

Aus dem Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin der Universität zu Köln
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. J. Dötsch

**Mütterliche Adipositas induziert eine Zunahme
und einen inflammatorischen Phänotyp des Fettgewebes
und beeinflusst die Adipogenese
in weiblichen Nachkommen langfristig**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Eva-Kristina Charlotte Huber
aus Heidelberg

promoviert am 05. Dezember 2022

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. Dr. nat. med. M. A. A. Alcázar

2. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. W. H. A. Krone

Erklärung:

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.¹

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Daten wurden durch mich an der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Experimentelle Pneumologie, Arbeitsgruppe für translationale experimentelle Pädiatrie, ermittelt.

Davon waren folgende Tätigkeiten ausgenommen:

die Tötung der Versuchstiere und die Entnahme der Organe wurden durch Frau Dr. Katharina Dinger und durch Herrn Jun.-Prof. Dr. Dr. M. A. Alejandro Alcázar ausgeführt.

Die magnetresonanztomographischen Schnittbilder wurden in Kooperation mit dem Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie der Uniklinik Köln angefertigt und deren Auswertung nach Anleitung durch Herrn Priv.-Doz. Dr. Thorsten Persigehl von mir selbstständig durchgeführt.

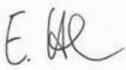
Die restlichen in dieser Arbeit angegebenen Experimente sind nach entsprechender Anleitung durch Frau Dr. Katharina Dinger, Frau Christina Vohlen, und meinen Doktorvater Jun.-Prof. Dr. Dr. M. A. Alejandro Alcázar von mir selbst durchgeführt worden.

Die Auswertungen jeglicher Daten dieser Arbeit erfolgten durch mich unter Anleitung meines Doktorvaters Jun.-Prof. Dr. Dr. M. A. Alejandro Alcázar.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 24.06.2022

Unterschrift: 

¹Bei kumulativen Promotionen stellt nur die eigenständig verfasste Einleitung und Diskussion die Dissertationsschrift im Sinne der Erklärung gemäß dieser Erklärung dar.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich auf dem Weg meiner Promotion begleitet und deren Fertigstellung ermöglicht haben.

Ein besonderer Dank gilt dabei der Arbeitsgruppe für translationale experimentelle Pädiatrie der Universität zu Köln für eine stets angenehme und freundliche Arbeitsatmosphäre. Insbesondere danke ich Frau Dr. Katharina Dinger und Frau Christina Vohlen, die mich engagiert und kompetent in sämtliche Arbeitstechniken eingeführt haben.

Für die gegenseitige Unterstützung möchte ich mich auch bei meinem Projektpartner und Lebensgefährten Herrn Dr. Thorsten Litzenburger bedanken, dessen Ausdauer und Durchhaltevermögen mich täglich inspirieren.

Außerdem möchte ich meinem Großvater Hans-Peter Dauer danken, der die Projektentwicklung und Durchführung mit seinen über 90 Jahren jederzeit interessiert verfolgte und mir damit stets motivierend beiseite stand.

Für die finanzielle Förderung des Forschungsprojekts im Rahmen des Köln Fortune Programms möchte ich dem Prodekanat für Wissenschaft der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln meinen Dank aussprechen.

Mein größter Dank geht an meinen Doktorvater Jun. Prof. Dr. Dr. Miguel A. Alejandre Alcázar, der jede Phase der Promotionsarbeit intensiv begleitet hat. Ich bedanke mich für eine ausgezeichnete Betreuung, kreative Ideen und konstruktive Anregungen, die diese Arbeit ermöglicht haben.

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1. ZUSAMMENFASSUNG	11
2. EINLEITUNG	12
2.1 Physiologie des Fettgewebes	12
2.1.1 Histologie	12
2.1.2 Regulation und Differenzierung der Adipozyten	13
2.1.2.1 Adipogenese	13
2.1.2.2 Zelluläre Adaptation	15
2.1.3 Stoffwechsel	16
2.1.3.1 Lipogenese	16
2.1.3.2 Lipolyse	17
2.1.4 Funktion des Fettgewebes	18
2.1.4.1 Adipozytokine	19
2.2 Geschlechtsspezifischer Studienansatz – Rolle von Östrogen.....	21
2.3 Adipositas – eine Wohlstandskrankheit.....	22
2.3.1 Definition Adipositas/ Body mass index (BMI).....	24
2.3.2 Prävalenz und Inzidenz	26
2.3.3 Ätiologie (kindlicher) Adipositas	26
2.4 Fetale Programmierung	27
2.4.1 Metabolische Programmierung.....	28
2.4.2 Intergenerationszyklus	30
2.4.3 Epigenetik	31
2.5 Fettgewebisdysfunktion.....	32
2.5.1 Körperkomposition mit adipösem Phänotyp	32
2.5.2 Histologie – Adipozyten und Zellkomposition	33
2.5.3 Sekretionsprofil	35
2.6 Klinische Relevanz	36
2.7 Fragestellungen und Ziel der Arbeit	37
2.7.1 Zentrale Hypothese	37
2.7.2 Spezifische Ziele.....	37
2.7.3 Tierexperimentelles Modell der metabolischen Programmierung	39

3.	PUBLIKATION.....	40
4.	ERGEBNISSE	59
5.	DISKUSSION.....	60
5.1	Auswirkungen der metabolischen Programmierung und deren Einordnung	60
5.1.1	Perinataler Energieüberschuss infolge mütterlicher HFD begünstigt eine Vermehrung des Körperfettanteils und moduliert Fettkompartimente im weiblichen murinen Nachwuchs	60
5.1.2	Mütterliche HFD induziert eine transiente, reversible Adipozytenhypertrophie ...	61
5.1.3	Nach mütterlicher HFD zeigt sich in der frühen Phase eine Aktivierung inflammatorischer Signalwege	63
5.1.4	Die adipozytäre Zellzyklusregulation lässt sich durch mütterliche HFD in weiblichen Nachkommen langfristig beeinflussen.....	65
5.1.5	Mütterliche HFD prägt die Adipozytendifferenzierung phasenabhängig	66
5.1.6	Mütterliche HFD dysreguliert in der frühen Phase den AMPK α -Signalweg.....	68
5.1.7	Änderungen im Lipidmetabolismus der weiblichen Nachkommen sind Langzeitfolgen mütterlicher HFD.....	69
5.2	Limitationen der Studie.....	71
5.2.1	Technische Limitationen der bildgebenden Verfahren	71
5.2.2	Vergleich der Fettkompartimente	71
5.2.3	Einflussfaktoren der metabolischen Programmierung	71
5.2.3.1	Zeitfenster der Diätintervention.....	72
5.2.3.2	Diätzusammensetzung (Mikro- und Makronährstoffe).....	72
5.2.3.3	Mütterlicher Gesundheitszustand und „Mikroumwelt“	72
5.2.3.4	Spezies, genetische Abstammung und Untersuchungsobjekt	73
5.2.3.5	Geschlecht und Sexualhormone	73
5.3	Ausblick.....	74
6.	LITERATURVERZEICHNIS.....	75
7.	ANHANG	85
7.1	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	85
7.2	Zusätzliche Ergebnisse.....	86

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
<i>Abb.</i>	Abbildung
<i>ACC</i>	Acetyl-CoA-Carboxylase
<i>ADD1</i>	<i>Adipocyte determination- and differentiation-dependent factor 1</i>
<i>AdipoQ</i>	Adiponektin
<i>ADIPOR1/2</i>	<i>Adiponectin receptor 1/2</i>
<i>AGA</i>	Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter
<i>AKT</i>	<i>Serine/threonine-protein kinases</i> ; Gen, welches die Proteinkinase B kodiert
<i>AMP</i>	Adenosinmonophosphat
<i>AMPK(α)</i>	Adenosinmonophosphat-aktivierte Proteinkinase (alpha)
<i>ATP</i>	Adenosintriphosphat
<i>BMI</i>	<i>Body-Mass-Index</i> , Körpermasseindex
<i>bspw.</i>	Beispielsweise
<i>bzw.</i>	Beziehungsweise
<i>ca.</i>	Circa
<i>cAMP</i>	Cyclisches Adenosinmonophosphat
<i>Ccnd1</i>	Cyclin D1
<i>CDK</i>	<i>Cyclin dependent kinase</i> , Cyclin-abhängige Kinase
<i>Cdkn1a/p21</i>	<i>Cyclin dependent kinase Inhibitor 1a</i>
<i>Cdkn1b/p27</i>	<i>Cyclin dependent kinase Inhibitor 1b</i>
<i>Cdkn2a/p16</i>	<i>Cyclin dependent kinase Inhibitor 2a</i>
<i>c/EBPα/β/δ</i>	<i>CCAAT / Enhancer-bindendes Protein alpha/beta/delta</i>
<i>C/EBPβ-LIP</i>	<i>C/EBP beta-liver-enriched inhibitory protein</i>
<i>CHOP</i>	<i>CCAAT enhancer binding protein (C/EBP) homologous protein</i>
<i>cm</i>	Zentimeter
<i>CoA</i>	Coenzym A
<i>Co-Gruppe</i>	Kontrollgruppe
<i>Ctnnb1</i>	<i>Catenin β 1</i>
<i>d.h.</i>	Das heißt
<i>DLK</i>	<i>Delta-like protein</i>
<i>DM</i>	<i>Diabetes Mellitus</i>
<i>DNA</i>	Desoxyribonukleinsäure
<i>dt.</i>	Deutsch
<i>engl.</i>	Englisch
<i>et al.</i>	et alii/ et aliae/ et alia

