



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Lipidmetabolism och inflammation hos överviktiga hundar

Elina Andersson



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp
Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 28
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Uppsala 2013



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Lipidmetabolism och inflammation hos överviktiga hundar

Lipid metabolism and inflammation in obese dogs

Elina Andersson

Handledare:

Josefin Söder och Katja Höglund, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator:

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2013

Omslagsbild: Elina Andersson

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 28
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Lipidmetabolism, hund, övervikt, inflammation, adipokin, leptin, adiponektin, TNF- α , IL-6, CRP

Key words: Lipid metabolism, dog, obesity, inflammation, adipokine, leptin, adiponectin, TNF- α , IL-6, CRP

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metoder	3
Litteraturöversikt.....	3
Lipidmetabolism hos normalviktiga hundar	3
Allmänt om fettvävnaden.....	3
Allmänt om lipider.....	4
Metabolism av exogena lipider	4
Metabolism av endogena lipider.....	5
Lipidmetabolism hos överviktiga hundar	5
Leptin	6
Adiponektin.....	7
Inflammation hos överviktiga hundar.....	7
TNF- α	7
IL-6 och CRP	8
Faktorer som ökar de inflammatoriska adipokinerna vid övervikt.....	8
Makrofaginfiltration	8
Hypoxi.....	9
Diskussion	9
Litteraturförteckning	13

SAMMANFATTNING

Övervikt hos hund är ett växande problem med en rapporterad incidens på 22-40 %. Tillståndet definieras som ett överskott av fettvävnad i kroppen, beroende på rubbad energibalans. Överviktiga individer drabbas ofta av sekundära hälsoeffekter så som diabetes mellitus och insulinresistens, andningsbesvär, förhöjt blodtryck, ortopediska tillstånd och njurproblem. Överviktiga hundar har även kortare livslängd än normalviktiga hundar.

Överviktiga hundar har abnormala lipoproteinvärden med högre plasmakoncentrationer av både triglycerider och kolesterol jämfört med normalviktiga hundar. De har också en rubbad balans av så kallade adipokiner som utsöndras av fettvävnaden. Till adipokinerna hör bland annat hormoner och proinflammatoriska cytokiner, och fettvävnaden anses därför vara ett endokrint organ.

Plasmakoncentrationen av det aptitreglerande hormonet leptin ökar hos överviktiga hundar. Övervikten verkar vara associerad med utvecklandet av leptinresistens och därmed defekt födointagshämning. Ett annat hormon vars plasmamönster det ej råder konsensus om är adiponektin. Det har föreslagits att basalkoncentrationen av adiponektin kan vara högre hos hund än hos andra arter och att koncentrationen nödvändigtvis inte behöver minska med övervikt som det är visat hos människa. Något som talar för detta är det faktum att hundar sällan drabbas av åderförkalkning och diabetes typ 2, sjukdomar som det har föreslagits att adiponektin har skyddande effekt mot.

Forskning har visat att proinflammatoriska cytokiner som utsöndras av adipocyter hos överviktiga hundar är exempelvis Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) och Interleukin-6 (IL-6). TNF- α är känt för att mediera insulinresistens, men större oklarhet råder kring plasmamönster och funktion hos IL-6 och akutfasproteinet C-reactive protein (CRP). Adipocyter hos hund utsöndrar även Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), och studier har visat att viktninskning hos hund gör att antalet makrofager minskar signifikant. Detta indikerar att ett inflammatoriskt svar med makrofagprofil föreligger hos överviktiga hundar.

Att adipokinerna från fettvävnaden verkar som en bidragande faktor i sambandet mellan övervikt och sekundära hälsoeffekter står relativt klart. Mycket forskning återstår dock inom området innan tydliga samband kan påvisas mellan övervikt, inflammation och alla sekundära hälsoeffekter som man idag anser vara associerade med övervikt.

SUMMARY

Canine obesity is a growing problem with a reported incidence of 22-40 %. The obese state is defined as a surplus of adipose tissue in the body, due to disturbed energy balance. Obese individuals are predisposed to secondary health conditions such as diabetes mellitus and insulin resistance, cardiorespiratory disease, orthopedic disorders and kidney malfunction. Obese individuals also suffer from shorter life expectancy.

Obese dogs have abnormal lipoprotein pattern with higher plasma concentrations of both triglycerides and cholesterol compared to normal weight dogs. They also have a disturbed balance of adipokines which are secreted by the adipose tissue. Among the adipokines, both hormones and proinflammatory cytokines can be found. The adipose tissue is therefore regarded as an endocrine organ.

In obese dogs, plasma concentration of the appetite regulating hormone leptin is increased. The excess weight seems to be connected to the development of leptin resistance and defect inhibition of food intake. In terms of the plasma pattern of the hormone adiponectin in dogs, consensus is yet not reached. It has been proposed that the basal concentration of adiponectin may be elevated in dogs compared to other species. Adiponectin concentration is not necessarily decreased in obese dogs as shown in obese humans. The proposal is promoted by the fact that dogs rarely suffer from atherosclerosis and diabetes type 2, disorders to whom adiponectin has shown to have protecting properties.

Proinflammatory cytokines secreted from adipocytes in obese dogs are for example Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and Interleukin-6 (IL-6). TNF- α is known to mediate insulin resistance, but the plasma pattern and role of IL-6 and the acute phase protein C-reactive protein (CRP) is yet rather unknown. Canine adipocytes also secrete Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and studies have shown that the cell count of macrophages is significantly decreased with weight loss in dogs. This indicates that an inflammatory state with a macrophage dominant profile exists in obese dogs.

