

4.2.7. Leptin

Die Biologie des Knochens wird wie es scheint, durch einen zentralen Faktor reguliert; Leptin wäre ein möglicher Kandidat dafür. Lange Zeit standen die parakrinen Eigenschaften von Leptin im Vordergrund, welche hauptsächlich auf klinische Beobachtungen zurückzuführen waren. Der Umstand, dass Fettleibigkeit vor Knochenmassenverlust schützt, ist lange bekannt (653); auch existieren zahlreiche mögliche Erklärungen, wie erhöhter mechanischer Stress, vermehrte Aromatisierung von Androgene in Östrogene durch Fettgewebe und die erhöhten Insulinspiegel.

Die positive Wirkung von Leptin auf Knochenzellen wurde in weiterer Folge durch verschiedene in vitro Versuch belegt; es stimuliert die OB Differenzierung auf Kosten der Adipogenese, zudem produzieren Adipozyten große Mengen an Leptin (653a), ein Link für seine parakrine Bedeutung. Auch wirkt Leptin als Wachstumsfaktor an CDZ in den Wachstumsfugen (653b). Zu guter letzt scheint es die Osteoclastogenese zu hemmen; der Schluss ist einfach, mehr Fett – mehr Leptin – mehr Knochen.

In letzter Zeit wurde aber die zentrale Bedeutung der Knochenregulation aufgezeigt und Leptin rückte in einen anderen Blickpunkt. Große Entwicklungen auf dem Gebiet der Nahrungsaufnahme-Regulation brachten Einblicke in die Bedeutung dieser zentral gesteuerten Regulationsmechanismen, so auch bei der Knochenhomöostase. Auch existiert schon eine mögliche Theorie für die widersprüchlichen Funktionen von Leptin (zentral hemmend – peripher stimulierend, den Knochenmetabolismus betreffend), diese wird weiter unten angeführt.

Viele Jahre dachte man, dass die Nahrungsaufnahme hauptsächlich durch zwei opponierende Zellpopulationen reguliert wird; die laterale Hypothalamusregion ist für Nahrungsaufnahme zuständig, der ventromediale Nucleus antagonisiert dieses Signal und vermittelt somit Sättigung. Dieses anfangs durchaus nützliche Dogma wurde mit der Entdeckung von Leptin durchbrochen; dieses systemisch, in weißen Fettzellen produzierte Hormon vermittelt Sättigungsgefühl. Auf diese Entdeckung folgten zahlreiche Publikationen und es wurde klar, dass man nur einzelne Puzzle Bausteine bezüglich der Nahrungsregulation entdeckt hatte. (655c)

Viele neue Moleküle konnten identifiziert werden, Leptin scheint für die Gewichtshomöostase verantwortlich zu sein, Ghrelin, ein peripheres Signal reguliert den Antrieb zu essen, moduliert wird dieser Antrieb durch homöostatisch zentrale Nervenbahnen, reich an Orexin und Melanin-Concentrating-Hormone. Gastrointestinal produzierte Moleküle wie Cholezystokinin, Glukagon-like Peptide 1 und Peptide YY vermitteln das Gefühl der

Sättigung. Diese homöostatischen Mechanismen alleine würden nicht dazu führen, dass Menschen massiv an Übergewicht leiden. (655c)

Ein hedonistisches Regulationsnetzwerk moduliert die oben genannten Mechanismen. Die Belohnung, welche durch Nahrungsaufnahme erfahren wird, ist ein enormer Motor und maßgeblich an der Regulation beteiligt; einige Studien weisen auf parallele Mechanismen mit dem Suchtverhalten hin. Diese beiden Regulationsnetzwerke sind also keine starren Gebilde, sondern beeinflussen sich gegenseitig. Die Hardware (Nervenbahnen) bedient sich einer Software (Signalmoleküle) welche die Hardware justieren und neu programmieren imstande ist. (655c)

Die Vermutung eines zentralen Regulationsnetzwerkes, welches **Körpergewicht (BW)**, **Knochenmasse (BM)** und Reproduktion steuert, erhielt man schließlich durch Leptin defiziente Lebewesen. Nager und Menschen, welche im Leptin-Signaling Defekte aufweisen, sind massiv übergewichtig, zusätzlich beobachtet man eine Unterfunktion der Gonaden. Normalerweise würde man erwarten, dass diese Faktoren zu einer Verminderung der Knochenmasse führen; in der Menopause, oder bei Patienten mit gonadalen Defekten beobachtet man häufig Knochenverlust und OP, zusätzlich fehlt ihnen auch noch Leptin. Jedoch weisen dieses übergewichtigen Menschen (Leptin defizient) kaum Knochenabbau auf, sie erkranken auch nicht an OP; Leptin defiziente Mäuse (*ob/ob*), Leptin Rezeptor defiziente Mäuse (*db/db*) und Lipodystrophe Mäuse, weisen zusätzlich zu den oben genannten Faktoren auch noch erhöhte Kortison-Spiegel auf, wiederum ein kataboler Knochenfaktor, die BM ist aber um das zwei- bis dreifache erhöht, das BW verhält sich unterschiedlich. (655b)