<i>etc.</i>	Etcetera
<i>EZM</i>	Extrazellulärmatrix
<i>Fabp-4</i>	<i>Fatty acid binding protein 4</i> , Fettsäurebindungsprotein 4
<i>FAS</i>	Fettsäuresynthase
<i>FFS</i>	Freie Fettsäuren
<i>g</i>	Gramm
<i>GH</i>	<i>Growth hormone</i> , Wachstumshormon
<i>GLUT-4</i>	Glukosetransporter 4
<i>HDL</i>	<i>High-Density-Lipoprotein</i>
<i>H.E.-Färbung</i>	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
<i>HFD</i>	Hochfettdiät
<i>HIF-1</i>	Hypoxie-induzierter Faktor-1
<i>HPRT</i>	Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase
<i>HSL</i>	Hormonsensitive Lipase
<i>IDF</i>	<i>International Diabetes Federation</i>
<i>IGF-1</i>	<i>Insulin-like growth factor-1</i>
<i>IL-1β</i>	Interleukin 1 β
<i>IL-1RA</i>	Interleukin 1 Rezeptor Antagonist
<i>IL-6</i>	Interleukin 6
<i>IL-10</i>	Interleukin 10
<i>INFγ</i>	Interferon- γ
<i>InsRβ</i>	Insulinrezeptor beta
<i>kg/m²</i>	Kilogramm pro Quadratmeter
<i>Klf4</i>	<i>Krüppel-like Factor 4</i>
<i>Lep</i>	Leptin
<i>LPL</i>	Lipoproteinlipase
<i>m</i>	Männlich
<i>MglI</i>	Monoacylglycerinlipase
<i>MHO</i>	<i>Metabolically Healthy Obesity</i>
<i>MLI</i>	<i>Mean linear intercept</i>
<i>Mmp-12</i>	Matrixmetalloproteinase 12; Makrophagen-Metalloelastase
<i>mRNA</i>	Messenger Ribonukleinsäure
<i>MRT</i>	Magnetresonanztomographie
<i>NF-κB</i>	<i>Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells</i>
<i>Ob gene</i>	<i>Obese gene</i>
<i>OB-R</i>	<i>Obese-Receptor</i>
<i>P21/P70/P120</i>	Postnataler Tag 21/70/120

<i>p38</i>	<i>p38 mitogen-activated protein kinases (MAPK)</i> , p38-mitogenaktivierte Proteinkinasen
PCOS	Polycystisches Ovarialsyndrom
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> , Polymerasekettenreaktion
<i>pgWAT</i>	<i>Perigonadal adipose tissue</i> , perigonadales Fettgewebe
<i>Plin1/2</i>	Perilipin1/2
<i>Pparγ</i>	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor gamma
<i>PREF-1</i>	<i>Preadipocyte factor-1</i>
<i>rt-PCR</i>	<i>Realtime-PCR</i> , quantitative Echtzeit-PCR
SASP	Seneszenz-assoziiierter sekretorischer Phänotyp
SD	Standarddiät
<i>Sirt1</i>	Sirtuin 1, <i>NAD-dependent deacetylase sirtuin-1</i>
s.o.	Siehe oben
<i>Srebp1(c)</i>	<i>Sterol regulatory element-binding protein 1(c)</i>
STAT3	<i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>
s.u.	Siehe unten
SVF	Stromal-vaskuläre Fraktion
TAG	Triacylglyceride
TAGL	Triacylglycerin-Lipase
<i>TGF-β</i>	<i>Transforming growth factor beta</i>
<i>TNF-α</i>	Tumornekrosefaktor alpha
u. a.	Unter anderem
<i>UCP-1</i>	<i>Uncoupling protein 1</i> , entkoppelndes Protein 1; Thermogenin
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
Vergr.	Vergrößerung
VLDL	<i>Very-Low-Density-Lipoprotein</i>
w	weiblich
<i>Wnt/β-catenin</i>	Signaltransduktionsweg
WHO	<i>World Health Organization</i> , Weltgesundheitsorganisation
z. B.	Zum Beispiel
μm	Mikrometer

1. Zusammenfassung

Hintergrund und Ziel: Mit der steigenden Adipositasprävalenz ergibt sich, neben der Häufung damit assoziierter Erkrankungen, auch eine relative Zunahme übergewichtiger Frauen im reproduktionsfähigen Alter. Während mütterliche Adipositas ein nachgewiesener Risikofaktor für frühkindliches Übergewicht ist, sind die zugrundeliegenden pathophysiologischen und molekularbiologischen Mechanismen der perinatalen Programmierung des Fettgewebes weitestgehend unbekannt und waren daher primäres Ziel der vorliegenden Arbeit.

Methodik: Um dieses Forschungsziel zu adressieren, wurde das murine Modell der Hochfettdiät- (HFD-) induzierten mütterlichen Adipositas genutzt und das Fettgewebe weiblicher Nachkommen an den postnatalen Tagen 21 (P21; frühe Phase) und P70 (späte Phase) untersucht. Hierzu wurden MRT-Ganzkörperanalysen, histomorphometrische Untersuchungen des perigonadalen Fettgewebes (pgWAT) und der Fettgewebshomöostase anhand von Proteinsynthese- und Genexpressionsmustern durchgeführt. Ergänzend wurden an P120 Langzeitfolgen hinsichtlich des Körperfettanteils mittels MRT analysiert und eine morphometrische Charakterisierung der Adipozyten vorgenommen.

Ergebnisse: In der frühen Phase präsentiert sich eine vorwiegend viszeral adipöse Körperkomposition mit Adipozytenhypertrophie der weiblichen HFD-Gruppe. Diese Veränderungen sind assoziiert mit einer vermehrten *Il6*-mRNA-Expression, einer Aktivierung der inflammatorischen *p38*-Signalkaskade sowie einer verminderten *Ppar γ* -mRNA-Konzentration, indikativ für eine gestörte Adipozytendifferenzierung. Diese molekularen Mechanismen an P21 korrelieren mit einer gesteigerten AMPK α -Aktivität sowie einer erhöhten Adiponektin (Adipoq)-Synthese. Die späte Phase ist gekennzeichnet durch eine Reversibilität der Adipozytenhypertrophie und inflammatorischer Prozesse. Begleitend kann eine Fettzellmodulation anhand veränderter Proliferationsmarker (*Cdkn1b*, *Cdkn2a*, *Sirt1*) und Transkriptionsfaktoren (*Ctnnb1*, *Klf4*) detektiert werden. Außerdem sind zentrale Regulatoren der Lipolyse in der Expression vermindert (*MglI*- und *Fabp4*). Als Langzeitfolge der perinatalen Programmierung zeigt sich eine adipöse Körperstruktur an P120, sodass zusammenfassend mütterliche Adipositas einen persistierenden adipösen Phänotyp induziert. Die Reversibilität einer frühen inflammatorischen Adipozytenhypertrophie weist auf eine geringgradig pathogene Adipositasform in weiblichen Nachkommen nach mütterlicher Adipositas hin.

2. Einleitung

Bildung, Bewegung und ausgewogene Ernährung stellen Grundpfeiler für einen gesunden Lebensstil dar ¹. Nichtsdestotrotz prägt Adipositas unser gegenwärtiges Gesellschaftsbild und hat sich zu einer globalen Herausforderung entwickelt ². Nicht nur Erwachsene, sondern auch Kinder sind zunehmend von der steigenden Adipositasprävalenz betroffen ^{3,4}. Die Fähigkeit zur exzessiven Anlage von Fettgewebe ist evolutionsbiologisch verankert und diente dem Organismus einst als Energiereserve in Hungerphasen. Was im Zeitalter der Jäger und Sammler eine Überlebensstrategie darstellte, präsentiert sich in unserer modernen Gesellschaft als Zivilisationskrankheit, die zunehmend an gesundheitspolitischer Brisanz gewinnt ^{5,6}.

2.1 Physiologie des Fettgewebes

Trotz essenzieller Funktionen des Fettgewebes ⁷ ist eine übermäßige Fettmasse mit zahlreichen Erkrankungen assoziiert ⁸. Zum besseren Verständnis dieses Zusammenhangs sind Grundkenntnisse der Fettgewebsphysiologie erforderlich.

2.1.1 Histologie

Fettgewebe ist ein spezialisiertes Bindegewebe und lässt sich anhand histologischer und funktioneller Merkmale in verschiedene Fettgewebssubtypen einteilen: Weißes Fettgewebe und braunes Fettgewebe ⁷.

Betrachtet man die *Abbildungen 1 und 2* ⁹, lässt sich die zusätzliche Differenzierung in uni- bzw. plurivakuoläres Fett herleiten. Während der Adipozyt des weißen Fettgewebes im histologischen Routinepräparat eine große Vakuole mit randständigem Nukleus und einen durchschnittlichen Durchmesser von 100 µm aufweist (= univakuolär), sind Zellen des braunen Fettgewebes kleiner und enthalten mehrere Fetteinschlüsse, weshalb sie auch als plurivakuoläres Fett bezeichnet werden ⁷. Letzteres ist vor allem bei Säuglingen zu

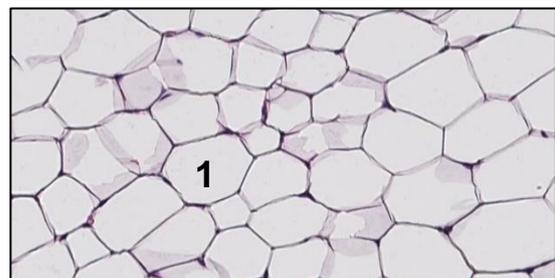


Abb.1 Weißes (univakuoläres) Fettgewebe (1). Perigonadales Fett, Maus; H.E.-Färbung. Vergr. 20-fach. Eigenes Präparat.



Abb.2 Braunes (plurivakuoläres) Fettgewebe (2), Hibernom, Mensch; H.E.-Färbung. Vergr. 200-fach. – Park, J.H. (2015) published under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction.

finden und ist reich an Mitochondrien. Grund dafür ist, dass braunes Fett den Wärmehaushalt mitreguliert. Dabei wird die Thermogenese durch Entkopplung der Atmungskette mithilfe des Transmembranproteins *Uncoupling Protein 1* (UCP1) in den Mitochondrien bewerkstelligt ^{7,10}. Neben regulären Adipozyten lassen sich zahlreiche weitere Zellarten im Fettgewebe nachweisen, die als stromal-vaskuläre Fraktion (SVF) zusammengefasst werden ¹¹. Darunter fallen u. a. Endothelzellen, Fibroblasten und Immunzellen. Ein weiterer Zelltyp stellt der sogenannte Präadipozyt als Vorläufer der Adipozyten dar. Da reife Adipozyten nicht zur Zellteilung fähig sind, wird der Fettzellbestand über Proliferation und Differenzierung von Präadipozyten aufrechterhalten ^{7,12}. Dieser Reifungsprozess, angefangen bei der multipotenten Stammzelle bis hin zum adulten Adipozyten (= Adipogenese, *Abb.3*, ^{13,14}), unterliegt einem komplexen Regelsystem. Dabei gehen braune und weiße Adipozyten am ehesten aus einer gemeinsamen Stammzelle hervor ⁷. Da in der vorliegenden Promotionsarbeit ein besonderer Fokus auf dem weißen Fettgewebe liegt, wird nachfolgend auf physiologische Aspekte des weißen Adipozyten eingegangen.