It is quite clear that adipokines from the adipose tissue have a contributory role in the link between obesity and secondary health conditions. More research is though required in the area before a clear link can be demonstrated between obesity, inflammation and all secondary health conditions that we currently believe to be associated with obesity.

INLEDNING

Övervikt hos hund är ett växande problem med en rapporterad incidens på 22-40 % beroende på inklusionskriterier och var i världen studien utförts. Det största bekymret vid övervikt är de många sekundära hälsoeffekter som individen kan drabbas av, exempelvis diabetes mellitus och insulinresistens, andningsbesvär, förhöjt blodtryck, ortopediska tillstånd och njurproblem. Det är dessutom visat att överviktiga hundar har en kortare livslängd än normalviktiga hundar (German, 2006).

Idag anses fettvävnaden utöver sina primära funktioner energilagring och värmeisolering även fungera som ett endokrint organ. Adipocyterna utsöndrar en mängd olika hormoner och proteiner, varav många är proinflammatoriska cytokiner, och det anses därmed föreligga ett kroniskt inflammatoriskt tillstånd hos överviktiga individer (Trayhurn & Wood, 2004; Wakshlag et al., 2011).

Syftet med denna litteraturstudie är att jämföra vad som skiljer lipidmetabolismen hos överviktiga hundar från lipidmetabolismen hos normalviktiga hundar, och undersöka möjliga orsaker till dessa skillnader. Teorier om hur inflammation och övervikt samverkar kommer också tas upp.

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökningen utfördes i databaserna *Pubmed* samt *Web of Knowledge* med sökorden ”(lipid metabolism) AND (obesity OR adiposity OR overweight) AND (dogs OR canine)”. I funna artiklars referenslistor hittades ytterligare lämpliga artiklar. För grundläggande fakta om biokemi, fysiologi, histologi och immunologi har veterinärmedicinsk facklitteratur använts.

Litteraturstudien begränsas av ett förutbestämt antal ord och källor, vilket gör att en heltäckande bild av ämnet omöjlig kan ges. Litteratursökningen har begränsats till tidskrifter och artiklar tillgängliga via Sveriges Lantbruksuniversitets intranät.

LITTERATURÖVERSIKT

Lipidmetabolism hos normalviktiga hundar

Allmänt om fettvävnaden

Det finns två olika typer av fettvävnad; brun fettvävnad och vit fettvävnad. Den bruna fettvävnaden producerar värme hos främst neonatala individer. Den vita fettvävnaden har istället som huvuduppgift att lagra energi i form av triglycerider, liksom att värmeisolera och att ge mekaniskt skydd till kroppen. Den vita fettvävnadens primära celltyp är adipocyter, men innehåller även mesenkymala stamceller, preadipocyter, endotelceller, nervceller och makrofager (Kierszenbaum, 2007).

Allmänt om lipider

Lipider är en grupp av hydrofoba, icke vattenlösliga organiska molekyler varav tre former är av klinisk relevans; fria fettsyror, triglycerider och kolesterol. Samtliga former kan vara antingen exogena (dietära) eller produceras endogent i kroppen. Den endogena produktionen sker framförallt i levern men till viss del också i fettvävnaden. Omsättningen av lipiderna är olika beroende på deras ursprung.

Fria fettsyror består av en hydrofob kolvätekedja med en hydrofil karboxylgrupp. Fettsyornas främsta uppgift är att lagras in som energi i fettvävnaden i form av triglycerider, eller transporteras till cellerna där de används som energi direkt efter oxidering. Triglycerider består av tre fettsyror som är förestade till glycerol. Triglyceriderna lagras in i fettvävnaden och fungerar därmed som kroppens främsta energireserv. Kolesterol är en hydrofob sterol som är en viktig beståndsdel i cellmembran. Det är också en prekursor för gallsyra, steroidhormoner och vitamin D. Kolesterol kan förekomma fritt eller vara förestat i form av kolesterylestrar, och elimineras från kroppen via gallan.

Fria fettsyror transporteras bundna till albumin i blodet, medan triglycerider och kolesterol transporteras bundna till så kallade lipoproteiner. Det finns sex olika former av lipoproteiner hos hund, se tabell 1. På lipoproteinerna finns så kallade apolipoproteiner som upprätthåller lipoproteinernas struktur och aktiverar enzymer som är involverade i lipidmetabolismen (Harvey & Ferrier, 2010).

Tabell 1. Olika lipoproteiner hos hund (efter Bauer, 2004)

Typ av lipoprotein	Fullständigt namn	Associerat apolipoprotein
Chylomikroner	-	B48
VLDL	Very Low Density Lipoprotein	B100, C-II, E
LDL	Low Density Lipoprotein	B100
HDL ₃	High Density Lipoprotein 3	E, C-II
HDL ₂	High Density Lipoprotein 2	E, C-II
HDL ₁ *	High Density Lipoprotein 1	E, C-II

*HDL₁ saknar motsvarighet hos människa.

