

Insulin-like growth factor-I – Ein Bindeglied zwischen Ernährung und Wachstum

**G. Jahreis¹⁾, R. Zander⁴⁾, U. Ranft²⁾, E. Kauf¹⁾, A. Hennig²⁾
und H. Schubert³⁾**

Abteilung für pädiatrische Endokrinologie der Kinderklinik¹⁾, Institut für Tierernährung²⁾ und Tierexperimentelles Zentrum³⁾ der Friedrich-Schiller-Universität Jena sowie Institut für Tierseuchenforschung, Jena⁴⁾

Insulin-like growth factor-I – a connecting link between nutrition and growth

Zusammenfassung: An 8×10 männlichen Wistar-Ratten wurde der Einfluß einer steigenden Proteinversorgung in Kombination mit Sojaöl auf die IGF-I-Konzentration im Serum in Korrelation zum Wachstum gemessen. Bei einem Caseingehalt von 0 % im Futter betrug der IGF-I-Spiegel $0,13 \pm 0,02$ rU/ml. Ein Plateau wurde bei etwa 15 % Casein erreicht ($0,74 \pm 0,07$ rU/ml). Die zusätzliche Applikation von 3 % Sojaöl erhöhte die IGF-I-Konzentration signifikant ($P < 0,01$) auf $0,95 \pm 0,16$ rU/ml.

Die Untersuchungen zeigen eine spezifische Steigerung der IGF-I-Synthese durch die Ölzulage, der parallel eine weitere Stimulation des Wachstums der Ratten folgt. Die ernährungsabhängige IGF-Produktion in den peripheren Geweben (bes. Leber) stellt die Schaltstelle zwischen der Wachstumshormon-Achse (genetisch mögliches Wachstum) und dem in Abhängigkeit von der Nährstoffversorgung realisierbaren Wachstum dar.

Summary: The influence of an increasing protein supply in combination with soybean oil upon the IGF-I concentration in the serum in correlation with growth was measured on 8×10 male Wistar rats. With a casein content of 0 % in the food, the IGF-I level was 0.13 ± 0.02 rU/ml. An IGF-I plateau of 0.74 ± 0.07 rU/ml was reached at some 15 % casein. The additional application of 3 % soybean oil increased the IGF-I concentration significantly ($P < 0.01$) up to 0.95 ± 0.16 rU/ml.

The investigations show a specific increase of the IGF-I synthesis by the addition of oil, which is paralleled by a further stimulation of the growth of the rats. The nutrition-dependent IGF production in the peripheral tissues (mainly liver) represents the connection link between the growth hormone axis (genetically potential growth) and the growth realizable depending on the supply with nutrients.

Schlüsselwörter: Insulin-like growth factor-I, Ernährung, Protein, Öl, Ratte

Key words: Insulin-like growth factor-I, nutrition, protein, oil, rat

Einleitung

Das wachstumshormonabhängige Peptid Insulin-like growth factor-I (IGF-I) mit dem Synonym Somatomedin C wird als prinzipieller Stimula-

tor der Zellproliferation angesehen, die sich im somatischen Wachstum äußert. Die insulinähnlichen Wachstumsfaktoren fördern die Proteinsynthese und hemmen den Proteinabbau (4).

Nach dem klassischen Konzept von Waterlow et al. (16) spielen zwei Hormone, Insulin und STH, eine wichtige Rolle beim Proteinanabolismus. Zu diesen beiden Hormonen kommt der Peptidwachstumsfaktor, IGF-I, als dritte endokrine Einflußgröße nach den Erkenntnissen des letzten Dezenniums hinzu. Die IGF-I-Produktion reflektiert die anabol-katabole Balance der Leber (10).

