

## 1. Einführung

Die Insulindysregulation (ID) des Pferdes ist eine Störung des Insulinstoffwechsels (1), die durch hyperinsulinämische Phasen gekennzeichnet ist. Sie kann mit weiteren Symptomen einhergehen, die als Equines Metabolisches Syndrom (EMS) (2) zusammengefasst werden. Von besonderer klinischer Bedeutung ist dabei die aus der Hyperinsulinämie resultierende Prädisposition für eine Hufrehe (3-5).

Arginin ist eine proteinogene Aminosäure und ein zentraler Bestandteil des Harnstoffzyklus. Durch die endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase (eNOS) wird Arginin zu Stickstoffmonoxid (NO) und Citrullin hydrolysiert (6). Stickstoffmonoxid fungiert als Vasodilatator. Zudem reguliert es die Thrombozytenaggregation, adhäsive Eigenschaften der Gefäße und die Gefäßpermeabilität (7, 8). Ein Mangel an Stickstoffmonoxid führt zur vaskulären Dysfunktion (9). Ein potenter kompetitiver Inhibitor der eNOS ist das asymmetrische dimethylierte Arginin (ADMA).

Die vaskuläre Dysfunktion ist in der Humanmedizin mit einer Vielzahl von Erkrankungen assoziiert. Arginin wirkt unter anderem stimulierend auf die  $\beta$ -Zellen des Pankreas. Ebenso kann Insulin über Arginin und NO vasodilatatorische Effekte entfalten. Daher besteht auf mehreren Ebenen ein funktioneller Zusammenhang zwischen dem Arginin- und dem Insulinstoffwechsel. Beim Diabetes mellitus führt ein NO-Mangel zu einer erhöhten Insulinclearance und verminderter Insulinsekretion (10, 11).

Auch bei insulindysregulierten Pferden konnte eine generelle vaskuläre Dysfunktion nachgewiesen werden. Bei Pferden mit endokrinopathischer Hufrehe wurden zudem reduzierte NO-Konzentrationen gemessen (12, 13). Entsprechende Veränderungen ließen sich auch in subklinisch erhöhten Blutdrücken und Herzfrequenzen messen (14-16). In Metabolomanalysen konnten niedrigere Konzentrationen an Arginin und Argininmetaboliten im Zusammenhang mit ID, Hufrehe oder Glukosechallenges beobachtet werden (17-20).

Ziel dieser Arbeit ist es, den Argininstoffwechsel im Kontext des Insulinstoffwechsels beim Pferd besser zu verstehen. Die zugrunde liegende Hypothese lautet, dass insulindysregulierte Pferde im Vergleich zu gesunden Pferden Veränderungen in den Konzentrationen von Arginin, Stickstoffmonoxid und deren Metaboliten aufweisen.



## **2. Literaturübersicht**

### **2.1. Insulindysregulation**

#### **2.1.1. Physiologische Grundlagen**

Insulin ist ein Schlüsselmolekül der Glukosehomöostase, das von den  $\beta$ -Zellen in den Langerhans-Inseln gebildet wird. Die Insulinsekretion wird primär durch die Glukoseaufnahme über die Glukosetransporter GLUT 1 und -2 ausgelöst, aber von vielen weiteren Hormonen moduliert (21).

Insulin löst durch die Bindung an den Insulinrezeptor dessen Phosphorylierung und damit die Aktivierung der PI3-Kinase und die Vereinigung des Glukosetransporters GLUT 4 mit der Zellmembran aus. Letzterer ermöglicht die Glukoseaufnahme von Adipozyten und Myozyten, während die PI3-Kinase über eine komplexe Signalkaskade die Fettsäuresynthese, Proteinsynthese und Glykogensynthese einleitet (22, 23). Zugleich wirkt Insulin antilipolytisch, antiapoptotisch und wachstumsfördernd. Damit ist Insulin das wichtigste anabole Hormon.

Sinkt der Glukosespiegel im Blut, wird aus den  $\alpha$ -Zellen des Pankreas Glucagon freigesetzt, das die Gluconeogenese, Glykogenolyse, Lipolyse,  $\beta$ -Oxidation und Bildung von Ketonkörpern fördert (24-26). Durch Glucagon kommt es zu einem katabolen Stoffwechsel. Bei proteinreicher, kohlenhydratarmer Ernährung werden sowohl Glucagon als auch Insulin stimuliert.

Insulin und Glucagon werden beide durch Somatostatin gehemmt, welches im Hypothalamus und in den  $\delta$ -Zellen des Pankreas gebildet wird. Dabei ist vorrangig die parakrine Wirkung von Somatostatin aus den  $\delta$ -Zellen des Pankreas von Bedeutung (27-30).

Außerdem steigern die als Inkretine bezeichneten gastrointestinalen Hormone Glucagon-like Peptide 1 und 2 (GLP 1/2) und das glukoseunabhängige gastrointestinale Peptid (GIP) die Insulinsekretion. Diese Verbindung wird enteroinsulinäre Achse genannt (24, 31, 32). Hingegen wirken das sympathische Nervensystem und Katecholamine hemmend auf die Insulinsekretion.