Metabolism av exogena lipider

Exogena lipider intas via födan främst i form av triglycerider och spjälkas i tunntarmen till fria fettsyror och monoglycerider. De diffuserar sedan över tarmepitelet och inuti epitelcellen bildar de triglycerider på nytt (Sjaastad et al., 2010). Triglyceriderna går i sin tur ihop med kolesterol och apolipoprotein B48 så att chylomikroner bildas. Chylomikronernas uppgift är att transportera triglyceriderna från tarmen till fettvävnad respektive muskler. Från tarmen tar de sig ut i lymfan för att sedan övergå i blodet. När chylomikronerna når sina målorgan,

kommer enzymet lipoproteinlipas att aktiveras. Lipoproteinlipaset bekläder vävnadernas kapillärväggar och har som uppgift att hydrolysera triglyceriderna i chylomikronerna, så att fria fettsyror och monoglycerider frigörs. Fettsyror går in i fettvävnaden, där de lagras in som triglycerider eller används som direkt energi i muskelcellerna. Chylomikronresterna endocyteras därefter av levern, varpå de degraderas och kvarvarande kolesterol och monoglycerider frigörs (Harvey & Ferrier, 2010).

Metabolism av endogena lipider

VLDL produceras i levern och innehåller främst endogena triglycerider samt apo B100. VLDL:s funktion är att transportera de endogena triglyceriderna från levern till perifera muskler och fettvävnader. Väl framme kommer lipoproteinlipas hydrolysera triglyceriderna som VLDL bär på. VLDL:et endocyteras därefter av levern eller omvandlas till LDL i plasman.

Omvandlingen till LDL sker genom en utbytesreaktion där HDL tar emot en del triglycerider från VLDL och i utbyte lämnar kolesterylestrar tillbaka. Utbytet sker med hjälp av Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP). Den huvudsakliga funktionen hos LDL är att transportera endogent kolesterol till perifera vävnader.

HDL bildas i blodet genom att lipider går ihop med apo A-1 från levern. HDL:s uppgift är att förse övriga lipoproteiner med apolipoproteiner som krävs för att lipidmetabolismen ska fungera, framför allt apo C-II och apo E. Apo C-II krävs för att aktivera enzymet lipoproteinlipas och apo E krävs för leverberoende endocytos av lipoproteinerna efter att de slutfört sin uppgift. HDL sköter också transporten av kolesterol från perifera vävnader tillbaka till levern. I levern utsöndras kolesterolet via gallan eller används till exempelvis steroidhormonsyntes. När kolesterolet tas upp av HDL förestras det. Kolesterylestrarna ansamlas i kärnan av HDL vilket möjliggör vidare upptag av kolesterol i HDL:et. När HDL-partikeln fortfarande är liten kallas den för HDL₃, men efterhand då mer kolesterol inkorporeras bildas den större HDL₂ (Harvey & Ferrier, 2010).

Hundar saknar enzymet CETP som hos människa överför kolesterylestrar från HDL till VLDL. Detta gör att HDL-partiklarna fortsätter att samla på sig kolesterol till dess att den största, unika HDL₁ bildas (Tsutsumi *et al.*, 2001).

Lipidmetabolism hos överviktiga hundar

Övervikt definieras som ett överskott av fettvävnad i kroppen, beroende på rubbad energibalans. Det är en av de vanligaste metaboliska störningarna hos hund med en rapporterad incidens på 22-40 % beroende på inklusionskriterier och var i världen studien utförts. Orsaken till övervikt kan vara genetisk, men kan också bero på för högt energiintag via födan eller för lite fysisk aktivitet. Övervikten associeras ofta med en rad sekundära hälsoeffekter, till exempel diabetes mellitus och insulinresistens, andningsbesvär, förhöjt blodtryck, ortopediska tillstånd och njurproblem. Överviktiga hundar har också kortare livslängd än normalviktiga hundar (German, 2006).

Abnormala lipoproteinvärden har rapporterats hos överviktiga hundar. Två studier har visat att övervikt hos hund ger både hypertriglyceridemi och hyperkolesterolemi, det vill säga förhöjda nivåer av både triglycerider och kolesterol i plasman. Detta oavsett om hundarna var naturligt överviktiga eller om övervikten var dietinducerad (Jeusette *et al.*, 2005b; Peña *et al.*, 2008). En annan studie, där kolesterolfraktioner studerades mer ingående, visade att HDL₁ ökade medan HDL₂ och HDL₃ minskade hos överviktiga hundar över 8 års ålder (Mori *et al.*, 2011). Det har föreslagits att den ökade andelen HDL₁ hos överviktiga hundar, vilket medför ökad transport av kolesterol från perifera vävnader till levern, kan vara en av orsakerna till att hundar är naturligt resistent mot åderförkalkning (Bauer, 2004).

År 1994 upptäcktes att adipocyter utsöndrar hormonet leptin, och sen dess anses fettvävnaden utöver sina primära funktioner även ha funktionen av att vara ett endokrint organ. Adipocyterna utsöndrar en mängd hormoner, cytokiner och proteiner, som med ett gemensamt namn kallas för adipokiner (Trayhurn & Wood, 2004).

Leptin

Adipokinet leptin är ett peptidhormon som utsöndras av adipocyter. Ju mer fettvävnad en individ har, desto högre leptinkoncentrationer finns i plasman. Hormonets uppgift är att informera det centrala nervsystemet om kroppens tillgängliga energireserver i fettvävnaden. Leptinreceptorer finns i det aptitreglerande centrat i hypotalamus och när dessa aktiveras av leptin inhiberas födointag. På samma sätt minskar leptinkoncentrationen vid kortvariga tillstånd av svält, och aptiten ökar för att gynna födointag (Sjaastad *et al.*, 2010). Leptin hos människa verkar också agera proinflammatoriskt och protrombotiskt (Zoran, 2010).