2.1.2 Regulation und Differenzierung der Adipozyten

2.1.2.1 Adipogenese

Ursprung der Adipogenese ist die mesenchymale Stammzelle, die jeglichen Bindegewebstyp formen kann. Dazu gehören neben Muskelzellen, Knochen- und Knorpelgewebe auch die Adipozyten ¹⁵. Der histologische Nachweis von Adipozyten gelingt ab der 14. bis 16. Schwangerschaftswoche, zuvor ist keine eindeutige Abgrenzung zu anderen Bindegewebszellen möglich. Die Formierung der Läppchenstruktur verläuft kongruent mit der Kapillareinsprossung in die Fettlobuli, sodass von einer engen Verknüpfung zwischen Angiogenese und Adipogenese ausgegangen werden kann ¹⁵. In der Tat befinden sich die Fettzellvorläuferstufen hauptsächlich perivaskulär ¹⁶. Bevor der Adipoblast vollständig ausgereift ist, durchläuft er ein Zwischenstadium und wird dann als „*Präadipozyt*“ bezeichnet ¹⁷. Die Vorläuferzellen machen ca. 15-50 % des Fettgewebes aus und gehören damit zum größten Pool an Progenitorzellen im menschlichen Körper ¹³. Interessanterweise ähnelt das morphologische, funktionelle und sekretorische Profil der Präadipozyten vielmehr dem von Makrophagen als reifen Adipozyten. Sie sezernieren bspw. Tumornekrosefaktor- α (TNF- α , s.u.) sowie Neuropeptide ¹⁸ und haben so, ähnlich den Makrophagen, immun- und entzündungsmodulierende Eigenschaften. Bei bestimmten Stimuli ist sogar die Präadipozytenkonversion zu Makrophagen beschrieben worden ¹⁸. Demnach ist es plausibel, dass dieser Zelltyp für den Adipositas getriggerten chronischen Entzündungsstatus (s.u.) mitverantwortlich ist ¹³. Präadipozyten sind gekennzeichnet durch die Expression des löslichen

Proteins PPAR-1 (*preadipocyte factor-1*), die im weiteren Differenzierungsprozess zurückgeht¹⁵. Dieser Prozess wird reguliert über diverse Adipogene, d.h. Adipogenese fördernder Substanzen, wie z. B. Insulin, *Insulin-like growth factor-1* (IGF-1), Glukokortikoide und Trijodthyronin, sowie ihren Gegenspielern. Zu den *anti*-adipogene Stoffen zählen mitunter TNF- α , das Wachstumshormon (*growth hormone*, GH) und der *Transforming growth factor beta* (TGF- β)¹⁵. Mithilfe der Transkriptionsfaktoren PPAR γ (*peroxisomal proliferator-activated receptor gamma*) und der C/EBP-Familie (*CCAAT/enhancer-binding protein*) wird der Differenzierungsvorgang zum Adipozyten initiiert und mittels positiver Rückkopplungsschleife aufrechterhalten (siehe *Abb.3A*). Einen alternativen Aktivierungsmechanismus stellt der Transkriptionsfaktor ADD1/SREBP1c (*adipocyte determination- and differentiation-dependent factor 1/sterol regulatory element-binding transcription factor 1c*) dar, welcher zur Induktion der PPAR γ -Genexpression führt¹⁹.

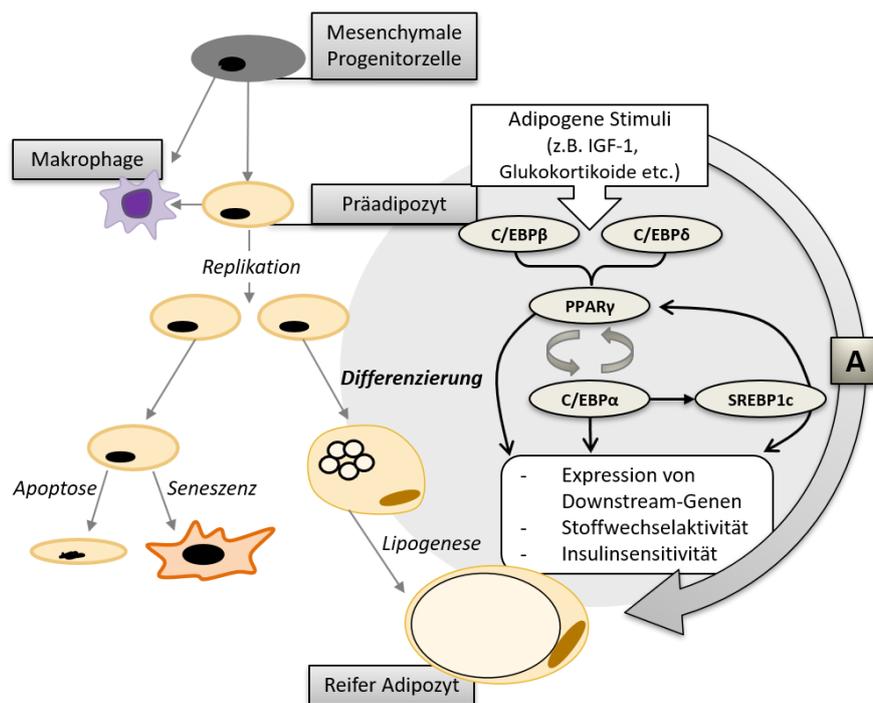


Abb.3 Adipogenese:

Präadipozyten sind mesenchymalen Ursprungs und können sich sowohl zu Adipozyten als auch Makrophagen differenzieren. Über Ausdifferenzierung bzw. Zelltod (Apoptose) oder Zellzyklusarrest (Seneszenz) wird der Zellumsatz der Präadipozyten reguliert.

(Kreis A) Schemadarstellung des **Differenzierungsprozesses** mit den beteiligten zentralen Transkriptionsfaktoren und Auswirkung auf den Adipozyten.

– modifiziert nach Tchkonja, T. (2013)

Adapted/translated from The Lancet, 17, Tamara Tchkonja, Thomas Thomou, Yi Zhu, Iordanes Karagiannides, Charalabos Pothoulakis, Michael D. Jensen, James L. Kirkland, Mechanisms and Metabolic Implications of Regional Differences among Fat Depots, 644-656, Copyright © 2013, with permission from Elsevier.

Die Differenzierungsfähigkeit ist im Alter rückläufig, was vermutlich auf die verminderte Expression der beiden Transkriptionsfaktoren PPAR γ und C/EBP α zurückzuführen ist ^{20,21}. Weitere Studien konnten außerdem eine Überexpression von C/EBP β -LIP (*C/EBP beta-liver-enriched inhibitory protein*) und CHOP (*CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein*) bei Probanden höheren Alters belegen, welche über Heterodimerbildung Transkriptionsprozesse behindern und außerdem infolge von zellulärem Stress, metabolischer Dysfunktion und Entzündung verstärkt exprimiert werden ¹³.

Die terminale Differenzierung vom Präadipozyten zum reifen Adipozyten geht mit einer zunehmenden Lipideinlagerung einher. Daher gilt der Nachweis von einer Lipogenese (s.u.) assoziierten Genaktivität als früher molekularer Marker des reifen Adipozyten. Dazu gehören bspw. die Fettsäuresynthase oder der Glukosetransporter 4 (Glut-4). Im weiteren Verlauf gelingt dann die Detektion lipolytischer Genexpression, wie z. B. über die hormonsensitive Lipase (HSL) ¹⁵.

Diese Eigenschaften befähigen den reifen Adipozyten in den Energiehaushalt einzugreifen und der aktuellen Stoffwechsellage anzugleichen ¹⁵. Eine Anpassung an den Metabolismus lässt sich auch auf zellulärer Ebene anhand morphologischer Aspekte beobachten ⁷.

2.1.2.2 Zelluläre Adaptation

Zellen können auf äußere Reize und Einflüsse mit unterschiedlichen Adaptationsmechanismen reagieren. Bei einem Überangebot von Glukose und Lipiden gibt es zwei mögliche Reaktionsarten des Fettgewebes, die überschüssige Energie zu speichern ¹²:

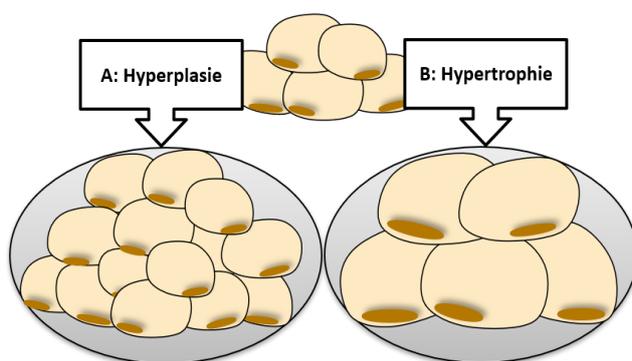


Abb.4 **Fettgewebsgrößenzunahme** durch
(A) Hyperplasie bzw. (B) Hypertrophie

– eigene Darstellung

- A) Erhöhung der Zellzahl bei gleichem Zellvolumen = *Hyperplasie*
- B) Zellvergrößerung bei konstanter Zellzahl = *Hypertrophie* ⁷.

Entgegen der über Jahrzehnte praktizierten Annahme, dass die finale Anzahl der Adipozyten bereits im Kindesalter determiniert ist ²², enthüllten neuere Studien eine bis ins höhere Lebensalter fortwährende quantitative Plastizität des Fettgewebes. Die

adipozytäre Hyperplasie als zellulärer Mechanismus zur Fettgewebsgrößenzunahme scheint insbesondere bei frühkindlicher Adipositasmanifestation zum Tragen zu kommen, bzw. wird bei höhergradiger Adipositas beschrieben^{12,15,23,24}. Beachtenswert ist außerdem, dass das Volumen eines Adipozyten um den Faktor 1000 variieren kann. Vornehmlich geschieht dies über die vermehrte Einlagerung von Triglyceriden (Triacylglyceriden, TAG)⁷ im Sinne einer zellulären Hypertrophie.

Die TAG-Synthese wird im Folgenden anhand adipozytärer *Stoffwechselforgänge* dargestellt.