Eine Leptin-Infusion in den dritten Ventrikel (IVC) von *ob/ob* und *wt* Mäusen führte zu einer Verminderung der Knochenmasse und der entsprechenden Knochenparameter. OB von Leptin null Mäusen weisen eine erhöhte Aktivität gegenüber denen von Wildtypmäusen auf, die Anzahl ist nicht erhöht (655a). Die bei der Wildtypmaus beobachteten Effekte (Leptinverabreichung in den IVC führt zu einer Verminderung der Knochenmasse), wurde auch bei Ratten beobachtet - es handelt sich also nicht um ein isoliertes Mausphänomen (655a).

Der Hypothalamus produziert eine Reihe von Molekülen, welche anorexische und orexische Funktionen ausüben, reguliert werden einige mittels anorexischem Leptin. Im ventromedialen hypothalamischem (VMH) und arcuatem - (ARC) Nucleus exprimieren viele Zellen Moleküle, welche für Leptin Signale charakteristisch sind. Bei Infusion von Monosodium-Glutamat (MSG) werden hauptsächlich Areale des ARC zerstört. *ob/ob* Mäuse reagieren nach dieser Zerstörung und IVC von Leptin mit einer Erniedrigung der BM; BW wird aber nicht beeinflusst. (655b)

In Mäusen, welche Gold-Thioglucoose (GTG) behandelt werden, zerstört man Strukturen die dem VMH entsprechen. Diese Mäusen weisen nach 12 Wochen einen ähnlichen Phänotyp wie *ob/ob* Mäuse auf; sie haben erhöhte BM, welche auf eine erhöhte Knochenformation zurückzuführen ist (ein Kollagenabbauprodukt – desoxypyridinoline wird renal ausgeschieden und ist ein Indikator der OC – Aktivität, diese war unverändert – folglich ist die OC Aktivität nicht vermindert). Bei nachfolgender IVC Infusion von Leptin kommt es zu einer Verminderung des BW, BM wird aber nicht beeinflusst. (655b)

So wie es scheint sind GTG (VMH) sensitive Neurone für die Aufrechterhaltung der antiosteogenen Funktion von Leptin notwendig; MSG sensitive Neurone (ARC) nicht unbedingt. Weiters zeigt sich auch, dass BM und BW in unterschiedlichen Strukturen ungleich reguliert werden - weitere Versuche untermauern diese Hypothese. (655b)

Alpha Melanozyten stimulierendes Hormon (α MSH) wird durch ARC produziert und bindet an Neuronen welche MC4-R und MC3-R besitzen. Dieser Vorgang scheint für den anorexischen Effekt von Leptin notwendig zu sein, wie Mäuseversuche belegen - A^y/a Mäuse haben Defekte im Melanocortin-Signaling, was zu einer „late onset“ Fettleibigkeit führt. Diese Mäuse leiden an einer zentralen Leptin anorexischen Resistenz, der Phänotyp gleicht dem der $-/-$ MC4-R Mäuse. Letztgenannte haben interessanterweise trotz erhöhten Insulins keine erhöhte BM (ein Hinweis der zentralen Regulation). A^y/a Mäuse haben also normale BM, das heißt, dass der Leptin antiosteogene Effekt unabhängig agiert. ICV Infusion von Leptin bei A^y/a Mäuse führt zu einer Verminderung der BM; es sei aber erwähnt, dass bei $-/-$ MC4-R Mäusen hingegen die BM normal bleibt. Weiters beeinflusst ICV Infusion von MTII (ein MC4-R und MC3-R Agonist) in *ob/ob* Mäuse nicht die BM, senkt aber das BW. (655b)

Das „cocain related transkript“ (CART) wird durch Leptin reguliert und gehört zu den anorexischen Peptiden. CART $-/-$ Mäuse weisen keine erhöhte BM auf. (655b)

Zusammengefasst kann man sagen, dass CART- und Melanocortin Pathways für die anorexische Wirkung von Leptin erforderlich, nicht aber für seine antiosteogene Wirkung notwendig sind. (655b)

Es scheint nach den oben angeführten Fakten, dass die Leptin Wirkung neural und nicht humeral gesteuert wird. Untermauert wird dies durch verschiedene weitere Beobachtungen und Versuche.