An der Schaltstelle „Leber“ wird der Einfluß der Nährstoffversorgung auf die somatotrophe Achse reguliert. Einzelheiten über den Wirkungsmechanismus sind bisher nur andeutungsweise bekannt (12). Zunächst wurde eine verminderte STH-Bindung an der Leberzelle bei Nährstoffmangel, z. B. durch eine Down-Regulation der STH-Rezeptoren, als Ursache gefunden (7). Nach Untersuchungen an Ratten mit leichtem oder insulinbehandeltem Diabetes (intrazellulärer Nährstoffmangel) bzw. Proteinmangel zeigten dieselben Autoren später, daß der IGF-I-Gehalt in der Peripherie auch ohne einen Abfall der hepatischen STH-Bindung vermindert sein kann. Sie postulierten daraufhin einen Postrezeptordefekt, der insulinmangelbedingt sein könnte (8, 9). Ebenfalls mit Streptozotocin-diabetischen Ratten arbeiteten Goldstein et al. (4), die eine enge Korrelation zwischen dem Gehalt an IGF-I-mRNA in der Leber und der IGF-I-Konzentration im Lebergewebe und im Serum nachwiesen. Sie schlußfolgern aus ihren Experimenten, daß die nährstoffabhängige metabolische Regulation des IGF-I auf der Messenger-RNA-Ebene erfolgt. Yahya et al. (17) prüften den Einfluß unterschiedlicher Proteinanteile im Futter von Ratten und fanden die höchsten IGF-I-Konzentrationen im Serum bei höherem Proteinangebot, die ihrerseits mit dem Tibia- und Muskelwachstum korreliert waren.

Einen besonders interessanten Versuch zum Einfluß der Nährstoffversorgung auf die hepatische IGF-I-Synthese führten Coxam et al. (1) an Kälbern durch. Sie infundierte Chylomikronen und fanden eine Stimulation der IGF-I-Produktion in der Leber. Aus ihrem Experiment schlußfolgern sie, daß bestimmte Apoproteine oder VLDL die Wachstumsfaktorsynthese sehr effektiv fördern.

Besonders durch die Ergebnisse der beiden letztgenannten Arbeiten angeregt, bestand das Ziel der vorliegenden Untersuchungen in der Prüfung des Einflusses steigender Proteingaben in Kombination mit einem Ölzusatz zum Futter auf die IGF-I-Konzentration im Plasma wachsender Ratten und deren Verhältnis zur Wachstumsrate der Versuchstiere.

Material und Methode

Als Versuchstiere dienten 8×10 männliche Wistar-Ratten (Uje: WIST) im Alter von 7 Wochen und einem mittleren Gewicht von 214 ± 23 g/Tier. Die Haltung erfolgte in Käfigen zu je fünf Tieren bei einer Ad-libitum-Fütterung mit den in Tabelle 1 angeführten mehlähnlichen Versuchsrationen. Die Tiere wurden nicht an die Rationen adaptiert und nach 16 Tagen getötet.

Neben dem steigenden Proteinangebot sollte die spezifische Wirkung der zusätzlichen Fettgabe ermittelt werden. Der Energiegehalt des Futters bei Gruppe 5 wurde durch die zusätzliche Ölanreicherung nicht wesentlich im Vergleich zur

Tab. 1. Rationskomponenten der einzelnen Versuchsgruppen.

	Vergleichsgruppe	Gruppe 1	2	3
Casein %	0	3	6	10
Sojaöl %	3	3	3	3
umsetzbare Energie ¹⁾	9,83	10,06	10,30	10,63
	Gruppe 4	5	6	7
Casein %	15	15	22	30
Sojaöl %	3	6	3	3
umsetzbare Energie ¹⁾	11,09	11,80	11,59	12,27

¹⁾ Angabe in MJ pro kg Trockensubstanz; für die Komponenten wurden zugrunde gelegt: Casein 19,6; Maisstärke 16,2 und Sojaöl 38,3 MJ/kg (nach L. Hoffmann, pers. Mitteilung).

Gruppe 4 und 6 erhöht. Der etwas steigende Anteil an umsetzbarer Energie in den Rationen der Gruppen 6 und 7 darf aufgrund der durch den Proteinüberschuss provozierten Imbalance nicht überbewertet werden.