Experimentellt induceras extrem övervikt hos möss och människor som saknar leptin eller har defekta leptinreceptorer. Naturligt överviktiga människor har dock i regel både höga cirkulerande leptinnivåer samt fungerande leptinreceptorer (Sjaastad *et al.*, 2010). Det har därmed föreslagits att en minskad leptinkänslighet i hypotalamus ligger till grund för övervikten, vilket medför att överviktiga individer uppvisar leptinresistens och därmed höga plasmanivåer av leptin (Zoran, 2010).

Leptin är en av de mest studerade adipokinerna hos hund. Gener som kodar för leptin har påvisats i vit fettvävnad hos hund med hjälp av Real time polymerase chain reaction (RT-PCR), och leptin-mRNA påvisades vid dag tre efter att adipocytdifferentiering inducerats i cellkultur in vitro. Leptinet i sig kunde dock inte påvisas (Ryan *et al.*, 2010).

I en annan studie av Jeusette *et al.* (2005b) jämfördes 12 dietinducerat kroniskt överviktiga hundar med 12 normalviktiga kontrollhundar med avseende på leptinkoncentrationen i plasman. De överviktiga hundarna hade 5,8 gånger så hög leptinkoncentration som de normalviktiga. Även Ishioka *et al.* (2006) har visat att plasmaleptinnivåerna ökar signifikant hos både naturligt överviktiga hundar och dietinducerat överviktiga hundar. Jeusette *et al.* (2005a) visade att leptinet hos överviktiga hundar minskade med 77 % vid viktnskning. Minskning av leptinkoncentrationen vid viktnskning hos hund med naturlig övervikt sågs även av Wakshlag *et al.* (2011).

Adiponektin

Ett annat välstuderat adipokin är Adiponektin, som hos hund består av 735 nukleotider varav upp till 90 % är homologt med Adiponektin hos andra arter (Ishioka *et al.*, 2006). I samma studie detekterades Adiponektin-mRNA både i subkutan och i visceral fettvävnad hos hund.

Adiponektin spelar hos människa en viktig roll i glukosmetabolismen. Hormonet förstärker insulinsensitiviteten samt ökar glukosupptag, glykolys och fettsyraoxidation. Det fungerar också anti-inflammatoriskt genom att hämma makrofagers produktion av Tumor necrosis factor alpha (TNF- α). Dessutom skyddar det mot utvecklingen av åderförkalkning, genom att hindra adhesion av makrofager till endotelet. Adiponektinet hindrar sedan den påföljande differentieringen av makrofager till kolesterolrika skumceller, som spelar en viktig roll i patogenesen för åderförkalkning (Ouchi *et al.*, 2001; Zoran, 2010).

Låga adiponektinkoncentrationer associeras hos människa till utvecklingen av diabetes typ 2, insulinresistens, hjärtsjukdom och åderförkalkning (Zoran, 2010; Ishioka *et al.*, 2006). Hos överviktiga människor minskar adiponektinkoncentrationen i plasma, medan viktninskning leder till en ökning av adiponektinnivåerna (Zoran, 2010).

Ishioka *et al.* (2006) bekräftade sambandet även hos hund, där både experimentellt inducerat överviktiga hundar och naturligt överviktiga hundar studerades med avseende på adiponektinkoncentrationen i plasma. Adiponektinnivåerna minskade signifikant från $37,7 \pm 2,0$ $\mu\text{g/ml}$ i det normalviktiga tillståndet till $28,1 \pm 2,3$ $\mu\text{g/ml}$ i det överviktiga tillståndet. Man drog därmed även slutsatsen att det finns en negativ korrelation mellan plasmakoncentrationen av adiponektin och leptin.

Flera andra studier på hund har dock visat att adiponektinnivåerna ej ökar med viktninskning (German *et al.*, 2009; Wakshlag *et al.*, 2011). Wakshlag *et al.* menar att adiponektinnivåerna hos hund ej minskar med övervikt och att basalkoncentrationen av adiponektin är högre hos hund än hos andra arter. Den föreslagna skillnaden i adiponektinmönstret jämfört med människa kan förklara varför hundar sällan drabbas av diabetes typ 2 och åderförkalkning (Ishioka *et al.*, 2006).

Inflammation hos överviktiga hundar

Vid övervikt förändras adipocytens adipokinprofil så att ett ökat antal proinflammatoriska cytokiner utsöndras, och därmed anses ett kroniskt inflammatoriskt tillstånd föreligga hos överviktiga individer. Hos hund har studier visat att det bland annat gäller TNF α , Interleukin 6 (IL-6) och C-reaktivt protein (CRP) (Ryan *et al.*, 2010; Wakshlag *et al.*, 2011).

TNF- α

TNF- α är den främsta proinflammatoriska cytokinen som bland annat aktiverar adhesionsmolekyler, prokoagulanter, makrofager och neutrofiler. Den inducerar också akutfasproteiner, stimulerar till leukocytmigration samt inducerar produktion av andra cytokiner så som IL-6 och Interleukin 8 (IL-8) (Tizard, 2008).

Ryan *et al.* (2010) har visat att TNF- α uttrycks i fettvävnad hos normalviktiga Staffordshire bullterriers, både i preadipocyter och i mogna adipocyter. Ryan *et al.* visade också att adipocyter hos hund är starkt reaktiva i respons på proinflammatoriska mediatorer. När adipocyterna behandlades med Lipopolysackarid (LPS) och TNF- α ökade uttrycket av TNF- α , men också av IL-6 och Monocyte chemoattractant protein (MCP-1).