2.1.3 Stoffwechsel

Hauptenergielieferant zur Grundversorgung des menschlichen Organismus ist Glukose. Im Gegensatz dazu stehen Lipide vielmehr als Energiereserve in Zeiten von Mangelzuständen zur Verfügung und werden deshalb primär in Adipozyten gespeichert²⁵. Dies gelingt über die Akkumulation von Fettsäuren in Form von Triglyceriden.

Die Fettsäuresynthese findet im Zytosol nahezu aller Zellen statt und wird durch das Schrittmacherezym Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC) geschwindigkeitsbestimmt. Eine tragende Rolle in der Fettsäuresynthese übernimmt der Multienzymkomplex, genannt Fettsäuresynthase (FAS). Dieser katalysiert die Bildung von Palmitinsäure, die als erste Fettsäure aus der Biosynthese hervorgeht und nach Modifikation bspw. zum Aufbau der Membranstruktur oder nach Umwandlung in Triglyceride zur Energiespeicherung verwendet werden kann^{25,26}.

2.1.3.1 Lipogenese

Unter dem Begriff Lipogenese versteht man die Synthese von Triglyceriden, die sich aus drei Fettsäuren und Glycerin zusammensetzen²⁵. Ausgangsstoff ist hierbei die aktivierte Fettsäure-Gruppe „Acyl-CoA“. Fettsäuren lassen sich über verschiedene Mechanismen gewinnen. Zuerst sei die *de-novo*-Synthese aus anderen Substraten, wie beispielsweise Aminosäuren und Glukose, in den Adipozyten zu nennen. Gleichzeitig wird infolge der basalen TAG-Spaltung Acyl-CoA generiert, das größtenteils direkt wieder in den Triglyceridaufbau eingeschleust wird (Reveresterungszyklus)¹⁵. Den größten Anteil zur Bereitstellung stellt die Aufnahme von Fettsäuren aus der Blutbahn dar. Diese können entweder aus der Nahrung stammen und werden dann mittels Chylomikronen entlang des Lymphsystems zu Fett und Muskulatur transportiert. Alternativ ist die Leber zur endogenen TAG-Synthese in der Lage und nutzt als Transportform das Lipoprotein VLDL (*Very-low-density-Lipoprotein*). Am Zielorgan befindet sich an der luminalen Kapillarendothelseite die Lipoproteinlipase (LPL).

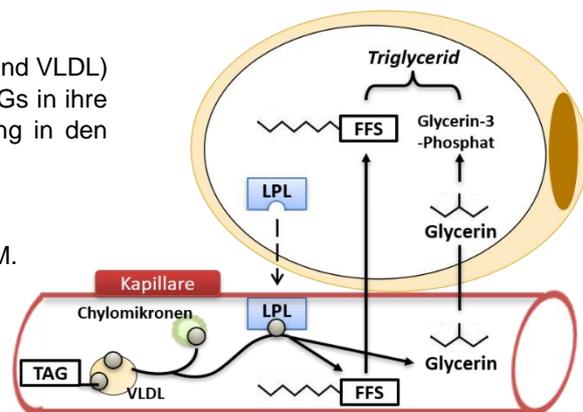
Sie wird von den Adipozyten gebildet und hydrolysiert die in den Chylomikronen und VLDLs verpackten TAGs in ihre Hauptbestandteile, wodurch eine Aufnahme in die Zelle ermöglicht wird^{25,26}. Damit die 4 Bindungspartner (3 Fettsäuren und 1 Glycerin) verknüpft werden können, müssen diese zunächst aktiviert und anschließend über Zwischenprodukte zusammengebaut werden²⁵.

Verantwortlich für diesen Prozess ist Insulin, das einzige Hormon mit fettspeichernder Wirkung. Zunächst aktiviert Insulin die LPL und fördert die Glukoseaufnahme in die Zellen. Dadurch werden sowohl Ausgangsstoffe für die Lipogenese als auch Glukose bereitgestellt, die zur TAG-Biosynthese unabdingbar sind. Außerdem werden Insulin direkte antilipolytische Effekte über eine Verminderung des cAMP-Spiegels zugesprochen, wodurch der Abbau von Triglyceriden im Rahmen der Lipolyse verhindert wird^{25,26}.

Abb.5 Lipogenese:

TAGs werden mittels Lipoproteinen (Chylomikronen und VLDL) zum Adipozyten transportiert. Die LPL spaltet die TAGs in ihre Grundbestandteile, sodass sie zur Weiterverarbeitung in den Adipozyten gelangen. (FFS - freie Fettsäuren)

– Modifiziert nach Fischer-Posovszky, P., Wabitsch, M. Entwicklung und Funktion des Fettgewebes. Monatsschr Kinderheilkd 152, 834–842 (2004). <https://doi.org/10.1007/s00112-004-0992-2>



2.1.3.2 Lipolyse

Als gegenläufiger Prozess zur Lipogenese beschreibt die Lipolyse den enzymatischen Abbau von Triglyceriden zu freien Fettsäuren und Glycerin. Bei Glukosemangel ist insbesondere die Leber auf die Energieversorgung über den Fettstoffwechsel angewiesen. Fettsäuren dienen als Brennstoff, da sie im Rahmen der β -Oxidation Energie generieren. Gleichzeitig kann das freigewordene Glycerin-Molekül in die Glukoneogenese einfließen, sodass der Blutzuckerspiegel angehoben wird^{25,26}. Biochemische Grundlage des TAG-Abbaus ist die enzymatische Spaltung mittels gewebsspezifischer Lipasen. Auch Fettgewebe ist in der Lage, die in den Adipozyten gespeicherten TAGs in ihre Grundbestandteile zu zerlegen²⁵. Bei Energiedefizit wird die sogenannte HSL aktiviert. Sie wird auch Triacylglycerin-Lipase (TAGL) genannt und katalysiert sowohl die Spaltung von Triacylglycerin zu 1,2-Diacylglycerin, als auch die anschließende Reaktion zu 2-Monoacylglycerin. Der letzte Schritt wird über die 2-Monoacylglycerin-Lipase bewerkstelligt, die aus 2-Monoacylglycerin die Endprodukte Glycerin und die zuletzt gebundene Fettsäure entlässt^{25,26}. Schrittmacherezym dieser Reaktionssequenz ist die HSL. Hormone, die den für die Reaktion auslösenden

Energiemangel widerspiegeln, sind z. B. Glukagon und Adrenalin. Über das „second messenger-Prinzip“ kommt es zu einem zellulärem cAMP Anstieg, der die Phosphorylierung und damit Aktivierung der HSL zur Folge hat und die Lipolyse einleitet ²⁵. Entsprechend der aktuellen Stoffwechsellage herrscht bei positiver Energiebilanz die Lipogenese vor, bei Energiedefizit wird die lipolytische Aktivität angekurbelt ²⁵.

In dieser Balance des Energiehaushaltes liegt eine der vielen Aufgaben des weißen Fettgewebes.

2.1.4 Funktion des Fettgewebes

Entsprechend der histologischen Differenzierung in braunes und weißes Fettgewebe übernehmen diese Subtypen unterschiedliche Aufgaben im menschlichen Körper. Wie zuvor erläutert, ist das braune Fettgewebe für den Wärmehaushalt zuständig. Im Gegensatz dazu kommt den weißen Adipozyten die zentrale Rolle als Energiespeicher zu. Hauptaufgabe ist die Umwandlung von mit der Nahrung aufgenommenen freien Fettsäuren in weniger reaktive Triglyceride (s.o.), die in Lipidtropfen abgespeichert werden ^{7,15}. Dies dient einerseits dem Schutz vor Lipotoxizität ²⁷, andererseits kann so bei Bedarf Energie bereitgestellt werden. Weiterhin eignet sich weißes Fettgewebe als Baufett im Sinne einer Polster- und Stützfunktion, wie es bspw. in der Orbita vorzufinden ist.

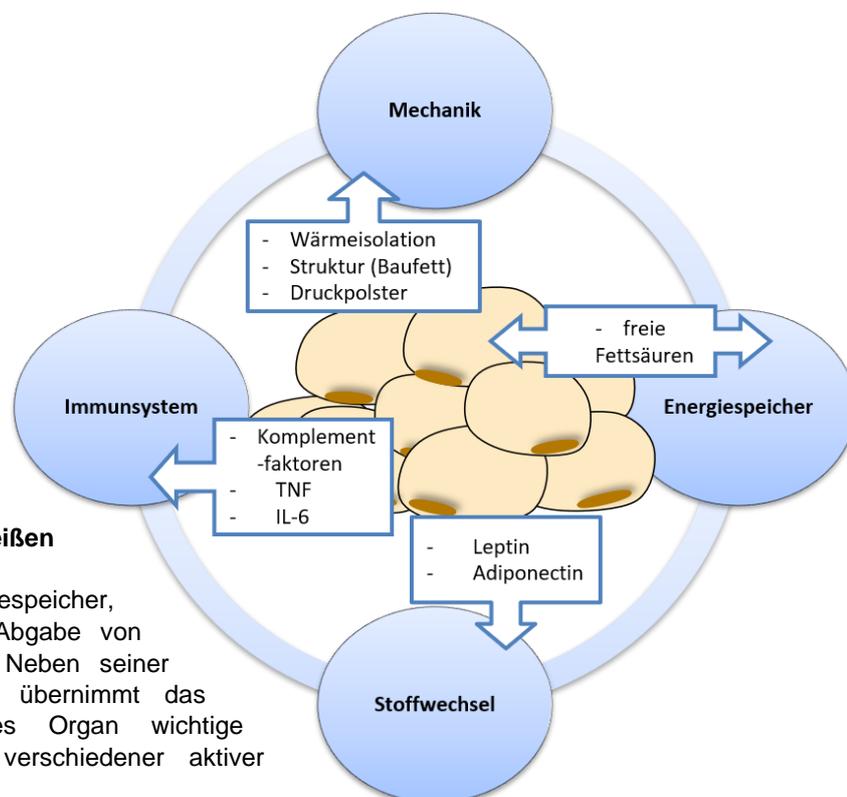


Abb.6 Funktionen des weißen Fettgewebes:

Hauptaufgabe ist der Energiespeicher, der über Aufnahme bzw. Abgabe von Fettsäuren balanciert wird. Neben seiner mechanischen Komponente übernimmt das Fettgewebe als endokrines Organ wichtige Aufgaben über Sekretion verschiedener aktiver Stoffe.

