



Doctoral Thesis

Intestinal cellular bioenergetics, glucagon-like peptide-1 and control of eating

Author(s):

Clara, Rosmarie

Publication Date:

2015

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010587112> →

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. ETH Nr. 23068

***INTESTINAL CELLULAR BIOENERGETICS,
GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1 AND CONTROL OF EATING***

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by
ROSMARIE CLARA

*Dottore Magistrale in Alimentazione e Nutrizione Umana,
Università degli Studi di Milano*

born on 06.11.1985
citizen of Italy

Prof. Wolfgang Langhans, examiner
Dr. Abdelhak Mansouri, co-examiner
Prof. Christian Wolfrum, co-examiner
Prof. Frédéric Bouillaud, co-examiner

2015

Summary

Western diet and sedentary lifestyle are strongly associated with the epidemic increase of obesity and its associated comorbidities. The small intestine is the first organ exposed to nutrients coming from the food and has been shown to metabolically respond to the composition of the diet. Indeed, its position is ideal to sense the energy availability in the intestinal lumen and to convey this information to the brain. With respect to this, it has been reported that the intestine is metabolically highly flexible, in particular as far as its reaction to high-fat-diet (HFD) is concerned. Also fat, and in particular monounsaturated fatty acids, potently stimulate the release of the eating-inhibitory peptide glucagon-like peptide-1 (GLP-1) from enteroendocrine cells. Studies with chronically HFD-fed rats showed that a pharmacological modulation of fatty acid metabolism in the intestinal epithelial layer enhanced the metabolic response of the jejunum, but not of the duodenum or the liver, to HFD as well as increased the concentration of GLP-1 in the hepatic portal vein (HPV) of the same rats after a HFD meal.

Based on these findings, in the first set of experiments we assessed the metabolic response of enterocytes derived from the duodenum, the jejunum or the liver of mice exposed for 3 or 14 days to HFD. As control we fed mice with control diet for the same periods of time. We could show that already a 3-day exposure to HFD potently increased the protein levels of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoAS2), the key enzyme of ketogenesis, in the jejunum. In the duodenum or the liver, the protein of HMG-CoAS2 was barely upregulated even after a 14-day HFD exposure. In contrast, although HFD exposure did not influence the protein level of HMG-CoAS2 in the duodenum, it did upregulate the expression of the *HMGCS2* gene in the duodenum. This was not the case for the jejunum or the liver. With respect to glucose metabolism, already a 3-day HFD exposure downregulated genes related to glucose metabolism in the small intestine. In the liver, a 3-day exposure to HFD influenced neither the protein levels of HMG-CoAS2 nor the expression of genes related to fatty acid or glucose metabolism, and a 14-day HFD exposure upregulated only genes involved in glucose metabolism.

The ability of the intestine, especially the jejunum, to respond to HFD via modulating its bioenergetics raised the question about the metabolic properties of enterocytes isolated from the different sections of the intestine and the hepatocytes from the liver. Experiments with the Extracellular Flux Analyzer (XF24) indicated that cell lines from the jejunum had a higher capacity to activate oxidative metabolism than cells from the duodenum. In contrast, duodenal cells more efficiently metabolized glucose to lactate than jejunal or hepatic cells.

With the last set of experiments we analyzed the possible role of mitochondrial fatty acid oxidation in the release of GLP-1 from an enteroendocrine cell line model. We could clearly show that oleic acid (OA) did not stimulate the release of GLP-1 because of its oxidation. Moreover, measurements of cellular bioenergetics with the XF24 showed that OA potentially uncoupled mitochondrial respiration and induced a switch of cellular metabolism towards aerobic glycolysis. An inhibition of glycolysis potentially inhibited the OA-induced release of GLP-1, suggesting that in the cell culture model the final trigger for the OA-induced GLP-1 release may involve the ATP produced during glycolysis and not the oxidation of OA in the mitochondria. In rats, an intragastric (IG) infusion of OA, induced a peak of HPV plasma GLP-1 concentration 5-10 min after infusion. We could, however, not completely inhibit this transient peak via an IG infusion of 2-deoxy-D-glucose, a potent inhibitor of glycolysis.

Together, these results indicate that a substantial dietary fat load induces an early adaptation of the jejunum rather than the duodenum or the liver to the diet. The findings underline the importance of the intestine, and in particular the jejunum, in sensing the composition of the diet and in adapting its own metabolism accordingly. Thus, the study of early diet-induced metabolic changes in the small intestine may reveal ways to help counteract obesity by nutritional interventions. Also, studying the pathways that mediate the OA-induced release of GLP-1 may raise the possibility to promote nutritional interventions as a valuable alternative to the use of pharmacological GLP-1 receptor agonists in the treatment of type-2-diabetes and obesity.

