

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Fettgewebe und Adipokine

1.1.1 Subkutane und viszerale Fettlokalisationen

Das weiße Fettgewebe kann nach seiner Lokalisation in subkutanes (s.c.) und viszerales (v.c.) Fettgewebe unterteilt werden. Die unmittelbar unter der Haut liegende Fettschicht wird als s.c. Fettschicht bezeichnet (Subkutis = Unterhaut) und ist von außen sichtbar. Unter dem Begriff v.c. Fett wird vor allem das Fett im tieferen abdominalen Bereich, welches die Organe umgibt, verstanden. Darunter fällt beispielsweise das perirenale, omentale oder auch das mesenteriale Fett. Gerade die Anreicherung von v.c. Fett wird mittlerweile als ein unabhängiger Risikofaktor für gängige Gesundheitsrisiken, die mit Fettleibigkeit in Verbindung stehen, wie z.B. Herz-Kreislauf-Erkrankungen oder Diabetes mellitus Typ-2 (Bjorntorp, 1991; Emery et al., 1993), angesehen. Allgemein steht sie im Zusammenhang mit Morbidität und Mortalität (Bjorntorp, 1991; Emery et al., 1993). Nichtsdestotrotz ist bisher über die Verbindung zwischen der v.c. Fettanreicherung und den oben erwähnten Gesundheitsproblemen nur sehr wenig bekannt, und auch dieser Zusammenhang ist kaum verstanden. Allerdings besteht die Möglichkeit, dass bestimmte Anteile des Fetts (z. B. das mesenteriale und das omentale Fett) in das venöse System abgeleitet werden, und somit Fettsäuren und andere vom Fettgewebe sezernierte Produkte direkt in die Leber gelangen (Bjorntorp, 1991) und diese belasten bzw. schädigen (Bsp. Fettlebersyndrom bei Kühen). Diese Zusammenhänge sind v. a. in den Bereichen der Humanmedizin und durch Tierversuche an Ratten und Mäusen beobachtet worden.

1.1.2 Die Transitionsperiode

Die Transitionsperiode bei der Milchkuh bezeichnet die Umstellung von der Gravidität zur Laktation und wird als Zeitraum zwischen der 3. Woche ante partum (a.p.) und der 3. Woche post partum (p.p.) definiert (Grummer, 1995; Drackley, 1999). Diese als kritisch anzusehende Zeit, die von besonderer Bedeutung für Gesundheit, Milchproduktion und Profitabilität der Kuh ist (Drackley, 1999), ist gekennzeichnet durch hormonelle Veränderungen in

Vorbereitung auf die bevorstehende Kalbung und Laktation (Grummer, 1995) sowie durch hohe metabolische Anforderungen durch den Fötus und die Milchsynthese (Bell, 1995). Die Grenze, bei der Energiebedarf über die Futteraufnahme nicht mehr gedeckt werden kann, auch nicht bei entsprechender Energiedichte der Ration und optimalem Management, liegt bei einer Laktationsleistung von ca. 10.000 kg, einem Wert, der bei Hochleistungskühen durchaus erreicht wird (Breves & Rodehutsord, 2000). Da sich die Trockenmasseaufnahme jedoch schon vor der Kalbung reduziert (Grummer et al., 1995) und p.p. nur allmählich ansteigt (Rehage & Kaske, 2004), befinden sich die Tiere in der Regel zu Beginn der Laktation in einer negativen Energiebilanz (NEB) (Drackley, 1999).

Gelingt es dem Tier nicht, seinen Energiestoffwechsel schnellstmöglich an den Bedarf anzupassen, stellen sich metabolische und damit verschiedenste gesundheitliche Probleme ein, wie beispielsweise Gebärparese, Acetonämie, Nachgeburtsverhaltung oder Metritis, die für den Landwirt kostspielig sind (Drackley, 1999). Jedoch ist die NEB in einem gewissen Umfang als physiologisch anzusehen (Bell, 1995) und ist somit nicht die primäre Ursache für das erhöhte Risiko der Tiere infektiöse sowie nicht-infektiöse Erkrankungen während der Transitionsperiode zu erleiden. Vielmehr ist eine unzureichende Adaption an die NEB der Auslöser (Rehage & Kaske, 2004), vorausgesetzt die NEB bewegt sich in einem adäquaten Bereich.