– eigene Darstellung

Zusätzlich enthüllten Studien der letzten Jahrzehnte, dass Fettgewebe endokrine Eigenschaften besitzt. Mithilfe spezifischer Botenstoffe, die vom Fettgewebe sezerniert und Adipozytokine genannt werden, können metabolische und immunologische Prozesse moduliert werden ^{5,28}.

2.1.4.1 Adipozytokine

Zytokine sind definitionsgemäß Proteine, die ihre Wirkung größtenteils parakrin oder autokrin entfalten, indem sie in die Regulation von Wachstums-, Differenzierungs- und Zellfunktionsmechanismen eingreifen ²⁶. Einige Zytokine haben systemischen Einfluss, beispielsweise durch immunmodulatorische und inflammatorische Eigenschaften. Adipozytokine sind entsprechend diejenigen Zytokine, die „vom Fett“ ²⁹ gebildet werden. Nicht alle Adipozytokine sind fettgewebsspezifisch und werden auch von anderen Zelltypen sezerniert. Da mittlerweile zahlreiche Sekretionsprodukte des Fettgewebes bekannt sind, seien hier als wichtige Vertreter Leptin, Adiponektin, TNF- α und IL-6 aufgeführt.

(1) Leptin

Das Peptidhormon Leptin wurde 1994 entdeckt und wird hauptsächlich in Adipozyten gebildet ^{30,31}. Es wird vom *Ob-Gen* (engl. *obese gene*; *obese* = adipös) kodiert ³¹ und galt einst als Hoffnungsträger in der Adipositas therapie, als seine appetitzügelnde Wirkung entdeckt wurde ³². Hohe Serumleptinspiegel bei erhöhter Fettmasse deuteten jedoch daraufhin, dass sich in der adiponeuronalen Signalverarbeitung vielmehr eine Leptinresistenz und kein Mangel einstellt und somit eine Substitutionstherapie erfolglos blieb ²⁶. Neben der gewichtsregulatorischen Aufgabe übernimmt Leptin weitere Funktionen über Bindung an seinen OB-Rezeptor. Es bewirkt die Aktivierung von *p38*- und *STAT3*-Signalwegen, die ihrerseits die Ausschüttung entzündungsfördernder Mediatoren auslösen (TNF- α und IL-6) ³³. Interessanterweise konnten erhöhte Leptinspiegel im akuten Entzündungszustand anhand verschiedener Tiermodelle festgestellt werden. Dabei scheint Leptin nicht nur Induktor inflammatorischer Zytokine zu sein. Akute-Phase-Reaktionen können ebenso die Leptin-Expression komplementär steigern ³⁴. Leptin-defiziente Mäuse weisen einen adipösen Phänotyp auf und zeigen ein gehäuftes Auftreten diverser immunologisch assoziierter Erkrankungen, wie z. B. Asthma ¹¹.

(2) Adiponektin

Während erhöhte Serumleptinspiegel charakteristisch für Adipositas sind, zeigt Adiponektin hingegen eine negative Korrelation bezüglich der Fettmasse.

Niedrige Adiponektinkonzentrationen werden insbesondere bei viszeraler Fettleibigkeit gemessen ³⁵. Umgekehrt kann eine Adiponektininduktion durch gewichtsreduzierende

Maßnahmen beobachtet werden ³⁶. Adiponektin scheint folglich eine zentrale Rolle in Stoffwechselprozessen einzunehmen. Seine Wirkung entfaltet Adiponektin über die Rezeptoren ADIPOR1 und ADIPOR2 ³⁷, wodurch verschiedene Signalkaskaden in Gang gesetzt werden. Einerseits initiiert die Rezeptorbindung eine Aktivierung der AMP-abhängigen Proteinkinase (Adenosinmonophosphat-abhängigen Proteinkinase, AMPK) ³⁸. AMPK gilt als „Energiesensor“ und reguliert Stoffwechselwege in Abhängigkeit von der aktuellen Energiereserve. Gemessen wird dies anhand der ATP (Adenosintriphosphat)- bzw. AMP-Menge. Im aktivierten Zustand wirkt AMPK einem Energiemangel entgegen, indem es den ATP-Verbrauch durch Hemmung anaboler Stoffwechselwege limitiert ³⁹. Dazu gehört die Phosphorylierung und damit Inaktivierung der ACC, das Schrittmacherezym der Fettsäuresynthese (s.o.) ^{26,39}. Ein weiterer wichtiger Effekt des Adiponektin-ADIPOR-Komplexes stellt die Aktivierung des PPAR dar ³⁷. Dieser intrazelluläre Rezeptor vermittelt als Transkriptionsfaktor zahlreiche Interaktionen im Glukose- und Lipidstoffwechsel. Er lässt sich in verschiedene Subtypen klassifizieren und bietet damit ein breites Spektrum an pharmakologischen Angriffspunkten. Fibrate bspw. aktivieren die *PPAR-α* Isoform und werden als Lipidsenker eingesetzt. Glitazone binden an den *PPAR-γ* Rezeptor und haben sich als potente Insulinsensitizer in der Diabetesbehandlung etabliert ⁴⁰. Verschiedene Studien weisen auf eine enge Verknüpfung zwischen Adiponektin und der Insulin-Signaltransduktion hin. Adiponektin-defiziente Mäuse zeigen beispielweise eine erhöhte Anfälligkeit für diätetisch-induzierte Insulinresistenz ⁴¹.

Die metabolische Funktion bzw. deren Dysfunktion steht in engem Zusammenhang mit den immunmodulatorischen Eigenschaften von Adiponektin. Den anti-inflammatorischen Charakter erhält das Adipozytokin einerseits durch verminderte Synthese von TNF- α und Interferon- γ (INF γ), andererseits über die Induktion von entzündungshemmenden Mediatoren wie IL-10 und Interleukin 1 Rezeptor Antagonist (IL-1RA) ⁴². Des Weiteren inhibiert Adiponektin den NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells*)-Signalweg und nimmt somit indirekten Einfluss auf die Immunantwort und Zellorganisation ⁴³. Außerdem hemmt Adiponektin essenzielle Schritte in der Pathogenese von Atherosklerose, sodass ihm anti-atherogene Eigenschaften zugesprochen werden ^{44,45}.

Obwohl Adiponektin hauptsächlich von Adipozyten gebildet wird, geht eine übermäßige Fettmasse paradoxerweise mit niedrigen Adiponektinspiegeln einher und wirft die Frage auf, welche Faktoren dafür verantwortlich sind. Einfluss auf die Adiponektin-Serumspiegel nehmen externe Stimuli, bspw. Diät und körperliche Aktivität, sowie unbeeinflussbare Faktoren wie Geschlecht und Alter ⁴⁶. Zusätzlich können verschiedene pro-inflammatorische Mediatoren die Adiponektinsynthese hemmen und bieten dadurch einen möglichen Erklärungsansatz für niedrige Adiponektinspiegel bei Adipositas und seinen Folgeerkrankungen. Zu diesen zählt TNF- α mit seiner inhibitorischen Wirkung auf die Adiponektinsekretion in Adipozyten ⁴⁷.

(3) TNF- α und IL-6

Erhöhte TNF- α -Werte wurden in zahlreichen Studien mit Adipositas und Insulinresistenz in Verbindung gebracht ^{48,49}. Hauptproduzent für die gemessene TNF- α -Fettgewebkonzentration scheinen jedoch nicht Adipozyten, sondern ortsansässige Makrophagen zu sein ⁵⁰. TNF- α stimuliert die Produktion von IL-6, dessen Anstieg in Adipositasmodellen entsprechend festgestellt wurde. Dabei generiert weißes Fettgewebe ca. ein Drittel der zirkulierenden IL-6-Serum-Konzentration ¹¹. Sowohl Makrophagen als auch Adipozyten sind an der Produktion des Zytokins beteiligt ¹¹, die einer Fettdepot-abhängigen Dynamik unterliegt. Viszerales Fettgewebe hat das Potenzial einer deutlich höheren IL-6-Freisetzung im Vergleich zum subkutanen Fettdepot ⁵¹ und könnte somit auf einen möglichen Zusammenhang zwischen steigendem kardiovaskulärem Risikoprofil und assoziierter viszeraler Fettleibigkeit hindeuten.

Die ausgeschütteten Mediatoren scheinen letztlich ein komplexes Zusammenspiel von Stoffwechselprozessen und dem Immunsystem zu bewirken ⁴⁰, woraus sich einerseits die vielseitigen Funktionen des Fettgewebes über den Energiespeicher hinaus ergeben. Andererseits scheint bei übermäßiger Fettmasse das physiologisch balancierte System aus dem Gleichgewicht zu geraten. Es zeigen sich Hinweise, dass diese Imbalance in männlichen und weiblichen Individuen unterschiedlich ausgeprägt ist ^{52,53}.

2.2 Geschlechtsspezifischer Studienansatz – Rolle von Östrogen

Seit einiger Zeit folgen Behandlungskonzepte dem Prinzip einer evidenzbasierten Medizin. In Leitlinien werden wissenschaftliche Kenntnisse anhand ihres Evidenzgrades eingestuft und bieten so Entscheidungshilfen für Diagnostik und Therapie spezifischer Erkrankungen ^{54,55}. Zeitgleich rückt die Bedeutung der personalisierten Medizin in den Vordergrund, bei welcher Therapieregime gemäß individueller Charakteristika etabliert werden ⁵⁶. So ergeben sich auch unterschiedliche Behandlungsansätze in Bezug auf das Geschlecht ^{57,58}. Nichtsdestotrotz sind weibliche Probanden bzw. Versuchstiere in klinischen und experimentellen Studien nach wie vor unterrepräsentiert ^{59,60}. Vordergründig hierfür ist die zyklusabhängige Ausschüttung von Östrogen, die eine Störgröße generiert und variable Messergebnisse hervorrufen kann ⁶¹. Dabei bietet Östrogen insbesondere hinsichtlich der Adipositasforschung einen interessanten Ansatz, da Adipozyten das Enzym Aromatase besitzen und dadurch die Umwandlung aus Androgenvorstufen zu Östrogen katalysieren ⁶². Dies spielt bspw. eine tragende Rolle in der Entwicklung von Typ-1 Endometrium-Karzinomen. Dieser östrogenabhängige Subtyp entwickelt sich vorwiegend durch den Einfluss langanhaltend hoher Östrogenspiegel und kann somit Folge der erhöhten Östrogenproduktion bei übermäßiger Fettmasse sein ⁶³. Allerdings können Östrogen auch protektive Eigenschaften zugesprochen werden. Insgesamt deutet die