#### **2.1.2. Pathophysiologie**

Als Insulindysregulation (ID) beschreibt man eine Stoffwechselstörung von Equiden mit einer geschätzten Prävalenz von 16-23% bei Ponies (33-35) und 5-16% bei Pferden (36). Dabei variiert die Häufigkeit der Erkrankung je nach

Rasse und Nutzungsart stark. Sie geht mit einer übermäßigen Insulinproduktion nach Aufnahme leicht verdaulicher Kohlenhydrate einher. Ein Teil der Pferde zeigt zu diesen chronischen postprandialen hyperinsulinämischen Phasen, auch nüchtern erhöhte Insulinspiegel (37). Auch wenn eine ID mit einer Insulinresistenz einhergehen kann, ist zwischen der Insulinsekretion und der Sensitivität der Insulinrezeptoren zu unterscheiden, da nicht alle Pferde mit ID auch eine Insulinresistenz aufweisen (1). Das Erreichen eines euglykämischen hyperinsulinämischen Zustandes bei einem insulinresistenten Individuum lässt sich über mehrere, verschiedene Mechanismen erklären. Zum Beispiel ist es möglich, dass die zelluläre Glukoseaufnahme unter Insulineinfluss durch eine Glukosefreisetzung aus der Leber kompensiert wird. Außerdem bestehen erste Hinweise für gewebespezifische Unterschiede in der Aktivierung unterschiedlicher Zweige der Insulinsignalkaskade (17, 18, 38). Es könnte sich also um eine organspezifische Insulinsensitivität handeln, die auf systemischer Ebene mit konventionellen diagnostischen Methoden nicht zu erfassen ist (siehe Kapitel 2.1.5. Diagnosestellung). Auch wenn es an Informationen über die Langzeitemwicklung einer unbehandelten ID mit einer Charakterisierung der Insulinsensitivität mangelt, ist denkbar, dass eine Insulinresistenz infolge einer ID auftreten kann, wie es vielfach bei prädiabetischen Menschen nachgewiesen wurde (39-41).

### 2.1.3. Pathogenese

Konkrete Ursachen für ID konnten bislang nicht identifiziert werden. Es besteht allerdings eine starke Korrelation mit Adipositas (1, 42-45), die sich über Adipokine auf den gesamten Stoffwechsel auswirkt (46-48). Zudem treten bei Equiden mit ID häufig erhöhte Inkretinspiegel auf (24, 49, 50). Beide hormonellen Veränderungen stehen in unmittelbarem Zusammenhang mit Umweltfaktoren. An erster Stelle sind stärke- und/oder zuckerreiche Fütterung und Bewegungsintensität (31, 51-54), welche sowohl Adipositas als auch Hypoadiponektinämie und Hyperinkretinämie begünstigen.

Während unklar bleibt, welche dieser Faktoren als primäre Ursache anzusehen sind, konnten auch sogenannte nicht-modifizierbare Einflussfaktoren in Form von für ID begünstigenden Allelen bestimmter Gene und single-nucleotide-polymorphisms (SNPs) identifiziert werden. Bislang konnte kein SNP konstant für

mehrere Rassen oder spezifische Einflüsse nachgewiesen werden (55-59), allerdings steht möglicherweise der SNP BIEC2\_383954 auf Chromosom 17 bei Fippferden mit ID im Zusammenhang. Dieser Genlocus ist bislang wenig erforscht, scheint aber mit der Glukosehomöostase, der Glukoneogenese und einem Arginin-Rezeptor (ARGLU 1) (60) assoziiert zu sein. Außerdem konnte bei Welsh Ponys eine Assoziation zwischen den basalen Insulinkonzentrationen und dem A-Allel des HMGA2-Gens festgestellt werden. Dieses führte zu kleineren Individuen mit höheren basalen Insulinspiegeln (56, 61).

### 2.1.4. Equines metabolisches Syndrom

Bei verminderter Insulinsensitivität in Kombination mit anderen Faktoren wie zum Beispiel einer reduzierten Futteraufnahme, kann es zu einer negativen Energiebilanz und gesteigerten Lipolyse kommen, die mit einem Anstieg der freien Triglyceride einhergeht (62). Daraus kann eine Hyperlipämie resultieren. Außerdem scheint ID einen proinflammatorischen Zustand und vermehrten oxidativen Stress zu verursachen (63, 64).

Weiterhin wurden bei Equiden mit ID eine erhöhte Ruheherzfrequenz und erhöhter Blutdruck, sowie generalisierte Anzeichen einer vaskulären Dysfunktion beschrieben (12, 13, 65).

Schließlich stellt die endokrinopathische Hufrehe die bedeutendste potenzielle Folge der ID dar. Sie wird zunehmend auch als hyperinsulinämische Hufrehe bezeichnet („hyperinsulinemia associated laminitis“). Trotz hoher relativer Häufigkeit im Vergleich zu anderen Reheformen (90%) (66), ist die Pathogenese der endokrinopathischen Hufrehe noch unklar. Möglicherweise tragen die bereits genannten Folgen der ID zur Schwächung der Huflamellen bei. Am vielversprechendsten erscheint zurzeit die Hypothese einer Schwächung des Zytoskeletts durch die Bindung von Insulin an Insulin-Like-Growth-Faktor-1-Rezeptoren in den Lamellen des Hufrageapparats (67-69).

Zusammenfassend hat ID weitreichende Auswirkungen auf den Organismus, die in ihrer Gesamtheit und insbesondere mit der daraus hervorgehenden Prädisposition für Hufrehe, als Equines Metabolisches Syndrom bezeichnet werden (70). Das Equine Metabolische Syndrom (EMS) wurde 2002 erstmalig durch Johnson (45) benannt, während die Differenzierung zur Insulindysregulation 2014 durch Frank und Tadros (1) eingeführt wurde.