1.2 Adipokine und fettsäurebindende Rezeptoren

Als Hauptaufgabe des weißen Fettgewebes wurde lange Zeit die Speicherung von Energie angesehen, darüber hinaus dient es als Stützgewebe oder auch als thermischer Isolator (Bsp.: Schutz der Nieren vor Auskühlung). In den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurde jedoch entdeckt, dass das weiße Fettgewebe auch als endokrines Organ fungiert (Hotamisligl et al., 1993; Zhang et al., 1994), welches eine ganze Reihe von Hormonen, die sog. Adipokine oder auch Adipozytokine, sezerniert (Szendrödi & Roden, 2004). Die biologischen Funktionen dieser Adipokine sind äußerst vielfältig. Sie können sowohl lokal (autokrin/parakrin) als auch systemisch (endokrin) als Botenstoffe wirken und übernehmen auch eine Reihe von Steuerungsfunktionen im Organismus. Die meisten Informationen über die Wirkungsweisen und Aktivitäten dieser Adipokine sind bei Monogastriern, besonders bei Menschen und Nagern, erforscht. Vor allem in der Humanmedizin werden Adipokine mit großem Interesse untersucht, da ihnen eine bedeutende Rolle bei der Entstehung zahlreicher Erkrankungen im Zusammenhang mit dem sog. metabolischen Syndrom zugesprochen wird.

Reaven (1988) fasste unter dem Begriff „Syndrom X“ (heute bekannt als metabolisches Syndrom) eine Häufung verschiedener Risikofaktoren wie Dyslipidämie, Hypertonie und Hyperglykämie zusammen. Das metabolische Syndrom, dem auch eine verringerte Insulinsensitivität zugrunde liegt, ist ein multikomplexer Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen.

Die Dysregulation von Adipokinen bei Adipositas steht im Zusammenhang mit Folgeerkrankungen, wie beispielsweise Diabetes mellitus Typ-2 und Arteriosklerose. Als Vorstufe dieser unter dem Begriff „metabolische Erkrankungen“ zusammengefassten negativen Veränderungen bei Adipositas tritt eine sich verändernde Insulinsensitivität auf, die wiederum zu einer Störung der Regulation des Glukose- und Fettstoffwechsels führt (Abb. 1).