1994 sågs att murina adipocyter som exponerades för TNF- α i låga nivåer, fick ett minskat insulinberoende upptag av glukos med upp till 80 %. I studien bevisades att TNF- α interagerar direkt med insulinreceptorns signalkaskad, genom att hindra fosforylering av det cellulära proteinet Insulin receptor substrate 1 (IRS-1). I och med detta kan TNF- α alltså mediera insulinresistens, vilket i sin tur kan leda till diabetes mellitus (Hotamisligil *et al.*, 1994). German *et al.* (2009) föreslår att TNF- α medierar insulinresistens även hos hund, eftersom de i sin studie på 26 naturligt överviktiga hundar som genomgick viktminskning registrerade både förhöjd insulinsensitivitet och en minskning av TNF- α i plasman.

IL-6 och CRP

IL-6 är en proinflammatorisk cytokin vars produktion stimuleras av bakteriella endotoxiner och TNF- α . IL-6 styr bland annat övergången från ett tidigt neutrofiledominerande immunsvär till ett senare makrofagdominerande immunsvär. IL-6:s främsta uppgift är att inducera akutfasreaktioner med bland annat CRP. CRP är ett akutfasprotein vars syntetisering i levern regleras av IL-6. CRP stimulerar bland annat till fagocytos av skadad vävnad och aktiverar komplementsystemet (Tizard, 2008).

I samma studie som undersökte TNF- α -uttryck i fettvävnad hos Staffordshire bullterriers visades även IL-6 uttryckas, både i preadipocyter och i adipocyter. Vid stimulering med LPS som inflammatorisk mediator ökade IL-6-mRNA 5000 gånger. IL-6 ökade även vid stimulering med TNF- α (Ryan *et al.*, 2010). German *et al.* (2009) kunde inte visa någon minskning i IL-6-koncentrationen i plasma efter viktminskning på hund, men föreslog att det berodde på otillfredsställande genomförande och metodkänslighet, alternativt att hund har naturligt låga nivåer av cirkulerande IL-6. Samma studie visade att viktminskning hos överviktiga hundar ledde till minskade koncentrationer CRP i plasman, men att skillnaden var liten och att vissa individer hade fortsatt förhöjda nivåer. Dock bekräftade Wakshlag *et al.* (2011) att en signifikant minskning av CRP sker med viktminskning hos hund.

Faktorer som ökar de inflammatoriska adipokinerna vid övervikt

Makrofaginfiltration

Olika studier på hund har visat att adipocyter utsöndrar Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) och att denna adipokin minskar vid viktminskning (Ryan *et al.*, 2010; Wakshlag *et al.*, 2011). MCP-1 är ett kemokin vars uppgift är att rekrytera monocyter till skadad vävnad. När monocyterna migrerar ut i vävnaden kallas de för makrofager (Xu *et al.*, 2003; Tizard, 2008). Detta har lett till forskning om att makrofager kan spela en central roll i det inflammatoriska svaret vid övervikt.

Xu *et al.* (2003) visade i sin studie på dietinducerat överviktiga möss att 59 % av de gener som uppreglerades vid övervikt var associerade till inflammation. Många av dem var kopplade till makrofager, bland annat MCP-1, men också integriner och ytspecifika proteiner. Studien visade också att uttrycket av gener var som högst i den fraktion av fettvävnaden som inte utgjordes av adipocyter, utan i den stromavaskulära delen. Hos de överviktiga mössen utgjordes 33 % av den stromavaskulära delen av makrofager och många av cellerna liknade jätteceller, kluster av makrofager som ofta ses vid kronisk inflammation. Xu *et al.* drog av denna information slutsatsen att makrofagackumulering sker i vit fettvävnad under utvecklandet av övervikt. I studien såg man också att uttrycket av makrofaggenerna uppreglerades före mössen fick förhöjda insulinivåer i plasman. Detta öppnar för möjligheten att makrofagackumuleringen i sig kan vara orsaken till insulinresistens vid övervikt.

Även German *et al.* (2009) visade i sina studier på överviktiga hundar att viktminskning ledde till en signifikant minskning av antalet makrofager och neutrofiler, vilket utöver det tidigare konstaterade uttrycket av MCP-1 ytterligare indikerar att makrofager är viktiga i det inflammatoriska svaret vid övervikt hos hund. Dock kunde German *et al.* inte bevisa att viktminskning ledde till minskade koncentrationer av MCP-1 i plasma.

Hypoxi

Trayhurn & Wood (2004) föreslår att inflammationen som föreligger i vit fettvävnad vid övervikt induceras av hypoxi. Hypoxin uppstår på grund av progressivt ökande övervikt. När vävnaden expanderar hinner den inte vaskulariseras tillräckligt, och adipocyterna drabbas av syrebrist. Detta genererar ett påföljande inflammatoriskt svar med funktionen att stimulera angiogenes och därmed öka syretillförseln.

Wang *et al.* (2007) visade att hypoxi påverkade uttrycket av flertalet adipokiner i humana adipocyter. Adipocyterna exponerades för 1 % O₂ och CoCl₂, som också ger hypoxiska förhållanden. Resultatet blev att uttrycket av både adiponectin-mRNA och adiponectin-protein minskade, medan både genuttryck och protein för IL-6, leptin och vascular endothelial growth factor (VEGF) ökade. TNF- α uttrycktes dock ej. Wang *et al.* drog slutsatsen att det finns ett kausalt samband mellan hypoxi och inflammation i fettvävnad vid övervikt, och att detta kan bidra till utvecklingen av sekundära hälsoeffekter.