aktuelle Studienlage daraufhin, dass Populationen weiblichen Geschlechts weniger metabolische Störungen nach diätetisch induzierter Adipositas aufweisen als männliche Studienobjekte ^{52,53}. Anhand der Ergebnisse von Jones et. al. lässt sich belegen, dass bei fehlender Aromatase-Aktivität sowohl männliche als auch weibliche Knock-out-Mäuse eine erhöhte Fettleibigkeit aufweisen ⁶⁴. Eine vermehrte Fettgewebsakkumulation lässt sich auch durch Ausschaltung des Östrogen-Rezeptors alpha hervorrufen ⁶⁵, anhand dessen sich ebenfalls eine enge Verknüpfung zwischen Sexualhormonen und Lipidmetabolismus erschließt. Weiterhin besitzt Östrogen einen modulierenden Effekt auf die Fettgewebsplastizität. Primär sei hier die Einteilung in den androiden und gynoiden Fettverteilungstyp genannt. Der gynoid Typ äußert sich in einem hüftbetonten, gluteofemorale Verteilungsmuster. Die häufiger bei Männern anzutreffende Stammfettsucht ist vorwiegend abdominal lokalisiert und von einem erhöhten Gesundheitsrisiko begleitet (s.u.) ⁸. Ergänzend hierzu zeigen postmenopausale Frauen eine Zunahme des Adipozytendurchmessers mit gesteigerter lipolytischer Aktivität ⁶⁶ und eine Fettgewebsumverteilung zugunsten des abdominalen Fettdepots ⁶⁷. Folgen sind erhöhte Spiegel freier Fettsäuren und die mit Zunahme des viszeralen Fettgewebes assoziierte systemische Inflammation, welche für die Adipositas-induzierten Folgeerscheinungen (s.u.) mitverantwortlich gemacht werden ⁶⁸. Die exakten Mechanismen, die diesen Zusammenhang erklären, sind nach wie vor ungeklärt. Fakt ist, dass sowohl Frauen als auch Männer von der steigenden Adipositasprävalenz und den assoziierten Folgeschäden betroffen sind und sich Adipositas damit insbesondere in den westlichen Industrienationen zu einem zentralen Gesundheitsproblem entwickelt hat ⁶⁹.

2.3 Adipositas – eine Wohlstandskrankheit

Grund für die zunehmende gesundheitspolitische Bedeutung von Adipositas ist, dass sie neben Rauchen und Alkoholabusus zu den wichtigsten Ursachen vermeidbarer Erkrankungen gehört ⁸. Fettleibigkeit bedingt Störungen des Stoffwechsels, welche unter dem Begriff *metabolisches Syndrom* zusammengefasst werden. Laut IDF (engl. *International Diabetes Federation*) ist dies charakterisiert durch das Vorhandensein zentraler Adipositas, welche durch Surrogatparameter, wie z. B. den Taillenumfang (m: ≥ 94 cm, w: ≥ 80 cm) oder den Körpermasseindex (engl. *Body mass index*, BMI; ≥ 30 kg/m²) gemessen werden. Zusätzlich müssen zwei der folgenden Faktoren zutreffen: Erhöhte Triglyceride, vermindertes HDL-Cholesterin, Bluthochdruck oder ein abnormer Nüchternblutglukosewert bzw. Typ-2-Diabetes ⁷⁰. Zu den Folgeerkrankungen, die durch die metabolische Fehlregulation und einer damit einhergehenden *chronischen subakuten Inflammation* (s.u.) verursacht sind, gehören neben Glukosestoffwechselstörungen, kardiovaskulären Erkrankungen und Tumorleiden auch eine

nichtalkoholische Fettlebererkrankung sowie hormonelle Störungen wie z. B. das polyzystische Ovarialsyndrom (PCOS). Außerdem wird das Auftreten psychischer Erkrankungen begünstigt ⁸.

Adipositas-assoziierte Folgeschäden

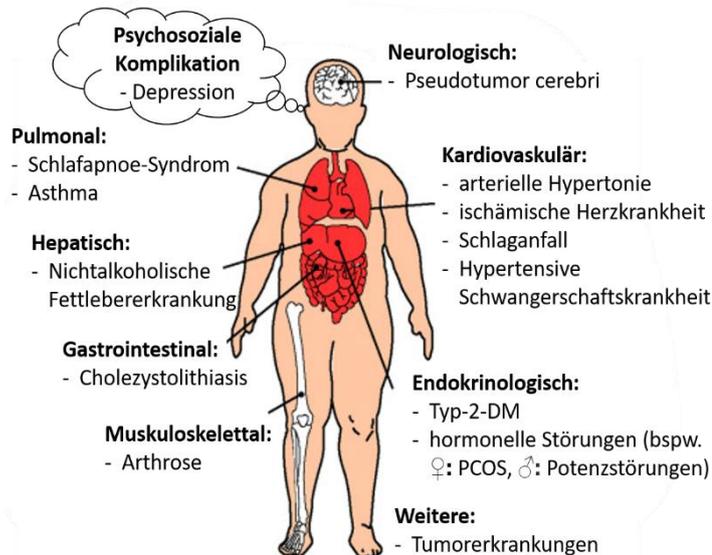


Abb.7: beispielhafte Darstellung **Adipositas-assoziiertes Begleit- und Folgeerkrankungen** mit Auswirkung auf multiple Organsysteme.

– modifiziert nach Ebbeling (2002)

Adapted/translated from The Lancet, Vol. number 360, Cara B Ebbeling, Dorota B Pawlak, David S Ludwig, Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure, 473-482, Copyright 2002, with permission from Elsevier.

Insgesamt haben Studien eine Vielzahl assoziierter Begleit- und Folgeerkrankungen identifiziert mit Auswirkung auf nahezu jedes Organsystem (siehe Abb.7, ⁷¹). Gleichzeitig gilt es zu beachten, dass ebenjene Gesundheitsdefizite meist multifaktorieller Genese sind und die isolierte Kausalitätszuweisung häufig nicht möglich ist ⁴. Demzufolge wird nach wie vor kontrovers diskutiert, ob Adipositas als bloßer Risikofaktor oder eigenständiges Krankheitsbild gelten soll ⁷².

Grundsätzlich begegnen wir dieser Entität auf zwei Ebenen: Das *individuelle* Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko ist deutlich erhöht. So sind in der europäischen Region über 1 Millionen Todesfälle und mehr als 12 Millionen krank verbrachte Lebensjahre infolge schweren Übergewichts zu verzeichnen ⁷³. Gleichzeitig stellen immense Behandlungskosten für Adipositas-assoziierte Krankheitserscheinungen mit bis zu 6% der nationalen Gesundheitsausgaben ein *gesamtgemeinschaftliches* Problem dar ⁷³.

2.3.1 Definition Adipositas/ Body mass index (BMI)

„Adipositas“ leitet sich vom lateinischen Wort *>adeps<* ab, was sich mit „Fett“ übersetzen lässt²⁹. Die Deutsche Adipositas Gesellschaft definiert den Begriff als „eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts“⁷⁴.

Dies entspricht bei Frauen einem Anstieg des Körperfettanteils über 30 % des Körpergewichts. Bei Männern hingegen wird bereits ab einer Fettanteilszunahme von 20 % das Normalgewicht verlassen⁸.

Gewichtsklassifikation	
Klassifikation	BMI-Grenzwerte (kg/m ²)
Untergewicht	< 18,5
Starkes Untergewicht	< 16
Mäßiges Untergewicht	16 – 16,99
Leichtes Untergewicht	17 – 18,49
Normalgewicht	18,5 – 24,9
Übergewicht	≥ 25 – 29,9
Adipositas (Fettleibigkeit)	≥ 30
Adipositas Grad I	30 – 34,9
Adipositas Grad II	35 – 39,9
Adipositas Grad III	≥ 40

Tabelle 1: Klassifikationssystem zur Einteilung der Gewichtsgruppen in Unter-, Normal- und Übergewicht bzw. Adipositas anhand definierter BMI-Intervalle [kg/m²].

– mit freundlicher Genehmigung durch die Stiftung Gesundheitswissen (2018)
<https://www.stiftung-gesundheitswissen.de/wissen/adipositas/diagnostik>

Ein Messinstrument zur indirekten Bestimmung des Körperfetts ist der BMI, der sich mittels Quotienten aus Körpergewicht in Kilogramm und Körpergröße in Metern zum Quadrat berechnen lässt [kg/m²]⁷⁵.

Auch wenn bspw. eine hohe Muskelmasse zur Fehlinterpretation der Körperzusammensetzung führen kann, ist der *BMI* ein einfaches und ubiquitäres Hilfsmittel im klinischen Alltag, anhand dessen sich die Gewichtsklassifikation orientiert. Sie wird über definierte BMI-Intervalle vorgenommen und legt Übergewicht bzw. Präadipositas ab einem Wert von 25,0 kg/m² fest. Wie sich Tabelle 1⁷⁶ entnehmen lässt, werden drei Adipositas-Grade unterschieden.

Die Einteilung in Subtypen ist deshalb sinnvoll, da mit steigendem BMI das Risiko für Begleiterkrankungen zunimmt⁷⁷ und entsprechende therapeutische Konsequenzen resultieren⁸. Interessanterweise herrschen unterschiedliche Interpretationsansätze bezüglich

BMI abhängig von Herkunftsland und ethnischer Zugehörigkeit ⁷⁸. Z. B. liegt der Körperfettanteil der asiatischen Bevölkerung bei gleichem Alter, Geschlecht und BMI über dem der europäischen ⁷⁹. Bei Kindern sollte eine Perzentilen-adaptierte altersbezogene Beurteilung erfolgen, um wachstumsphysiologische Veränderungen von Fett-, Muskel- und Knochenmasse einzubeziehen ⁸⁰.

Perzentilenkurven verstehen sich als Prozentwertkurven und dienen der Verlaufskontrolle kindlicher Entwicklungsmerkmale, die mittels Messgröße im Verhältnis zum Normkollektiv in ihrer Variabilität abgebildet werden. Über Dokumentation der Messgrößen kann der Prozentrang ermittelt werden, welchen das Kind in Bezug zu seinen Altersgenossen einnimmt. Als obligater Bestandteil der kindlichen Vorsorgeuntersuchungen ermöglicht dies eine Langezeitbeurteilung von Wachstumsparametern wie Kopfumfang, Körperlänge und -gewicht ^{81,82}, wie in *Abbildung 8* skizziert ⁸³.