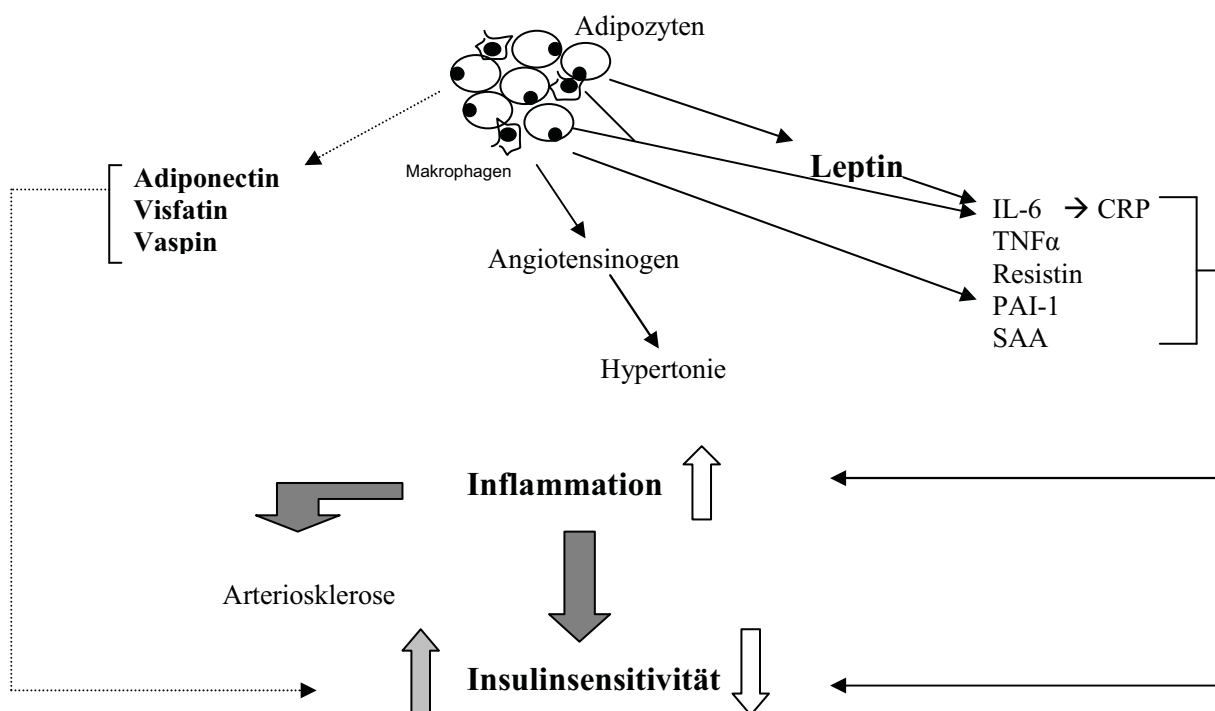


Abbildung 1: Fettgewebe, Adipokine und Insulinresistenz im Mausmodell. CRP: C-reaktives Protein; IL-6: Interleukin-6; PAI-1: Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ-1; TNF α : Tumornekrosefaktor α ; SAA: Serum-Amyloid-A (modifiziert nach Antuna-Puente et al., 2008).

Mittlerweile ist eine große Anzahl von Adipokinen bekannt, die alle Teil des kommunikativen Netzwerks zwischen dem Fettgewebe und anderen Organen (z. B. Skelettmuskeln, Gehirn, zentralem Nervensystem u. a.) sind und in vielen Regulationsmechanismen (z. B. Hunger, Energiebalance, Immunität, Insulinsensitivität) eine Rolle spielen (Ronti et al., 2006).

Besonders im Zusammenhang mit dem metabolischen Syndrom und Adipositas hat sich bei Monogastriern gezeigt, dass v. a. die Adipokine Leptin und Adiponectin sehr stark, im geringen Maße auch Visfatin, involviert sind und durchaus therapeutischen Charakter haben können, so dass die Erforschung ihrer genauen Funktion und Regulation intensiviert wurde.

1.2.1 *Leptin und die Subtypen des Leptinrezeptors*

Sowohl bei Monogastriern als auch bei Wiederkäuern ist Leptin das bisher am intensivsten untersuchte Adipokin, das in vielen Bereichen des Organismus tätig ist. Leptin ist ein Proteohormon, welches aus 167 Aminosäuren besteht und ein Molekulargewicht von 16 kDa aufweist. Das bovine Gen, das für Leptin codiert, besteht aus 3 Exons (vgl. Abb. 2) und umfasst ungefähr 18,9 kb des Genoms (Taniguchi et al., 2002). Die Aminosäuresequenzen verschiedener Spezies, beispielsweise von Mensch, verschiedenen Affenarten, Hund, Rind und Nagern stimmen zu 67 - 97% überein (Zhang et al., 1997). Der Vergleich zwischen den Wiederkäuerspezies Rind und Schaf zeigt eine zu 98% identische Sequenz.