DISKUSSION

Övervikt hos hund är ett växande problem och de många sekundära hälsoeffekter som följer gör ämnet till ett viktigt veterinärmedicinskt forskningsområde. Syftet med denna litteraturstudie var att jämföra vad som skiljer lipidmetabolismen hos överviktiga hundar från lipidmetabolismen hos normalviktiga hundar, samt att redogöra för teorier om hur inflammation och övervikt samverkar.

Flera olika studier har visat att överviktiga hundar har högre plasmakoncentration av både triglycerider och kolesterol jämfört med normalviktiga hundar (Jeusette *et al.*, 2005b; Peña *et*

al., 2008). Det som också skiljer överviktiga hundar från normalviktiga hundar är den rubbade adipokinbalansen av leptin och adiponektin. Det råder konsensus om att övervikt hos hund är associerat med hög leptinkoncentration i plasma och att denna minskar vid viktminskning (Jeusette *et al.*, 2005b; Jeusette *et al.*, 2005a; Ishioka *et al.*, 2006; Wakshlag *et al.*, 2011). Vad gäller adiponektin hos överviktiga hundar är plasmamönstret till stor del fortfarande okänt. Hos överviktiga människor minskar adiponektinkoncentrationen i plasma, medan viktminskning leder till en ökning av adiponektinkoncentrationen (Zoran, 2010). Om detta gäller även hos hund råder det olika meningar om (Ishioka *et al.*, 2006; German *et al.*, 2009; Wakshlag *et al.*, 2011). German *et al.* och Wakshlag *et al.* kunde i motsats till Ishioka *et al.* inte bevisa att normalviktiga hundar har högre adiponektinkoncentration än överviktiga hundar.

Hos överviktiga hundar ses en förändrad adipokinprofil med ökad utsöndring av proinflammatoriska cytokiner, vilket ytterligare skiljer dem från normalviktiga hundar. Detta skapar ett kroniskt inflammatoriskt tillstånd hos de överviktiga hundarna (Ryan *et al.*, 2010; Wakshlag *et al.*, 2011). Att TNF- α uttrycks i fettvävnaden hos överviktiga hundar är Ryan *et al.* (2010) och German *et al.* (2009) överens om, men desto mer oskiljaktigheter råder kring frågan om IL-6 och CRP. Ryan *et al.* har visat att IL-6 uttrycks i adipocyter hos hund men German *et al.* har ej kunnat bevisa att plasmakoncentrationen av varken IL-6 eller CRP minskar signifikant vid viktminskning hos hund. Wakshlag *et al.* (2011) har å andra sidan kunnat bekräfta en signifikant minskning av CRP i plasma med viktminskning.

Det bör noteras att fokus i denna litteraturstudie legat på perspektivet att övervikten driver inflammationen, men att det även finns teorier och studier som visar på det motsatta, att inflammationen driver övervikten. Exempelvis leder kroniskt inducerad LPS-endotoxinemi hos möss till viktökning (Cani *et al.*, 2007). Samma studie visade också att mössen med endotoxinemi utvecklade hepatisk insulinresistens och hade högre plasmakoncentration av glukos än kontrollmössen. Vad som utgör orsak och verkan av övervikt och kronisk inflammation är således ännu ej helt klarlagt, och vad som gäller för hund återstår att utreda.

Vid samtlig forskning på övervikt hos hund bör man vara medveten om att det finns ett antal faktorer som kan påverka resultaten av studierna, varav en av de viktigaste är hur hundarna har blivit överviktiga. Övervikten kan antingen induceras hos från början normalviktiga hundar med hjälp av högenergidieter, eller så kan studien omfatta privatägda hundar som är naturligt överviktiga. Båda varianterna har både för- och nackdelar. När övervikt induceras med en diet av högt fettinnehåll kommer blodlipidkoncentrationerna att öka, vilket också visade sig i studien om hundars kolesterol och triglyceridvärden av Jeusette *et al.* (2005b). Vid övergång från den första dieten med högt fettinnehåll till en lågkaloridiet med högre proteininnehåll, minskade lipidkoncentrationerna i plasma. Det behöver alltså inte nödvändigtvis vara övervikten i sig som uteslutande ger upphov till abnormala lipoproteinkoncentrationer, utan även valet av diet påverkar. Provtagningsstidpunkten i förhållande till foderintag är något som också skulle kunna påverka uppmätta lipidkoncentrationer. Detta bedöms dock ha en mindre påverkan i dessa studier eftersom provtagningsarna genomförts efter minst 12 timmars fasta.

När övervikt induceras med högenergidieter kommer kroppen också att ”chocksättas” för ett tillstånd av positiv energibalans. Ökad transport av triglycerider kommer att ske både via den exogena och endogena vägen, från tarm och lever till kroppens fettdepåer. Detta genererar ökade koncentrationer av lipoproteiner i blodet. Även koncentrationerna av olika adipokiner påverkas. För att inte få missvisande resultat är det viktigt att hundarna är stabilt överviktiga under en lång tid innan blodanalyser genomförs. Vad forskarna anser är tillräckligt lång tid verkar det råda delade meningar om. Jeusette *et al.* (2005b) inducerade övervikt hos 12 hundar under approximativt ett års tid varpå de fick behålla sin vikt i ett år innan blodanalys genomfördes. Ishioka *et al.* (2006) tyckte istället att 14 veckor av högenergidiät räckte för plasmaanalys av adiponektin.