Neben dem Futterverzehr wurden auch die Gewichtszunahmen der Tiere während des 16tägigen Versuchszeitraumes registriert. Die IGF-I-Bestimmung erfolgte radioimmunologisch (15). Nach der Extraktion des Plasmas (50 µl) mittels Säurealkohol (1 ml) wurden 50 µl des neutralisierten Extraktes im RIA eingesetzt (3).

Als Tracer diente ¹²⁵Iod-markiertes rekombinantes humanes IGF-I der Firma Ciba-Geigy. Die Aminosäuresequenz des Ratten-IGF-I und des humanen IGF-I unterscheidet sich in drei Aminosäurenpositionen (14).

Im RIA wurde das Antiserum UBK 487 verwendet, ein Geschenk von Prof. Dr. L. Underwood, Chapel Hill. Die Standardkurven unter Verwendung von rekombinan-

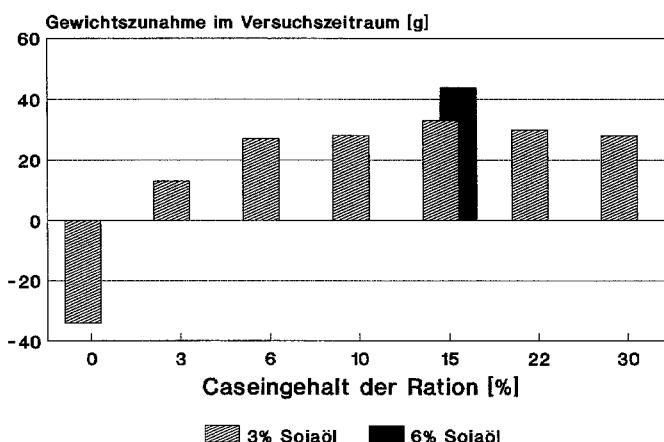


Abb. 1. Gewichtsentwicklung der Ratten in Abhängigkeit vom Casein- und Sojaöl-anteil in der Ration.

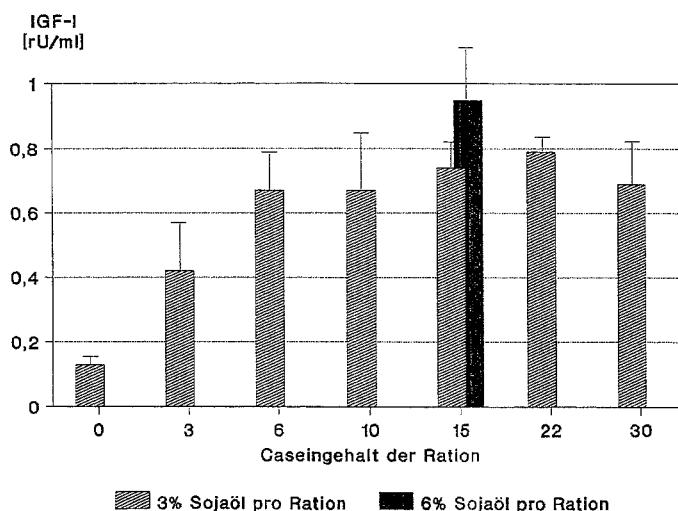


Abb. 2. IGF-I-Konzentration (rat units) im Plasma der Ratten in Abhängigkeit vom Ernährungsregime.

tem humanem IGF-I und Rattenpoolserum verlaufen nur annähernd parallel (6a). Aus diesem Grunde erfolgt die Konzentrationsangabe für IGF-I nicht in ng, sondern in rU (Ratteneinheiten) gemessen an einem Pool adulter Ratten beiderlei Geschlechts, da uns zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung kein IGF-I der Ratte zur Verfügung stand.