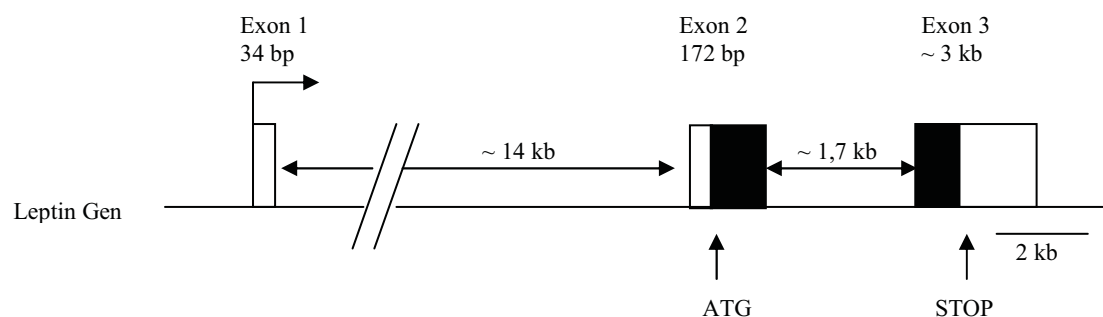


Abbildung 2: Intron-/Exonstruktur des bovinen Leptin-Gens. Die Position der drei Exons ist mit Rechtecken dargestellt: codierende Region: schwarze Rechtecke; nichtcodierende Region: leeren Rechtecke. bp: Basenpaare, kb: Kilobasen (modifiziert nach Taniguchi et al., 2002).

Die wichtigste Funktion des Leptins liegt in der Aufrechterhaltung der Energiehomöostase. Hierzu gehören z. B. die Regulierung des Appetits, des Energieverbrauchs sowie die Nährstoffverteilung zwischen den Geweben. Außerdem besitzt es zentrale Funktionen in der Körperzusammensetzung, bei der Reproduktion, bei der Regulation des Immunsystems, bei der Zellentwicklung und bei der Hormonsekretion verschiedener endokriner Drüsen (Kershaw & Flier, 2004). Sowohl beim Wiederkäuer (Chelikani et al., 2003) als auch beim Menschen und bei Nagetieren (Huan et al., 2003; Kershaw & Flier, 2004; Margetic et al., 2002) konnte

nachgewiesen werden, dass Leptin über einen für Leptin spezifischen Rezeptoren wirkt. Diese Wirkung erfolgt nicht nur endokrin, beispielsweise im Gehirn, sondern auch autokrin oder parakrin innerhalb der Gewebe, in denen es gebildet wurde, beispielsweise im Fettgewebe. Eine Eigenschaft des Leptins, die bei der Betrachtung des Krankheitsbildes Adipositas als besonders interessant erscheint, ist seine Fähigkeit, die Lipolyse im Fettgewebe zu hemmen und gleichzeitig die Lipogenese zu fördern. Leptin ist Teil des Rückkopplungssystems, das die Fettspeicher im Körper reguliert und eng mit dem Anteil des Körperfetts und mit Gewichtsschwankungen korreliert. Aus diesem Grund gibt der Leptinspiegel im Blut unter Bedingungen des Fließgleichgewichts Aufschluss über die Gesamtfettmasse des Körpers, sofern dabei gleichbleibende Bedingungen in Bezug auf die Energiebilanz stehen. Dieser Zusammenhang zwischen Leptin und Fettgehalt wird auch bei den landwirtschaftlichen Nutztieren untersucht. Die Gruppen um Ehrhardt (2000) und Geary (2003) beobachteten beim Rind eine Korrelation zwischen Plasma-Leptin und Körperfett bzw. der s.c. Fettdicke. Diese Zusammenhänge finden sich beim Schwein als auch beim Rind wieder (Altmann et al., 2006; Berg et al., 2003; Bispham et al., 2002; Blache et al., 2000; Daniel et al., 2002; Delavaud et al., 2000; Thomas et al., 2001). Beim Schaf sind jedoch bisher nur ausgewachsene Tiere oder neonatale Lämmer untersucht worden.