Bei Leptin Defizienz kommt es zu einer Verminderung der Sympathikus Aktivität. (655b)

Dopamin α Hydroxylase (DBH) ist wichtig für die Norepinephrin und Epinephrin Synthese. DBH $-/-$ Mäuse weisen erhöhte BM auf, aber weniger ausgeprägt als bei *ob/ob* Mäusen. Interessanterweise zeigen DBH $-/-$ Mäuse erhöhte Kortison und Dopamin Spiegel, eigentlich zwei antiosteogene Hormone, trotzdem ist die OB Aktivität erhöht; die Nebenniere scheint also dem zentralen Mechanismus untergeordnet zu sein. ICV Infusionen von Leptin in DBH -

/- Mäuse führt zu keiner Veränderung der BM, aber zu vermehrten Fettabbau; somit ist Leptin auch ohne Catecholamine (NOR, EPI) in der Lage BW zu beeinflussen, nicht aber BM. (655b)

ICV Infusion von Leptin und Verabreichung von β -Blocker in wt Mäusen führt zu einem Verlust von Fett, BM wird aber nicht beeinflusst. (655b)

Bei Verabreichung eines Sympathikomimetikum der *ob/ob* Mäuse kommt es zur einer Verminderung der BM, trotz Hyperinsulinismus (wiederum ein Hinweis für zentral über humeral), die Knochenabsorption wird nicht beeinflusst; BW wird dosisabhängig beeinflusst - bei wt Mäusen führt gleicher Vorgang nur zu einer Veränderung in der BM. (655b)

Es gibt Hinweise dafür, dass Sympathikomimetika die OB Proliferation hemmen, *Cbfa1* ist vermindert, durch β -Antagonisten werden diese Effekte aufgehoben. Daraus schließt man das der Sympathikus für die BM-Regulation notwendig ist. In der Tat finden sich β_2 Rezeptoren auf dem OB, auch lassen sich de- und myelinisierte Nerven im Knochen nachweisen. (655b)

Zusammengefasst lassen sich diese Daten folgendermaßen interpretieren: das ZNS reguliert mittels β_2 Rezeptoren und dem Sympathikus die BM, unabhängig von BW; ZNS hemmt die OB-Proliferation; Leptin benötigt also für seine antiosteogene Aktivität die Sympathikus Funktion. (655b)

Verbindungen zum Menschen belegen diese Beobachtungen. Patienten mit Lipodystrophie leiden häufig an Osteosklerose und vermehrtem Knochenwachstum (656). Die zentrale Kontrolle der Knochenhomöostase wird durch weitere humane Defekte von Rezeptoren im ZNS, zum Beispiel einer Inaktivierungsmutation im Melanocortinrezeptor 4 untermauert. Es handelt sich um einen hypothalamischen Rezeptor für Melanocortin; Patienten mit dieser Störung sind ebenfalls übergewichtig und haben eine erhöhte Knochenmasse (657). {270}

Wie aber lässt sich diese unterschiedliche Wirkung von Leptin erklären (peripher – zentral) ?

Wenn Nahrungsmangel besteht führt der rasche Abfall von Leptin (659) zur Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren Achse, mit resultierendem Hyperkortisolismus und gleichzeitiger Hemmung der Schilddrüsen- und Gonadenfunktion. In Menschen kommt es auch noch zu einem Anstieg von GH und Abfall der IGF-1 Spiegel (660,661). Diese Änderungen bei Nahrungsmangel erscheinen durchaus sinnvoll, die Reproduktion, der Grundumsatz werden gedrosselt und durch Abfall von IGF-1 werden anabole Effekte (Muskelaufbau) bei Kalorienmangel zusätzlich gestoppt. Dies alles würde aber auch zu vermehrten Knochenabbau führen, ein Umstand der fatale Auswirkungen hätte. Die Natur hat dies durch einen zentralen modulierenden Prozess gelöst, welcher bei Leptin Abfall den Knochenabbau stoppt, sogar positiv auf den Knochen sich auswirkt. Dieser letzte zentrale Schutzmechanismus bricht aber ebenfalls zusammen, wenn man z.B. pathologisches Hungern hernimmt (Anorexia nervosa). Wenn der Organismus nun wieder reichlich Nahrung zur

Verfügung hat wird nun gespeichert für harte Zeiten (662). Leptin steigt an, zentral entwickelt sich eine Leptinresistenz, welche sich bemerkbar macht durch verminderten Leptin Transport vom Blut in die zerebro-spinale Flüssigkeit (663). Der Appetit wird dadurch langsamer reduziert, auch wird die Hemmung der Knochenformation verlangsamt; gleichzeitig kommen nun die positiven peripheren Knocheneffekte von Leptin ins Spiel. (658)

Dieser Mechanismus scheint in Vertebraten konserviert zu sein, zudem wird der Leptin Spiegel, der wahrscheinlich ausschlaggebend für dessen Funktion ist (zentral keine Leptinproduktion nachweisbar) durch lösliche Rezeptoren moduliert. (658b)

Es wird deutlich, dass es sich um komplexe Regulationsmechanismen handelt, deren Verständnis für ein TE-Konzept unumgänglich ist.