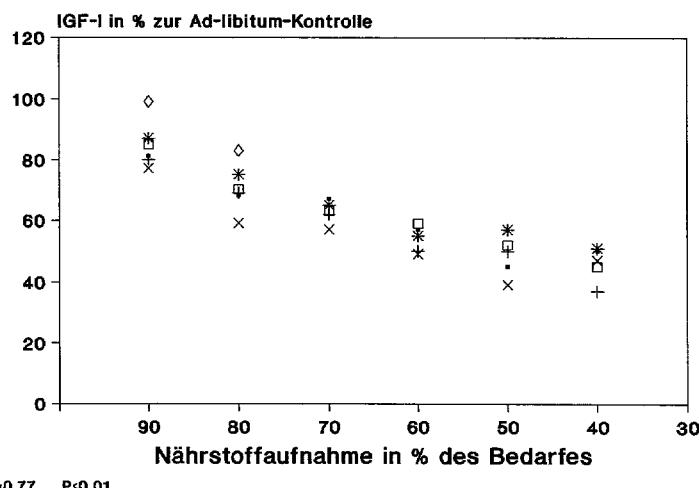


Abb. 3. Abfall der IGF-I-Konzentration mit zunehmender Nährstoffrestriktion. Zusammenfassende Darstellung von drei Versuchen mit wachsenden Schweinen (n = 32). Aufgrund des unterschiedlichen Alters der Tiere werden die Ergebnisse in Prozent vom Ausgangswert angegeben (6a).

Ergebnisse

Abgesehen von der negativen Kontrollgruppe mit einem extremen Eiweißmangel in der Ration (signifikant niedrigere Futteraufnahme, 17,0 g/Tier und Tag) bestanden hinsichtlich des Verzehrs zwischen den Gruppen nur unwesentliche Unterschiede. Die Tiere der Gruppe 5, die den Ölzusatz zum Futter erhielten, nahmen in der Tendenz mehr auf (21,2 g/Tier und Tag) im Vergleich zur Gruppe 4 (19,9 g/Tier und Tag – gleiche Ration, 3 % weniger Öl).

Dagegen bestehen hinsichtlich der Gewichtsentwicklung hochsignifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen (Abb. 1). Die Tiere der Kontrollgruppe nahmen im Versuchszeitraum ab. Bereits 3 % Casein genügten, um die Gewichtszunahme deutlich zu stimulieren. Oberhalb 6 % Casein in der Ration ergab sich keine weitere Verbesserung der Zunahmen ($P > 0,05$), lediglich die zusätzliche Ölgabe (schwarze Säule) erbrachte ein deutlich verbessertes Wachstum.

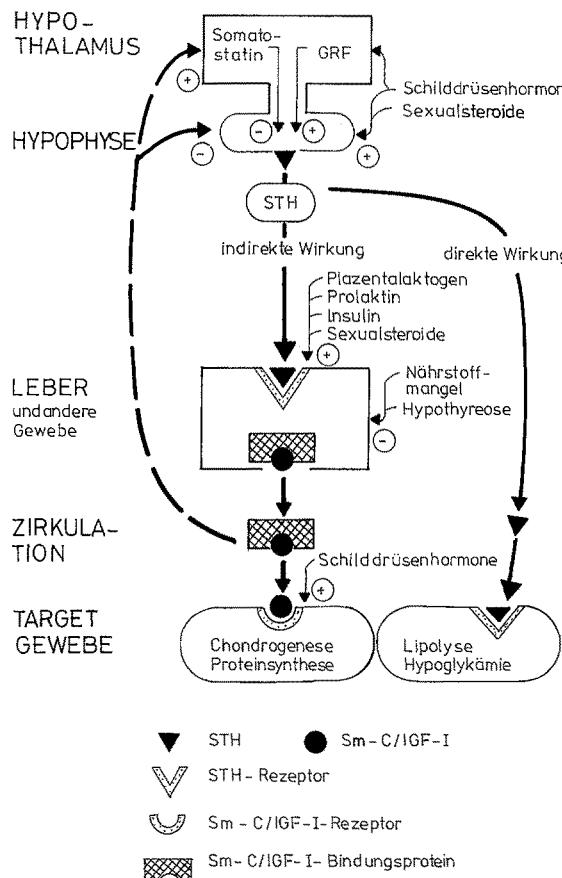


Abb. 4. Einflußgrößen auf die STH-Achse.