Die Signaltransduktion/Signalweiterleitung von Leptin erfolgt über membranständige Rezeptoren. Beim Nager sind bisher sechs Isoformen dieser Rezeptoren bekannt; diese sind die Produkte des Leptinrezeptorgens und resultieren aus alternativem mRNA Splicing und/oder proteolytischer Verarbeitung (Chua et al., 1997; Tartaglia, 1997). Alle Isoformen bestehen aus einer einheitlichen extrazellulären Ligandenbindungs-Domäne, die aus über 800 Aminosäuren zusammengesetzt ist, einer transmembranen Domäne aus 34 Aminosäuren und einer für jede Isoform spezifischen variablen intrazellulären Domäne (Anubhuti & Arora, 2008). Die längste Form, ObRb, kann alle Eigenschaften, die dem Leptin zugeschrieben werden, weiterleiten (Ahima & Flier, 2000; Myers 2004). Vier Isoformen (ObRa, ObRc, ObRd, ObRf) fehlt die interzelluläre Domäne, die für die STAT3 Aktivierung benötigt wird (Ahima & Flier, 2000; Myers 2004). Die wichtigste Signaltransduktionskette, die vom Leptin über den ObRb, nicht aber über die anderen Rezeptorisoformen, aktiviert wird, ist der „JAK/STAT-Pathway“. Daneben gibt es noch weitere, allerdings weniger wichtige Signaltransduktionsketten, die von Leptin aktiviert werden.

Bisher sind sowohl beim Rind als auch beim Schaf die Isoformen ObRa und ObRb nachgewiesen worden, wobei ObRb, im Gegensatz zu anderen Spezies, ubiquitär gefunden wurde (Boisclair et al., 2006). Auch der ObRa ist beim Rind bislang in Leber, Milz,

Hypophyse, Nebennierenrinde und Hirnstamm nachgewiesen worden (Chelikani et al., 2003; Silva et al., 2002).

1.2.2 Adiponectin und die Adiponectinrezeptoren 1 und 2

Adiponectin, das auch als AdipoQ, Acrp30, apM1 oder GBP28 bekannt ist, wird seit den 1990er Jahren untersucht. Bovines Adiponectin wurde erstmals im Jahr 2001 isoliert (Sato et al., 2001) und besteht aus 240 Aminosäuren (Abb. 3). Die Aminosäuresequenz dieses Proteins stimmt zu 92% mit derjenigen des humanen und zu 82% mit derjenigen des murinen Adiponectins überein (Sato et al., 2001). Bisher gibt es noch keine direkten Sequenzinformationen über ovines Adiponectin.

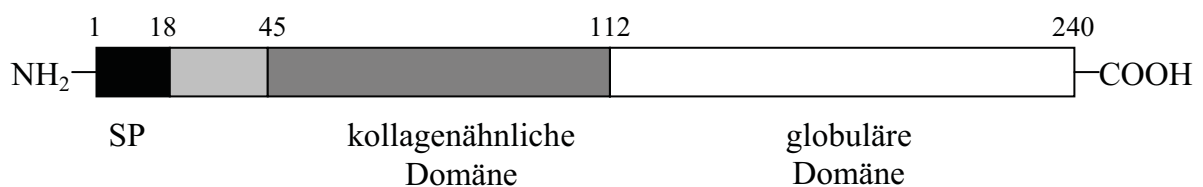


Abbildung 3: Struktur und Domänen des bovines Adiponectins. COOH: Carboxyterminus; NH₂: Aminoterminus; SP: Signalpeptid; die angegebenen Ziffern kennzeichnen jeweils die erste Aminosäure der entsprechenden Domäne (modifiziert nach Sato et al., 2001).