Zusammenfassung

Unser westlicher Lebensstil mit wenig körperlicher Bewegung und einem Überfluss an Nahrung ist mit der epidemisch zunehmenden, morbiden Adipositas assoziiert. Der Dünndarm ist direkt den Nährstoffen der aufgenommenen Diät ausgesetzt und resorbiert diese in den Blutkreislauf. Damit ist der Dünndarm in einer idealen Position, um das Vorhandensein von Energie im Darmlumen quantitativ und qualitativ zu überwachen und diese Information an das Gehirn weiterzuleiten.

In früheren Studien wurde gezeigt, dass das Jejunum metabolisch sehr flexibel auf die Zusammensetzung der Nahrung reagieren kann, insbesondere wenn die Nahrung fettreich ist. Weitere Studien zeigten, dass bei chronischer Aufnahme einer Hochfettdiät (HFD) eine pharmakologische Modulation des Fettsäuren-Metabolismus in den Epithel-Zellen des Dünndarms die metabolische Antwort des Jejunums auf die Diät verstärkt und die Konzentration des Sättigungshormons Glucagon-like-peptide 1 (GLP-1) in der Pfortader von Ratten erhöht.

Basierend auf diesen Ergebnissen, untersuchten wir in der ersten Serie von Experimenten die metabolische Reaktion des Duodenums, Jejunums und der Leber von Mäusen auf den 3- oder 14-tägigen Verzehr einer HFD. Als Kontrolle dienten Mäuse, denen jeweils für die gleiche Zeit eine Kontrolldiät (KD) gefüttert wurde. Wir konnten zeigen, dass im Vergleich zum Duodenum oder zur Leber, das Jejunum sich metabolisch stark an die Diät anpassen konnte. So war im Vergleich zu Mäusen die mit KD gefüttert wurden bereits nach 3-tägiger HFD-Fütterung der Proteingehalt von 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzym-A (HMG-CoAS2), dem Schlüsselenzym der Ketonkörpersynthese, im Jejunum deutlich hochreguliert. Der Gehalt desselben Proteins war im Duodenum oder in der Leber auch nach einer 14-tägigen Fütterung mit HFD kaum verändert. Im Gegensatz zum Proteingehalt, regulierte die 3-tägige Fütterung der HFD im Duodenum, aber nicht im Jejunum oder in der Leber die Expression des *HMGCS2* Gens stark hoch. Die Gene des Glukosemetabolismus wurden nach 3-tägiger Fütterung der HFD im ganzen

Dünndarm herunter- und nach 14-tägiger Fütterung der HFD in der Leber hochreguliert.

Da das Jejunum anders als das Duodenum oder die Leber sich bereits nach einer 3-tägigen Fütterung von HFD metabolisch an die Diät anpasste, untersuchten wir als nächstes die metabolischen Eigenschaften von Zelllinien, welche spezifisch vom Duodenum, Jejunum und der Leber isoliert wurden, mit dem Seahorse Extracellular Flux Analyser (XF24). Diese Experimente zeigten, dass die jejunale Zelllinie eine viel höhere Kapazität hatte, die oxidative Phosphorylierung zu benutzen, als die duodenale Zelllinie. Im Gegensatz dazu wandelte die duodenale Zelllinie deutlich mehr Glukose in Laktat um als die Zelllinien von Jejunum oder Leber.

In der letzten Serie von Experimenten überprüften wir den Einfluss der Fettsäureoxidation in den enteroendokrinen Zellen auf die Sekretion von GLP-1. Dabei konnten wir zeigen, dass Ölsäure die Sekretion von GLP-1 stimulierte, dass dieser Effekt aber unabhängig von der Oxidation der Ölsäure war. Vielmehr führte die Ölsäure zu einer Entkopplung der mitochondrialen Atmungskette und bewirkte dadurch eine Verschiebung des Zellstoffwechsels in Richtung aerober Glykolyse. Eine Hemmung der Glykolyse mit 2-Desox-Glukose reduzierte die durch die Ölsäure stimulierte Sekretion von GLP-1. Bei in-vivo Versuchen an Ratten konnten wir diese Ergebnisse jedoch nur zum Teil reproduzieren.

Insgesamt unterstreichen diese Ergebnisse die Rolle des Dünndarms bei der Erfassung der Diätzusammensetzung und bei der Aufrechterhaltung der Energiehomöostase. Das Verständnis der Mechanismen, welche den diätinduzierten metabolischen Veränderungen im Dünndarm zugrunde liegen, könnte eine Möglichkeit eröffnen, die Entstehung der Adipositas durch personalisierte Ernährung zu beeinflussen.