Det är viktigt att ha en liknande strategi i viktminskningsstudier. Övervikt induceras vanligen med hjälp av en fettrik diet, varpå hundarna därefter genomgår viktminskning och därigenom blir sina egna kontroller. Vid viktminskning utsätts kroppen för ett tillstånd av negativ energibalans, där mobilisering av fett sker istället för upplagring. En ökad koncentration av exempelvis fria fettsyror kommer då ses i blodet, och adipokinbalansen ändras. Även vid viktminskning varierar tiden från viktneidgång till blodanalys i olika studier. Ofta är målet att hundarna ska minska 1-2 % av sin ursprungliga kroppsvikt per vecka, till dess att en optimal normalvikt nås (Jeusette *et al.*, 2005a). Blodanalysen påbörjas därefter direkt (German *et al.*, 2009; Wakshlag *et al.*, 2011) även om det kanske vore lämpligare att låta hundarna hålla normalvikt en tid innan provtagning inleds. Jeusette *et al.* (2005a) tog de sista proverna efter att studiens hundar varit normalviktiga i sex månader, vilket bör ge mer tillförlitliga resultat.

Vid studier med inducerad övervikt används ofta relativt små individunderlag på runt 25 individer, ofta också av en och samma ras (Jeusette *et al.*, 2005a; Jeusette *et al.*, 2005b; Ishioka *et al.*, 2006). Små studiepopulationer ger lägre statistisk power och större osäkerhet i resultaten. Att istället använda sig av hundar med naturlig övervikt är önskvärt om studien ska ge en mer representativ bild för hundpopulationen i stort. Sådana studier har ibland ett större individunderlag (Ishioka *et al.*, 2006) och inkluderar ofta många olika hundraser (Ishioka *et al.*, 2006; Peña *et al.*, 2008; German *et al.*, 2009; Wakshlag *et al.*, 2011). Med den naturliga övervikten kommer man dessutom runt problemet med de dietinducerade instabila metaboliska tillstånden som beskrivits ovan. Dock sker dessa studier på bekostnad av en standardiserad miljö, vilket kan ge mer eller mindre svårtolkade resultat. Bias i form av att hundarna serveras olika mat i hemmiljön kan ge upphov till olika blodprofiler och kan också försvåra en eventuell viktminskningsstudie.

Även material och metodhandhavande kan inverka på resultaten. I två olika studier kan otillfredsställande genomförande eller bristande känslighet hos den aktuella metoden ha bidragit till att varken leptin eller MCP-1 kunde påvisas som förutspått (Ryan *et al.*, 2010; German *et al.*, 2009). Denna typ av felkälla blev också extra tydlig när adiponektinmönstret hos hund studerades. German *et al.* (2009) och Wakshlag *et al.* (2011) kunde i motsats till Ishioka *et al.* (2006) inte bevisa att normalviktiga hundar har högre adiponektinkoncentration än överviktiga hundar. Att ingen skillnad kunde upptäckas kan bero på korsreaktivitet, eller att German *et al.* använde heparin som antikoagulantia istället för EDTA. Dock använde sig

både German *et al.* och Wakshlag *et al.* av en och samma validerade analysmetod för hund. Wakshlag *et al.* föreslår att resultaten inte beror på en bristfällig analysmetod utan istället på att adiponektinmönstret helt enkelt är annorlunda hos hund. Basalkoncentrationen av adiponectin kan vara högre hos hund än hos andra arter, och adiponektinkoncentrationen hos hund behöver nödvändigtvis inte minska med övervikt. Något som talar för detta är det faktum att hundar sällan drabbas av åderförkalkning och diabetes typ 2 (Ishioka *et al.*, 2006), samtidigt som det är väl känt att adiponektin har en skyddande effekt mot dessa tillstånd (Ouchi *et al.*, 2001; Ishioka *et al.*, 2006; Zoran, 2010). Det är dock viktigt att också komma ihåg att hundars naturliga resistens mot åderförkalkning även kan bero på en ökad andel HDL₁ i blodet (Bauer, 2004). Mer forskning inom området krävs för att kunna utreda sambandet mellan adiponektin och sjukdomsresistens hos hund.

Att det inte råder samstämmighet om cytokinprofilerna hos hund vid övervikt kan också det bero på ovan nämnda felkällor. Forskningsområdet är nytt på veterinärsidan och fler studier med större individunderlag bör därför göras för att få mer tillförlitliga resultat. German *et al.* (2009) föreslår också att bristande analyskänslighet kan ha gett missvisande resultat då de inte kunde bevisa att plasmakoncentrationen av varken IL-6 eller CRP minskar signifikant vid viktminskning hos hund. Det kan också vara så att cirkulerande koncentrationer av IL-6 är naturligt låga hos hund, vilket bör utredas ytterligare. Det ska heller ej glömmas bort att de proinflammatoriska cytokinerna i stor utsträckning påverkar varandra. TNF- α inducerar produktion av IL-6 som i sin tur inducerar produktion av CRP. Detta kan medföra att cytokinprofilerna i plasman varierar. Mer forskning behöver också göras på huruvida makrofaginfiltration och hypoxi vid övervikt sker även hos hund som visat hos människa, och om detta kan bidra till ökad cytokinutsöndring (Xu *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2007).