Einen fast identischen Verlauf mit den Gewichtszunahmen zeigt die IGF-I-Konzentration im Plasma der Tiere (Abb. 2). In der Kontrollgruppe mit Eiweißmangel ergaben sich Werte, die vergleichbar mit denen von Kindern mit hypothalamisch-hypophysärem Minderwuchs sind. Diese katabole Stoffwechselsituation korrespondiert mit dem Rückgang des Gewichtes der Ratten. Ähnlich wie bei den Gewichtszunahmen wird auch im Falle des IGF-I ein Plateau erreicht, das bis zu einem 22%igen Caseingehalt im Futter leicht ansteigt, dann aber wieder abfallende Tendenz zeigt. Aus diesem Plateau ragt die IGF-Konzentration der Tiere signifikant ($P < 0,01$) heraus, die zusätzlich 3 % Öl (Abb. 2; schwarze Säule) mit dem Futter aufnahmen.

Diskussion

Takahashi et al. (13) prüften 0, 5, 12, 14 und 17 % Casein in Rattendiäten und fanden in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen die besten Zunahmen und die höchsten IGF-I-Konzentrationen bei 140 g Casein pro kg der Ration. Nam et al. (11) verglichen eine Casein-, eine Gluten- und eine proteinfreie Diät ebenfalls an Ratten. Auch deren Untersuchungen ergaben die höchsten IGF-I-Serumkonzentrationen nach Verfütterung der Ration mit 12 % Casein gepaart mit der höchsten fraktionellen Syntheserate des Gesamtkörperproteins (26,8 %/d). Speziell diese Untersuchungen beweisen, daß hohe IGF-I-Werte ein ausgezeichneter Indikator für den Proteinanabolismus sind. Letztere Autoren weisen gleichzeitig darauf hin, daß die renale Exkretion der säurelöslichen Peptide parallel zur IGF-I-Konzentration im Blutkreislauf verläuft. Fliesen et al. (2) ermittelten darüber hinaus einen weniger drastischen Abfall der IGF-I-Konzentration bei Proteinmangel mit zunehmendem Alter der Ratten. Da der IGF-I-Spiegel mit dem Leberwachstum korreliert, postulieren die Autoren, daß im Proteinmangel das verminderte Leberwachstum über IGF-I gesteuert wird. Im vorliegenden Versuch konnten wir die effektive Wirkung von Lipiden auf die IGF-I-Produktion nachweisen.

Die Zulage von lediglich 3 % Sojaöl bei einem annähernd optimalen Caseingehalt der Ration von 15 % erhöhte die IGF-I-Konzentration sprunghaft um 20 %. Dieses Ergebnis beweist die spezifische Funktion der Lipide bei der Regulation der hepatischen IGF-I-Synthese *in vivo* und unterstreicht die mit einer sehr komplizierten Versuchsanordnung ermittelten Resultate von Coxam et al. (1). Wobei in unseren Rattenexperimenten offensichtlich nicht primär die Energieversorgung den entscheidenden Faktor darstellt, da sich der Gehalt an umsetzbarer Energie im Futter zwischen den Gruppen 4, 5 und 6 nur unwesentlich unterscheidet.