653)

Tremollieres F.A., Pouilles J.M., Ribot C. (1993) Vertebral postmenopausal bone loss is reduced in overweight women: a longitudinal study in 155 early postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77(3):683-6.

653a)

Laharrague P. et al. (1998) High expression of leptin by human bone marrow adipocytes. *FASEB* 12:747

653b)

Maor G., Rochwerger M., Segev Y., Phillip M. (2002) Leptin acts as a growth factor on the CDZ of skeletal growth centers. *J. bone min. res.* 17: 1034

654)

Elmqvist J.K., Maratos-Flier E., Saper C.B., Flier J.S. (1998) Unraveling the central nervous system pathways underlying responses to leptin. *Nat. Neurosci.* 1(6):445-50. Review.

655a)

Ducy P., Amling M., Takeda S., Priemel M., Schilling A.F., Beil F.T., Shen J., Vinson C., Rueger J.M., Karsenty G. (2000) Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 100(2):197-207.

655b)

Takeda S., Eleftheriou F., Levasseur R., Liu X., Zhao L., Parker K.L., Armstrong D., Ducy P., Karsenty G. (2002) Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 111: 305-317

655c)

Saper C.B., Chou T.C., Elmqvist J.K. (2002) The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron* 36: 199-211

656)

Westvik J. (1996) Radiological features in generalized lipodystrophy. *Acta Paediatr. Suppl.* 413:44-51.

657)

Farooqi I.S., Yeo G.S., Keogh J.M., Aminian S., Jebb S.A., Butler G., Cheetham T., O'Rahilly S. (2000) Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *J. Clin. Invest.* 106(2):271-9.

657a)

Engelbrecht Y., Wet H., Horsch K., et al. (2003) Glucocorticoids induce rapid up-regulation of mitogen activated protein kinase phosphatase 1 and dephosphorylation of extracellular signal regulated kinase and impair proliferation in human and mouse osteoblast cell lines. *Endocrinology* 144(2):412-422

658)

Khosla S. (2002) Editorial: Leptin-Central or peripheral to the regulation of bone metabolism? *Endocrinology* 143:4161

658b)

F. Elefteriou, S. Takeda, K. Ebihara, J. Magre, N. Patano, C. Ae Kim, Y. Ogawa, X. Liu, S. M. Ware, W. J. Craigen, J. J. Robert, C. Vinson, K. Nakao, J. Capeau, G. Karsenty (2004) Serum leptin level is a regulator of bone mass. *PNAS* vol. 101 no. 9 3263

659)

Frederich R.C., Lollmann B., Hamann A., Napolitano-Rosen A., Kahn B.B., Lowell B.B., Flier J.S. (1995) Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. Impact of nutrition and obesity. *J Clin Invest.* 96(3):1658-63.

660)

Carro E., Senaris R., Considine R.V., Casanueva F.F., Dieguez C. (1997) Regulation of in vivo growth hormone secretion by leptin. *Endocrinology* 138(5):2203-6.

661)

Snyder D.K., Clemmons D.R., Underwood L.E. (1989) Dietary carbohydrate content determines responsiveness to growth hormone in energy-restricted humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 69(4):745-52.

662)

Flier J.S. (1998) Clinical review 94: What's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J Clin Endocrinol Metab.* 83(5):1407-13. Review.

663)

Caro J.F., Kolaczynski J.W., Nyce M.R., Ohannesian J.P., Opentanova I., Goldman W.H., Lynn R.B., Zhang P.L., Sinha M.K., Considine R.V. (1996) Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet.* 348(9021):159-61.

664)

Developmental Cell, Vol. 6, 423–435, March, 2004, Copyright ©2004 by Cell Press

A Twist Code Determines the

Onset of Osteoblast Differentiation

Peter Bialek,1,6 Britt Kern,1,2,6 Xiangli Yang,1

Marijke Schrock,1 Drazen Susic,3

Nancy Hong,4 Hua Wu,4 Kai Yu,5

David M. Ornitz,5 Eric N. Olson, Monica J. Justice,1 and Gerard Karsenty1,*