I framtiden vore det önskvärt att kunna klargöra sambandet mellan övervikt och associerade sekundära hälsoeffekter hos hund, då sådana kunskaper skulle kunna bidra till utveckling av preventivt arbete och behandling av övervikt. Att den kroniska systemiska inflammationen har del i bilden är man relativt ense om. Dock är det endast i vissa fall man lyckats koppla enskilda cytokiner till specifika sekundära hälsoeffekter, som i exemplet med TNF- α 's förmåga att mediera insulinresistens (Hotamisligil *et al.*, 1994; German *et al.*, 2009), vilket kan predisponera för diabetes mellitus. Man behöver dock studera vad som gäller för andra sekundära hälsoeffekter, som ju vid fetma hos hund förefaller vara många.

Sammanfattningsvis dras slutsatsen att överviktiga hundar ser ut att ha en rubbad adipokinbalans och en kroniskt föreliggande inflammation jämfört med normalviktiga hundar, vilket skulle kunna mediera sekundär sjukdom och en kortare livslängd. Mycket forskning återstår dock inom området innan tydliga samband kan påvisas mellan övervikt, inflammation och överviktsassocierade sekundära hälsoeffekter hos hund.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Bauer, J. E. (2004). Lipoprotein-mediated transport of dietary and synthesized lipids and lipid abnormalities of dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224(5), 668–675.
- Cani, P. D. (2007). Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes* 56(7), 1761-72.
- German, A. J. (2006). The growing problem of obesity in dogs and cats. *The Journal of nutrition* 136(7 Suppl), 1940S.
- German, A. J., Hervera, M., Hunter, L., Holden, S. L., Morris, P. J., Biourge, V. & Trayhurn, P. (2009). Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. *Domestic Animal Endocrinology* 37(4), 214–226.
- Harvey, R.A., Ferrier, D.R. (2010). *Biochemistry*. 5th ed. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. Kap 16, 18.
- Hotamisligil, G. S., Murray, D. L., Choy, L. N. & Spiegelman, B. M. (1994). Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(11), 4854–4858.
- Ishioka, K., Omachi, A., Sagawa, M., Shibata, H., Honjoh, T., Kimura, K. & Saito, M. (2006). Canine adiponectin: cDNA structure, mRNA expression in adipose tissues and reduced plasma levels in obesity. *Research in veterinary science* 80(2), 127–132.
- Jeusette, I. C., Detilleux, J., Shibata, H., Saito, M., Honjoh, T., Delobel, A., Istasse, L. & Diez, M. (2005a). Effects of chronic obesity and weight loss on plasma ghrelin and leptin concentrations in dogs. *Research in veterinary science* 79(2), 169–175.
- Jeusette, I. C., Lhoest, E. T., Istasse, L. P. & Diez, M. O. (2005b). Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 66(1), 81–86.
- Kierszenbaum, A.L. (2007). *Histology and Cell Biology*. 2nd ed. Philadelphia. Mosby Elsevier. Kap 4.
- Mori, N., Lee, P., Kondo, K., Kido, T., Saito, T. & Arai, T. (2011). Potential use of cholesterol lipoprotein profile to confirm obesity status in dogs. *Veterinary research communications* 35(4), 223–235.
- Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Nishida, M., Matsuyama, A., Okamoto, Y., Ishigami, M., Kuriyama, H., Kishida, K., Nishizawa, H., Hotta, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Yamashita, S., Funahashi, T. & Matsuzawa, Y. (2001). Adipocyte-Derived Plasma Protein, Adiponectin, Suppresses Lipid Accumulation and Class A Scavenger Receptor Expression in Human Monocyte-Derived Macrophages. *Circulation* 103(8), 1057–1063.
- Peña, C., Suárez, L., Bautista, I., Montoya, J. A. & Juste, M. C. (2008). Relationship between analytic values and canine obesity. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 92(3), 324–325.
- Ryan, V. H., German, A. J., Wood, I. S., Hunter, L., Morris, P. & Trayhurn, P. (2010). Adipokine expression and secretion by canine adipocytes: stimulation of inflammatory adipokine production by LPS and TNFalpha. *Pflügers Archiv: European journal of physiology* 460(3), 603–616.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O., Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2nd ed. Oslo. Scandinavian Veterinary Press. Kap 15.
- Tizard, I. R. (2008). *Veterinary Immunology*. 8th ed. St. Louis. Saunders Elsevier. Kap 2.
- Trayhurn, P. & Wood, I. S. (2004). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *The British journal of nutrition* 92(3), 347–355.

- Tsutsumi, K., Hagi, A. & Inoue, Y. (2001). The relationship between plasma high density lipoprotein cholesterol levels and cholesteryl ester transfer protein activity in six species of healthy experimental animals. *Biological & pharmaceutical bulletin* 24(5), 579–581.
- Wakshlag, J. J., Struble, A. M., Levine, C. B., Bushey, J. J., Laflamme, D. P. & Long, G. M. (2011). The effects of weight loss on adipokines and markers of inflammation in dogs. *The British journal of nutrition* 106 Suppl 1, S11–14.
- Wang, B., Wood, I. S. & Trayhurn, P. (2007). Dysregulation of the expression and secretion of inflammation-related adipokines by hypoxia in human adipocytes. *Pflugers Archiv* 455(3), 479–492.
- Xu, H., Barnes, G. T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C. J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J. S., Tartaglia, L. A. & Chen, H. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *The Journal of clinical investigation* 112(12), 1821–1830.
- Zoran, D. L. (2010). Obesity in dogs and cats: a metabolic and endocrine disorder. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 40(2), 221–239.