

Fatty acid metabolism and control of food intake

Doctoral Thesis

Author(s):

Jambor de Sousa, Ulrike Leonore

Publication date:

2005

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005062037>

Rights / license:

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

Diss. ETH No. 16153

Fatty Acid Metabolism and Control of Food Intake

A Dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
For the degree of
Doctor of Natural Sciences

Presented by
Ulrike Leonore Jambor de Sousa
Diplom-Oecotrophologin (Giessen, Germany)
Born March 24th, 1973, Germany

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Wolfgang Langhans, examiner
Prof. Dr. Nori Geary, coexaminer
Dr. Monika Leonhardt, coexaminer

Zurich 2005

1. Summary

The major hypothesis for the metabolic control of eating posits that eating is inversely related to the rate of fuel oxidation. In line with this idea, blockade of fatty acid oxidation (FAO) by peripheral administration of inhibitors of FAO stimulates feeding in many species, including humans. Even though it is not proven yet that the liver is involved in this feeding-stimulatory effect, several findings suggest that this is the case. Yet, whether an increased hepatic FAO inhibits feeding is unknown. Therefore, the central aim of this thesis was to determine whether enhanced hepatic FAO reduces food intake.

In the first study, we infused the long chain fatty acid (LCFA) oleic acid (OA) and the medium chain fatty acid (MCFA) caprylic acid (CA) into the hepatic portal vein (HPV) of male rats to assess whether HPV infusion of these two fatty acids reduces food intake and whether their relative efficacy differs. MCFA are oxidized faster in the liver because they are absorbed directly into the hepatic portal vein and because they can enter the mitochondria independent of the enzyme carnitine-palmitoyl-transferase 1 (CPT 1). Hence, we hypothesized that HPV CA will have a greater feeding-inhibitory potency than HPV OA. This hypothesis was not supported. Rather, 6-h HPV infusion of 14 $\mu\text{g}/\text{min}$ OA produced a robust inhibition of feeding, whereas a dose of CA that was 14 times larger (200 $\mu\text{g}/\text{min}$) than that of OA failed to have any effect on feeding. OA (14 $\mu\text{g}/\text{min}$) and an 80-fold greater dose of CA (1100 $\mu\text{g}/\text{min}$) inhibited feeding similarly. These findings indicate that increased hepatic FAO is unlikely to be responsible for the feeding-inhibitory effect of HPV OA. The plasma concentrations of the liver enzymes γ -glutamyltransferase (γ -GT) and alanine aminotransferase (ALT), the pro-inflammatory cytokines interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), and the stress hormone corticosterone (Cort) all remained in the physiological range after HPV OA, indicating that liver toxicity was also not the cause of HPV OA's potent effect on feeding.

Summary

In the second study, 90-min, dark onset HPV infusion of CA (2.3 mg/min) after 18-h food-deprivation reduced the size of the first meal about 40% and reduced 24-h food intake by about 13%. The feeding-inhibitory effect of CA originated in the liver because identical infusions of CA into the vena cava did not affect food intake. The postprandial decreases in plasma free fatty acids (FFA) and β -hydroxybutyrate (BHB) were attenuated in HPV CA-treated rats, indicating that hepatic FAO was increased in HPV CA infused rats relative to controls. This is consistent with the hypothesis that an increased hepatic FAO reduces food intake, but does not prove that there is a causal link between increased hepatic FAO and reduced food intake. Further the finding that animals started eating after food deprivation although their hepatic FAO was enhanced clearly demonstrates that beside hepatic FAO other mechanisms must be involved in the regulation of food intake.

A conditioned taste aversion test was done in separate rats. Some, but not all, rats displayed aversions to saccharine paired with HPV CA infusions, but there was no significant association between the feeding-inhibitory effect of CA on the conditioning day and saccharine intake on the test day. Plasma concentrations of IL-6, TNF- α , γ -GT, ALT and Cort stayed at basal levels. Taken together, these data suggest that the feeding-inhibitory effect of CA was not due only to aversion or toxicity.

In the third study we wanted to develop an alternative approach to test the hypothesis that increased hepatic FAO can inhibit feeding behavior. We used transgenic methods to increase the expression of CPT 1 α , an enzyme which catalyzes the rate limiting step of hepatic FAO, in the 293T human embryonic kidney cell line. Activation of the *CPT 1 α* transgene through an inducible tet-on gene expression system increased mitochondrial long-chain fatty acid oxidation about 6-fold. Increasing palmitic acid concentration, however, decreased viability of *CPT 1 α* over-expressing cells, and *CPT 1 α* over-expression increased cell death. These data encourage the use of this transgenic system for future *in-vivo* studies of the roles of fatty acid oxidation in the control of metabolism and energy balance.

2. Zusammenfassung

Die wesentliche Hypothese zur metabolischen Kontrolle der Nahrungsaufnahme postuliert, dass die Nahrungsaufnahme mit der Rate der zur Oxidation verfügbaren Nährstoffe invers korreliert ist. In Übereinstimmung mit dieser Hypothese wird eine periphere Administration von Fettsäureoxidations (FAO) - Inhibitoren die FAO gehemmt und die Nahrungsaufnahme in diversen Spezies, u. a. auch beim Menschen, gesteigert. Obwohl es bis jetzt nicht bewiesen ist, dass die Leber an diesem verzehrsstimulierenden Effekt beteiligt ist, sprechen viele Erkenntnisse dafür, dass dies der Fall ist. Bisher ist jedoch unbekannt, ob eine erhöhte hepatische FAO den Verzehr reduziert. Das Hauptziel dieser Doktorarbeit war es zu untersuchen, ob eine erhöhte FAO in der Leber die Nahrungsaufnahme reduziert.