Im Energiemangel stimuliert über Minipumpen appliziertes IGF-I das Wachstum und die Stickstoffretention verständlicherweise wesentlich deutlicher als bei optimal versorgten Ratten (Yang et al. 1990). Der Versuch war allerdings so angelegt, daß die unterschiedliche Energieversorgung dadurch erreicht wurde, daß entweder 3,4 bzw. 15,0 % Maisöl in der Ration enthalten waren bei einem Caseingehalt von 28,4 bzw. 25,0 %. Unter dem Aspekt der spezifischen Lipidwirkung betrachtet, konnte bei einem so hohen Ölanteil in der Kontrollgruppe eine zusätzliche Wachstumsstimulation durch exogenes IGF-I nicht erwartet werden.

In den von uns früher durchgeführten Untersuchungen an wachsenden Tieren zum Einfluß der Nährstoffversorgung auf die IGF-I-Konzentration wurde die Menge des Futters stufenweise reduziert, so daß sowohl die Energie- als auch die Proteinzufluhr gleichmäßig eingeschränkt wurden (6a). Fast parallel zur Futterrestriktion verminderte sich dabei auch der Plasmaspiegel an IGF-I (Abb. 3).

Das Wachstumshormon wirkt sowohl lipolytisch als auch wachstumsfördernd über die Stimulation der IGF-I-Synthese.

Die Abbildung 4 zeigt, auf welchen Ebenen der Wachstumshormonachse die Ernährung, die Schilddrüsenhormone und die Sexualsterioide modifizierend eingreifen.

Insgesamt ist die Nährstoffaufnahme neben dem STH-Spiegel der wichtigste Regulator der Plasmakonzentration an IGF-I.

Bei Nährstoffmangel oder -entzug fällt der Gehalt an IGF-I trotz hoher STH-Konzentrationen im Plasma in Bereiche ab, die ansonsten für eine Hypophysenunterfunktion typisch wären. Nach Zulage der fehlenden Nährstoffe normalisiert sich der Spiegel in wenigen Tagen. Diese Veränderungen korrelieren mit der Stickstoffbilanz und dem Wachstum.

Trotz der autokrin/parakrinen Wirkung des IGF-I bringt die Bestimmung der Gewebekonzentrationen keinen wesentlichen Vorteil. Das Blutserum mit seinen IGF-Bindungsproteinen (Speicherfunktion) spiegelt den „Wachstumsfaktorenexport“ der Leber zwar zeitlich leicht verzögert, aber bei Versuchszeiten über mehrere Tage recht gut wider (6).

Aus den Versuchsergebnissen und der angeführten Literatur kann geschlußfolgert werden, daß die Ernährung als übergeordneter und STH-unabhängiger Faktor bei der Regulation der IGF-I-Synthese wirkt. Die eingeschränkte Umsetzung des STH-Signals zum Wachstum erscheint in Nährstoffmangelsituationen als fundamental und dürfte sich während der Evolution herausgebildet haben, um in derartigen Situationen die Wachstumsprozesse zugunsten der lebensnotwendigen Funktionen (Kreislauf, Leber, Hirn) zu drosseln.

Literatur

1. Coxam V, Bauchart D, Duran D, Davicco M-J, Opmeer F, Barlet JP (1989) Nutrient effects on the hepatic production of somatomedin C (IGF_I) in the milk-fed calf. *Brit J Nutrit* 62:425-437
2. Fliesen T, Maiter D, Gerard G, Underwood LE, Maes M, Ketelslegers JM (1989) Reduction of serum insulin-like growth factor-I by dietary protein restriction is age dependent. *Pediat Res* 26:415-419
3. Daughaday WH, Mariz IK, Blethen SL (1980) Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites: A comparison of RRA and RIA of somatomedin in native and acid ethanol-extracted serum. *J Clin Endocrinol Metab* 51:781-788
4. Goldstein S, Sertich GJ, Levan KR, Phillips LS (1988) Nutrition and somatomedin XIX. Molecular regulation of insulin-like growth factor-1 in streptozotocin-diabetic rats. *Molec Endocrinol* 2:1093-1100
5. Gulve A, Dice JF (1989) Regulation of protein synthesis and degradation in L8 myotubes: Effects of serum, insulin and insulin-like growth factors. *Biochem J* 260:377-387