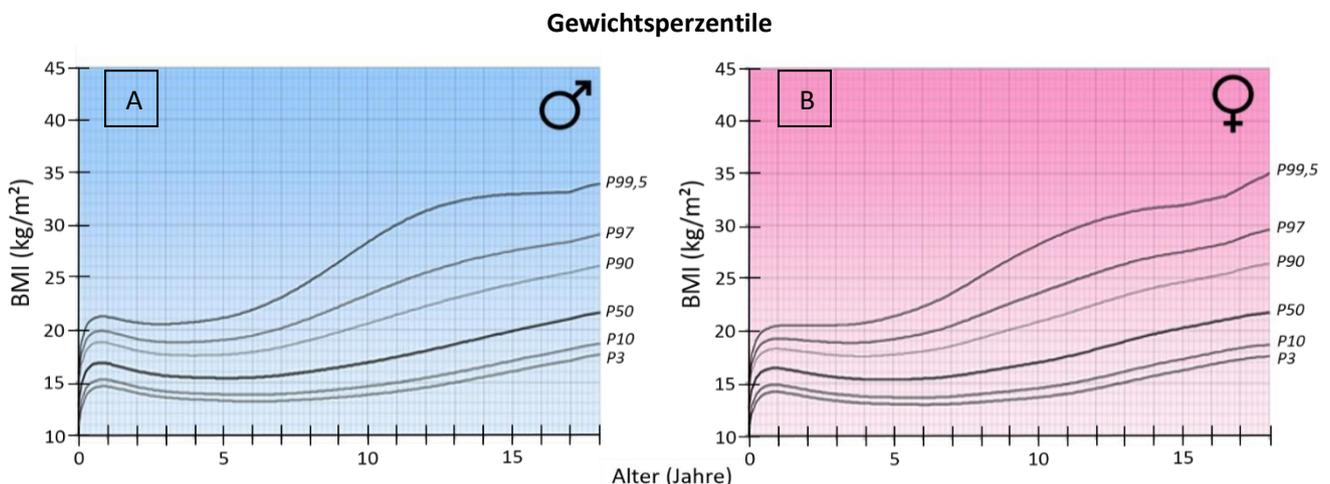


Abb.8: Gewichtskurven

(A) Gewichtszperzentile (P3-P99,5) für Jungen im Alter von 0-18 Jahren respektive Mädchen (B).

Kromeyer-Hauschild, K., Wabitsch, M., Kunze, D. et al. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschr Kinderheilkd* 149, 807–818 (2001). <https://doi.org/10.1007/s001120170107>. © Springer-Verlag 2001; Abdruck mit freundlicher Genehmigung.

Die Einteilung in Unter-, Normal- und Übergewicht wurde im Rahmen der Arbeitsgemeinschaft „Adipositas im Kindes- und Jugendalter“ (AGA) anhand der Perzentilen-Richtwerte für deutsche Jungen und Mädchen im Alter von 0-18 Jahren festgelegt. Als Cut-off-Grenze werden die 90. und 97. Perzentile für Übergewicht respektive Adipositas definiert ⁸⁰.

Gesundheitspolitisch erweist sich die BMI-(Perzentilen-)Klassifizierung nicht nur zur Evaluierung von Diagnose- und Therapiemaßnahmen, sondern ermöglicht gleichzeitig die systematische Erhebung epidemiologischer Daten.

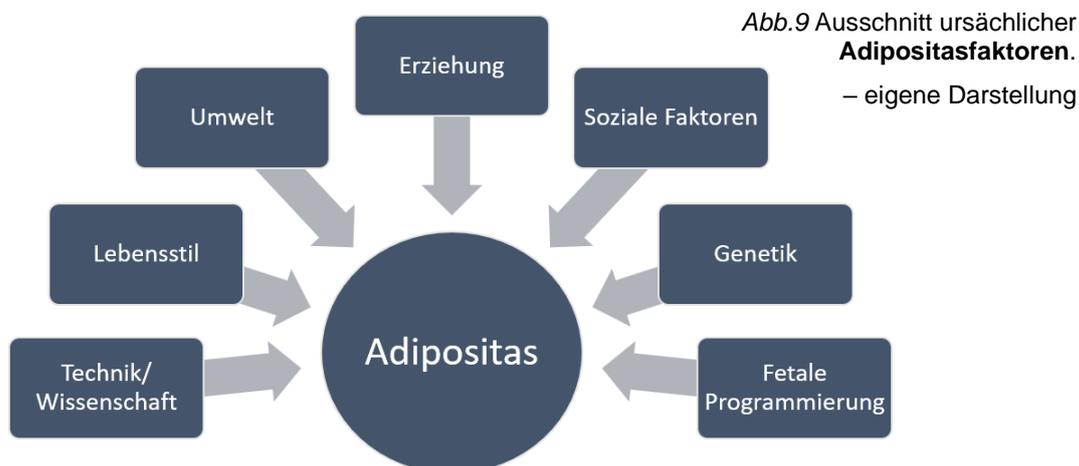
2.3.2 Prävalenz und Inzidenz

Hinsichtlich der Prävalenz und Inzidenz von Übergewicht und Adipositas zeigen die statistischen Analysen alarmierende Zahlen. Laut der Weltgesundheitsorganisation (engl. *World Health Organization, WHO*) sind über 50 % der europäischen Population übergewichtig, mehr als 20 % ist sogar adipös ⁸⁴. Die viel größere Herausforderung stellt jedoch die tendenziell steigende Inzidenz dar. Seit 1975 hat sich weltweit die Anzahl adipöser Menschen nahezu verdreifacht ⁸⁵ und sich als globales Gesundheitsproblem entpuppt. Diese epidemiologische Entwicklung ist nicht nur bei Erwachsenen zu verzeichnen, sondern kann bereits im Kindesalter beobachtet werden. Zwar berichtet eine vom Robert-Koch-Institut erhobene Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS Welle 2; 2014-2017) eine Stagnierung der seit Mitte der 1970er Jahre konstatierten steigenden Adipositasprävalenz im Kindes- und Jugendalter; allerdings bewegt sich die Gesamtzahl adipöser Kinder weiterhin auf hohem Niveau und bedarf konsequenter Überwachung ⁸⁶. Grund dafür ist, dass über 60 % übergewichtiger Kinder auch im Erwachsenenalter erhöhte BMI-Werte aufweisen ⁸⁴. Neben den zuvor erwähnten langfristigen Gesundheitsauswirkungen können ein erhöhtes Mobbing-Risiko ⁸⁷, eingeschränktes Selbstbewusstsein und verminderte Schulleistungen als erste Folgeerscheinungen auftreten ⁸⁴. Insgesamt verhalten sich BMI und Lebensqualität umgekehrt proportional ⁸⁸.

2.3.3 Ätiologie (kindlicher) Adipositas

Die Ursachen kindlichen Übergewichts sind vielseitig (siehe *Abb.9*).

Besonders hervorzuheben seien die in der Modernisierung verankerten Lebensstiländerungen, die in jeder Altersgruppe zur steigenden Prävalenz beigetragen haben ^{89,90}.



Evolutionsbiologisch stellt die schnelle und effiziente Speicherung von Fettgewebe einen effektiven Mechanismus dar, in Hungerphasen auf Energiereserven zurückzugreifen⁶. Mit dem Überangebot an Nahrung insbesondere in den Industrienationen verliert der Organismus diese ursprüngliche Schutzfunktion, da Energiezufuhr den Energieverbrauch übersteigt und das Fettreservoir nicht abgebaut wird. Technisch-wirtschaftliche Errungenschaften mögen Arbeitsprozesse mithilfe maschinellen Einsatzes erleichtern, verhindern jedoch ein gesundes Bewegungsmaß und verschärfen diese Fehlregulation. Somit fördern technologischer Fortschritt, Erleichterung der Nahrungsbeschaffung und veränderte Essgewohnheiten die Entwicklung einer „adipogenen“ Umwelt⁹¹. Als weitere wichtige Determinanten lassen sich neben Lebensstiländerungen Umweltfaktoren, Erziehung und der sozioökonomische Status nennen^{92,93}. Es finden sich in Deutschland sowohl regionale Prävalenzunterschiede mit Nord-Süd-Gefälle bei Einschulkindern⁹³ als auch eine altersabhängige Auftretenswahrscheinlichkeit. Erhöhte BMI-Werte werden insbesondere nach Schuleintritt dokumentiert und steigen mit fortschreitendem Alter an⁹⁴. Kinder aus niedrigen sozioökonomischen Schichten weisen ein deutlich erhöhtes Risiko für Übergewicht auf. Die Adipositasprävalenz ist in dieser Statusgruppe nahezu um den Faktor 4 erhöht verglichen mit Kindern und Jugendlichen mit hohem sozioökonomischem Hintergrund⁸⁶. Genetische Aspekte werden für ca. 5 % der primären Adipositas verantwortlich gemacht⁸. Zunehmend an Bedeutung gewinnen weitere generationsübergreifende Faktoren. In diesem Kontext ist insbesondere das Konzept der *fetalen bzw. perinatalen Programmierung* hervorzuheben, bei der man davon ausgeht, dass adverse Einflüsse in der Embryonal- und Fetalentwicklung sowie postnatal in der Stillzeit langfristig die Physiologie und Struktur von Organen bestimmen (siehe Infokasten Definition Fetale Programmierung⁹⁵).

2.4 Fetale Programmierung

Die Entwicklung von der befruchteten Eizelle zum ausgereiften Lebewesen ist ein höchstkomplexer Prozess, der einer ständigen Dynamik unterliegt und über Nährstoffe, Sauerstoff und endokrinologische Signale modifiziert wird^{95,96}. Retrospektive Studien zum holländischen Hungerwinter im Jahr 1944 ermöglichten eine Analyse dieser Adaptationsvorgänge bei restriktiver Kalorienzufuhr während definitiver Zeitpunkte im Schwangerschaftsverlauf. Dabei konnten kritische Zeitfenster der Organogenese

Definition: Fetale Programmierung

Fetale Programmierung beschreibt den Prozess molekularer und epigenetischer Adaptationsvorgänge, die infolge pränataler (Umwelt-) Reize während kritischer Entwicklungsphasen langfristig die Physiologie von Organsystemen festlegen. „Fehlprogrammierung“ ($\hat{=}$ Diskrepanz zwischen antizipierter und tatsächlicher Umwelt) dieser Regelsysteme führt zu einer erhöhten Krankheitssuszeptibilität.