In der ersten Studie infundierten wir die langkettige Fettsäure (LCFA) Ölsäure (OA) und die mittelkettige Fettsäure (MCFA) Caprylsäure (CA) in die hepatische Pfortader (HPV) von männlichen Ratten, um zu untersuchen, ob die HPV Infusion dieser beiden Fettsäuren die Nahrungsaufnahme reduziert und ob diese sich in ihrer relativen Wirksamkeit unterscheiden. MCFA werden in der Leber schneller oxidiert, da sie direkt in die HPV resorbiert werden und da sie unabhängig von Carnitin-Palmitoyl-Transferase 1 (CPT 1) in die Mitochondrien eintreten können. Wir vermuteten deshalb, dass CA nach HPV Infusion den Verzehr stärker reduziert als OA.

Diese Annahme wurde jedoch nicht bestätigt. Vielmehr erzeugte eine 6-stündige HPV Infusion vom 14 $\mu\text{g}/\text{min}$ OA eine starke Hemmung der Nahrungsaufnahme, wohingegen eine 14-mal höhere CA Dosis (200 $\mu\text{g}/\text{min}$) keinen Effekt auf die Nahrungsaufnahme ausübte. OA (14 $\mu\text{g}/\text{min}$) und eine 80-fach höhere CA Dosis (1100 mg/min) hemmten die Nahrungsaufnahme ähnlich stark. Nach diesen Ergebnissen ist es unwahrscheinlich, dass eine erhöhte hepatische FAO für den verzehrsreduzierenden Effekt von OA verantwortlich ist. Die Plasmakonzentrationen der Leberenzyme γ -Glutamyl-Transferase (γ -GT) und Alanin-Aminotransferase (ALT), der proinflammatorischen Zytokine Interleukin-6 (IL-6) und Tumor-Nekrosis-Faktor- α

(TNF- α) und des Stresshormons Corticosteron (Cort) blieben alle nach der HPV OA Infusion im physiologischen Bereich. Demzufolge war auch ein toxischer Effekt von OA auf die Leber nicht der Grund des starken verzehrsreduzierenden Effektes.

In der zweiten Studie reduzierte eine 90-minütige HPV Infusion von CA (2.3 mg/min), die nach einer 18-stündigen Fastenperiode mit Beginn Dunkelphase startete, die Grösse der ersten Nacht Mahlzeit um 40% und die 24-h Futteraufnahme um 13%. Der verzehrsreduzierende Effekt von CA ging von der Leber aus, da die gleiche CA Infusion in die Vena Cava die Nahrungsaufnahme nicht beeinflusste. Der postprandiale Abfall der freien Fettsäuren (FFA) und des β -Hydroxybutyrates (BHB) im Plasma war in den HPV CA behandelten Ratten schwächer, was darauf hindeutet, dass die hepatische FAO in HPV CA Infundierten im Vergleich zu den Kontrolltieren erhöht war. Dies stimmt mit der Hypothese überein, dass eine erhöhte hepatische FAO die Nahrungsaufnahme reduziert, beweist aber nicht, dass ein kausaler Zusammenhang zwischen erhöhter hepatischer FAO und reduzierter Nahrungsaufnahme besteht.

Ein Geschmacksaversionstest wurde mit separaten Tieren durchgeführt. Einige, aber nicht alle Ratten zeigten dabei Aversionen gegenüber Saccharin-Lösung, deren Verzehr mit der HPV CA Infusion gekoppelt war. Es gab aber keine signifikante Assoziation zwischen dem verzehrsreduzierenden CA Effekt am Konditionierungstag und der Aufnahme der Saccharinlösung am Testtag. Die Plasmakonzentrationen von IL-6, TNF- α , γ -GT, ALT und Cort blieben auf basalem Niveau. All diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Hemmeffekt von CA auf den Verzehr nicht ausschliesslich auf einer Aversion oder Toxizität basierte.

In der dritten Studie wollten wir einem alternativen Ansatz entwickeln, um die Hypothese zu testen, dass eine erhöhte hepatische FAO die Nahrungsaufnahme hemmen kann. Wir nutzten transgene Methoden, um die Expression von *CPT 1 α* in 293 T humanen embryonalen Nierenzellen zu erhöhen. CPT 1 α ist ein Enzym, das den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der FAO katalysiert. Die Aktivierung des *CPT 1 α* Transgens durch ein induzierbares tet-on Gen-Expressionssystem erhöhte die

Zusammenfassung

mitochondriale langkettige Fettsäureoxidation um das 6-Fache. Eine Erhöhung der Palmitinsäurekonzentration erniedrigte jedoch die Viabilität der CPT 1 α überexprimierenden Zellen und erhöhte deren Zelltod. Trotzdem ermutigen diese Daten den Einsatz eines transgenen Systems in zukünftigen *in-vivo* Studien zur Rolle der Fettsäureoxidation bei der Kontrolle von Stoffwechsel und Energiehaushalt.