6. Jahreis G, Hesse V (1988) Tissue and plasma concentration of somatomedin-C/insulin-like growth factor-I in female and male rats after application of the goitrogen nitrate. *Acta Paediatr Jpn* 30 (Suppl):216-218
6. a) Jahreis G (1990) Somatomedin-C/Insulin-like growth factor-I: Seine Abhängigkeit von hormonellen Veränderungen, von der Ernährung und vom Alter beim Menschen und bei Versuchstieren sowie dessen Bestimmung mittels Bio-, Radioimmuno- und Enzymimmunoassay. *Habil-Schr Friedrich-Schiller-Universität Jena*
7. Maes M, Ketelslegers J-M, Underwood LE (1983) Low plasma somatomedin-C in streptozotocin-induced diabetes mellitus. Correlation with changes in somatogenic and lactogenic liver binding sites. *Diabetes* 32:1060-1069
8. Maes M, Underwood LE, Ketelslegers J-M (1986) Low serum somatomedin-C in insulin-dependent diabetes: Evidence for a postreceptor mechanism. *Endocrinology* 118:377-382
9. Maiter D, Maes M, Underwood LE, Fliesen T, Gerard G, Ketelslegers J-M (1988) Early changes in serum concentrations of somatomedin-C induced by dietary protein deprivation in rats: Contributions of growth hormone receptor and post-receptor defects. *J Endocrinol* 118:113-120
10. Merimee TJ, Zapf J, Froesch ER (1982) Insulin-like growth factors in the fed and fasted states. *J Clin Endocrinol Metab* 55:999-1002
11. Nam TJ, Noguchi T, Funabiki R, Kato H, Miura Y, Naito H (1990) Correlation between the urinary excretion of acid-soluble peptides, fractional syntheses rate of whole body proteins, and plasma immunoreactive insulin-like growth factor-1/somatomedin C concentration in the rat. *Brit J Nutrit* 63:515-520
12. Steele NC, Elsasser TH (1989) Regulation of somatomedin production, release and mechanism of action. In: Campion DR (ed) *Animal growth regulation*. Plenum Publ Congr, pp 295-314
13. Takahashi S, Kajikawa M, Umezawa T, Takahashi SI, Kato H, Miura Y, Nam TJ, Noguchi T, Naito H (1990) Effect of dietary proteins on the plasma immunoreactive insulin-like growth factor-1/somatomedin C concentration in the rat. *Brit J Nutrit* 63:521-534
14. Tamura K, Kobayashi M, Ishii Y, Tamura T, Hashimoto K, Nakamura S, Niwa M, Zapf J (1989) Primary structure of rat insulin-like growth factor-I and its biological activities. *J Biol Chem* 264:5616-5621
15. Underwood LE, Murphy MG (1987) Radioimmunoassay of the somatomedins/insulin-like growth factors. In: Patrono C, Peskar BA (eds) *Radioimmunoassay in basic and clinical pharmacology*. Springer-Verlag, New York, pp 561-574
16. Waterlow JC, Garlick PJ, Millward DJ (1978) The effects of nutrition and hormones on protein turnover in muscle. Protein turnover in mammalian tissues and in the whole body. Elsevier North-Holland, Amsterdam New York Oxford, pp 667-681
17. Yahya ZAH, Bates PC, Dalal SS, Morell D, Holder AT (1986) The effect of dietary protein concentration on bone and muscle growth and immunoreactive somatomedin C in the rat. *Proc Nutr Soc* 45:107 A
18. Yang H, Schalch DS, New DM (1990) Anabolic effects of insulin-like growth factor I in calorie restricted and ad libitum fed rats. *Nutrit Res* 10:1151-1160

Eingegangen 8. Juli 1991
akzeptiert 15. Januar 1992

Für die Verfasser:

Dr. sc. nat. G. Jahreis, Universitäts-Kinderklinik, Kochstraße 2, D-6900 Jena