden Effekt von IP injizierten 2 µg/kg IL-1β, 100 µg/kg LPS und 2 mg/kg MDP untersucht. Die Substanzen wurden dazu nach subdiaphragmatischer vagaler Deafferentation (SDA, N = 9), Exzision des Ganglion coeliacum (CGX, N = 9), kombinierter Vagotomie und Ganglionektomie (COM, N = 9) und Scheindeafferentation (SHAM, N = 9) appliziert. IL-1β und LPS reduzierten den Verzehr nach 3 und 6 h bei allen Gruppen. MDP reduzierte die Nahrungsaufnahme bei allen Gruppen nach 6 h. Die Resultate zeigen, dass bei der Ratte weder vagale noch nicht-vagale afferente Nerven vom oberen Darm für den verzehrsreduzierenden Effekt von IP injiziertem IL-1β, LPS oder MDP nötig sind; sie lassen vermuten, dass die periphere Administration von Immunmodulatoren den Verzehr auf humoralem Weg reduziert.

In der dritten Studie (Abschnitt 6) wurde die Rolle von TNF-α bei der durch LPS induzierten Hypophagie untersucht. Es wurde geprüft, ob eine Kreuztoleranz zwischen LPS und TNF-α bezüglich der anorektischen Wirkung besteht. Nur die erste von drei aufeinanderfolgenden IP Injektionen von LPS (100 µg/kg KG, jeden 2. Tag am Beginn der 12-stündigen Dunkelphase) führte dabei zu einer signifikanten Reduktion der Nahrungsaufnahme. IP Injektionen von rekombiniertem humanem TNF-α ( $150 \mu\text{g} \geq 3 \times 10^6 \text{ U/kg KG}$ ) führten ebenfalls zu einer Toleranz. Die LPS-Toleranz beeinflusste den verzehrsreduzierenden Effekt von TNF-α nicht, während die Toleranz gegenüber TNF-α den anorektischen Effekt von nachfolgend injiziertem

LPS blockierte. Dies unterstützt die Hypothese, dass endogener TNF- $\alpha$  für den verzehrsreduzierenden Effekt von LPS essentiell ist.

In der vierten Studie (Abschnitt 7) wurde die Wirkung von Pentoxifyllin (PTX), einem Hemmstoff der TNF- $\alpha$ -Produktion, auf den anorektischen Effekt von LPS und MDP untersucht. IP injiziertes PTX (100 mg/kg KG) eliminierte den verzehrsreduzierenden Effekt von LPS (100  $\mu$ g/kg KG) sowie MDP (2 mg/kg KG) und hemmte die Produktion von TNF- $\alpha$  nach LPS-Injektion um mehr als 95%, diejenige von IL-1 $\beta$  um 39%. Darüberhinaus schwächte PTX die nach LPS-Injektion normalerweise auftretende Toleranz ab. Der anorektische Effekt von IP injiziertem TNF- $\alpha$  (150  $\mu$ g/kg KG) wurde durch PTX hingegen nicht beeinflusst. Die Resultate lassen vermuten, dass die Hemmung der TNF- $\alpha$ -Produktion ausreicht, um den verzehrsreduzierenden Effekt von LPS und MDP zu eliminieren. Dies steht im Einklang mit einer wichtigen Rolle von TNF- $\alpha$  bei der Anorexie während bakterieller Infektionen.

Insgesamt erbrachten die Untersuchungen zwei wesentliche Erkenntnisse: 1) Bakterielle Zellwandbestandteile oder Cytokine wie beispielsweise TNF- $\alpha$  reduzieren den Verzehr wahrscheinlich über humorale Mechanismen. 2) IL-1 $\beta$  scheint bei der Anorexie während bakterieller Infektionen eine wichtige Mediatorfunktion zuzukommen. Natürlich spielen sicher auch andere Faktoren eine Rolle. Die Anorexie bei bakteriellen Infektionen resultiert vermutlich aus den komplexen Interaktionen von bakteriellen Zellwandbestandteilen und endogenen Mediatoren, die peripher und zentral wirken. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um diese Interaktionen ganz zu verstehen und die erfolgversprechendsten Ziele für eine therapeutische Intervention zu identifizieren.