Adiponectin wird vor allem in Adipozyten exprimiert (Hu et al., 1996; Scherer et al., 1995) und kommt in verschiedenen multimeren Formen vor. Im Blutserum findet man sowohl Trimere, als auch Hexamere und sog. High-Molecular-Weight-Komplexe (HMW-Komplexe), die aus 12 bis 18 Monomeren zusammengesetzt sind (Tsao et al., 2002; Tsao et al., 2003; Waki et al., 2003). Wie auch bei der Expression von Leptin steht die Adiponectinexpression eng mit dem Körpergewicht in Zusammenhang. Die Expression von Adiponectin ist aber, im Gegensatz zum Leptin, sowohl bei adipösen Menschen als auch bei adipösen Mäusen deutlich reduziert (Hu et al., 1996). Bei adipösen Patienten ist der Adiponectinplasmagehalt im Gegensatz zu normalgewichtigen Versuchspersonen verringert (Arita et al., 1999). Die Blutgehalte von Adiponectin sind nicht nur bei Adipositas-Patienten, sondern auch bei Magersüchtigen verändert, was sich darin äußert, dass bei Letzteren die Blutgehalte im Vergleich zu den normalgewichtigen Kontrollpersonen erhöht sind (Delporte et al., 2003;

Pannacciulli et al., 2003). Bei Gewichtsreduktion (beispielsweise nach einer Diät) bei Übergewichtigen und auch bei krankhaft fettleibigen Patienten nehmen sowohl die Blutspiegel als auch die Expression von Adiponectin im Fettgewebe wieder zu (Bruun et al., 2003; Kopp et al., 2005).

Adiponectin besitzt drei Rezeptoren, Adiponectinrezeptor 1 (AdipoR1), Adiponectinrezeptor 2 (AdipoR2) (Kadowaki et al., 2006) und T-Cadherin (Hug et al., 2004), welche die Wirkung des Hormons in das Zellinnere weiterleiten (Abb. 4). Sowohl AdipoR1 als auch AdipoR2 gehören zur Familie von Rezeptoren mit sieben transmembranen Domänen (Yamauchi et al., 2003), die keine Homologie mit G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPR) aufweisen. Adiponectin bindet an die C-terminale, extrazelluläre Domäne, während an der N-terminalen, intrazellulären Domäne APPL1 (adaptor protein containing pleckstrin homology domain, phosphotyrosine binding domain and leucine zipper motif) bindet. Über APPL1 wird die Auslösung einer Vielzahl von intrazellulären Signalkaskaden vermittelt (Abb. 5), beispielsweise die Aktivierung von AMPK (5'-AMP-aktivierte Proteinkinase) und PPAR α (Peroxisome-Proliferator-activated receptor α) (Kadowaki et al., 2006). AMPK phosphoryliert Schlüsselenzyme unterschiedlicher Stoffwechselwege und beeinflusst auf diesem Wege die Cholesterinsynthese, die Lipogenese, die Triglyceridsynthese, die Adipozyten-Lipolyse und die β -Oxidation in den Hepatozyten. Zudem wird die Glukoseaufnahme in Skelettmuskelzellen gesteigert (Winder & Hardie, 1999) und die Expression von Schlüsselenzymen der Glukoneogenese in Hepatozyten reduziert (Lochhead et al., 2000). Durch die Aktivierung von PPAR α steigen Fettsäureverbrennung und Energieverbrauch, was wiederum zu einem reduzierten Triglyceridgehalt in der Leber und in den Skelettmuskeln führt. Dies zieht schlussendlich einen koordinierten Anstieg der Insulinsensitivität nach sich (Yamauchi et al., 2003). An den AdipoR1 bindet vor allem globuläres Adiponectin. Der AdipoR1 kommt ubiquitär vor, jedoch besonders häufig in der Skelettmuskulatur (Tsuchida et al., 2004). Hingegen findet sich der AdipoR2 vor allem in der Leber und fungiert hauptsächlich als Rezeptor für die HMW-Komplexe des Adiponectins (Tsuchida et al., 2004). T-Cadherin schließlich ist in Endothelzellen und glatter Muskulatur vorhanden (Hug et al., 2004) und bindet ausschließlich HMW-Adiponectin. T-Cadherin ist mit der Entwicklung von Arteriosklerose assoziiert, wird innerhalb arteriosklerotischer Läsionen verstärkt exprimiert (Hug et al., 2004; Takeuchi et al., 2007) und scheint keine Bedeutung für die hepatischen Effekte des Adiponectins zu haben (Hug et al., 2004).