– angelehnt an Reichetzedler (2018)

identifiziert werden, die in Folge des abnormen Intrauterinmilieus Physiologie, Struktur und Funktion des jeweiligen Organs nachteilig beeinflusst haben⁹⁷. Diese Beobachtung bekräftigt die von Barker postulierte These der „*fetal origins hypothesis*“⁹⁸. Seine Arbeiten erschlossen einen Zusammenhang zwischen erhöhter Krankheitssuszeptibilität in der Adoleszenz nach Exposition einer inadäquaten Fetalversorgung^{99,100} und ergänzten das Konzept einer umweltabhängigen Konditionierung während der Kindesentwicklung¹⁰¹.

Den Grundstein hierfür legte der Endokrinologe Günter Dörner, der in den 1970ern das Postulat der „Funktionellen Teratologie“ aufstellte und den Begriff der „perinatalen Programmierung“ einführte^{102,103}. Damit kennzeichnete er die *Fehlorganisation* kybernetischer Regelsysteme, die als Folge alterierter Hormonkonzentrationen während kritischer Entwicklungsphasen auftreten und langfristige Gesundheitsfolgen haben kann. Anhand dieser Beobachtung hat Dörner nicht nur ein neues entwicklungsmedizinisches Forschungsfeld eröffnet, sondern leitete bereits seinerzeit präventive Maßnahmen ab¹⁰³.

2.4.1 Metabolische Programmierung

Mit der steigenden Adipositasprävalenz nimmt folglich auch die Anzahl übergewichtiger Mütter zu. In Industrienationen weisen bereits etwa ein Drittel der Frauen im reproduktionsfähigen Alter erhöhte BMI-Werte auf^{103,104}. Mit Übergewicht assoziierte Schwangerschaftskomplikationen sind u. a. Gestationsdiabetes, Präeklampsie oder operative Geburtsmodi (z. B. Kaiserschnitt)¹⁰⁵. Jedoch wirkt sich ein abnormer mütterlicher Metabolismus auch unmittelbar auf den Feten aus, was sich perinatal bspw. anhand einer fetalen Makrosomie manifestiert¹⁰⁵.

Basierend auf dem Konzept der umweltabhängigen Konditionierung können metabolische Einflüsse wie z. B. die intrauterine Mangelversorgung des Feten, ein Nahrungsüberschuss oder eine abnorme mütterliche Stoffwechsellage (z. B. Gestationsdiabetes, Adipositas) vor, während und nach der Schwangerschaft jedoch auch *langfristig* den Gesundheitsstatus der Nachkommen prägen. Man spricht hierbei von einer metabolischen Programmierung^{106,107}.

Studien identifizierten mütterliche Fettleibigkeit als Risikofaktor für das Auftreten von Adipositas, Hypertonie und Insulinresistenz in der Adoleszenz der Kinder: Eine mögliche Basis für die Entstehung des metabolischen Syndroms¹⁰⁸. Auch in tierexperimentellen Studien konnten mittels hochkalorischer Diät während Paarung und Tragezeit metabolische Störungen bei murinen Nachkommen induziert werden¹⁰⁹. Im Gegensatz hierzu erwiesen sich diätetische Maßnahmen während der Schwangerschaft als protektiv auf den Glukosestoffwechsel und metabolische Funktionen beim Nachwuchs adipöser Muttertiere^{110,111}.

Dabei zeigt die zeitliche Exposition metabolischer Einflüsse variable Effekte der perinatalen Programmierung. Grundlage hierfür ist die insbesondere in der frühen Schwangerschaft ausgeprägte Plastizität des Organismus, die zu einer unterschiedlichen phänotypischen Ausprägung führen kann (siehe *Abb. 10*, ⁹⁵).

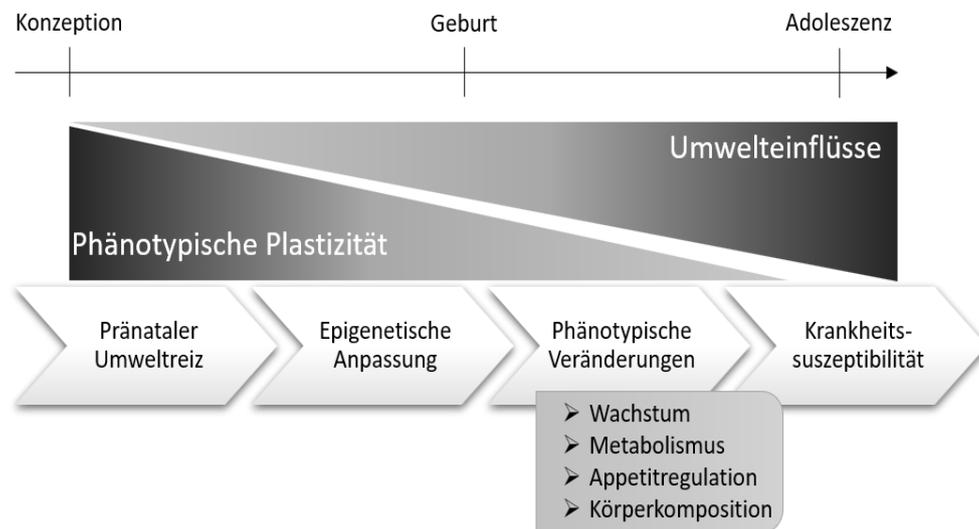


Abb. 10 Gen-Umwelt-Interaktion:

Phänotypische Plastizität gewährleistet Modifikation über Umwelteinflüsse während der Fetalentwicklung. Epigenetische Adaptation führt zur Phänotypsprägung inklusive Krankheitsanfälligkeit.

– modifiziert nach Reichetzeder (2018)

Adapted by permission from Springer Nature, Journal für Gynäkologische Endokrinologie/ Österreich, Fetale Programmierung – von der Epidemiologie zur Epigenetik, Reichetzeder, C., Copyright © 2018.

Darauf basierend konnten Forschungsarbeiten verschiedene vulnerable Phasen in der Embryonalentwicklung herausarbeiten, die zu einer persistierenden „Programmierung“ des Feten führt. ¹⁰⁸:

- A) Perikonzeptionelle Phase
- B) Späte Schwangerschaftsphase
- C) Postnatale Phase/Stillzeit

Eine aberrante mütterliche Stoffwechsellage in der perikonzeptionellen Phase (A) wirkt sich auf den Insulin-Signalweg aus ¹¹² und ruft viszerale Fettsucht im Erwachsenenalter weiblicher Nachkommen hervor ¹¹³. Metabolische Störungen der späten Schwangerschaftsphase (B) erhöhen das Risiko, postnatal eine Leptinresistenz zu entwickeln und subkutane Fettmasse anzureichern ¹¹⁴. Zur Beurteilung der postnatalen Phase bzw. Stillzeit (C) eignen sich „*small litter*“- (dt. „kleine Wurfgröße“) Mausmodelle, bei denen bspw. nur ein $\frac{1}{4}$ der Nachkommen durch das Muttertier gestillt wird. Die dadurch verursachte Überfütterung induziert einen

adipösen Phänotyp und führt u. a. zu Hyperleptinämie, Hypertriglyzeridämie und arteriellem Hypertonus ¹¹⁵. Zusätzlich lässt sich mittels klinischer Studien belegen, dass Stillen gegenüber Formula das Risiko reduziert, im späteren Leben übergewichtig zu sein ¹¹⁵.

Zusammenfassend kann die Konditionierung des fetalen Organismus während vulnerabler Phasen in einer erhöhten Adipositas-Prädisposition resultieren und legt damit den Grundstein für das generationsübergreifende Adipositas-Modell ¹⁰¹.

2.4.2 Intergenerationszyklus

Das generationsübergreifende Adipositas-Modell stellt als Untersuchungsgegenstand der vorliegenden Arbeit eine komplexe Anforderung dar und wird in *Abbildung 11* ^{101,116,117} vereinfacht illustriert.

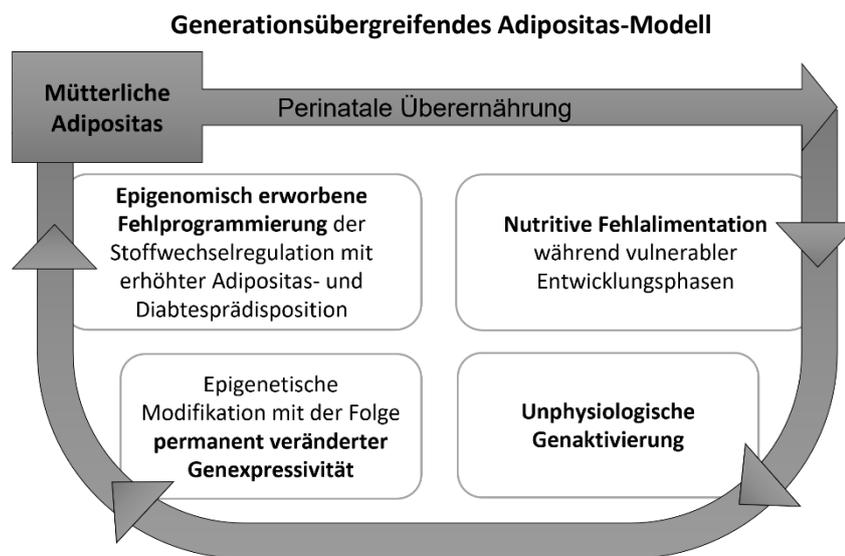


Abb. 11: (Fehl-)Konditionierung des fetalen Organismus durch dessen Mikroumwelt (im Beispiel perinatale Überernährung): Über (Umwelt-)Einflüsse „eingepägte“ Anpassung der Mikrostruktur und des Epigenoms (= *Vegetative Prägung*) mit resultierender erhöhter Krankheitsdisposition. Erlernete „Fehlfunktionen“ werden wiederum an Folgegenerationen übertragen.

– modifiziert nach Plagemann (2014)

Plagemann, A.; „Perinatale Programmierung, neuro-endokrine Epigenomik und präventive Medizin – Das Konzept der Vegetativen Prägung.“; Nova Acta Leopoldina NF 120, Nr. 405, 197-225, 2014; mit freundlicher Genehmigung der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina – Nationale Akademie der Wissenschaften.

Mütterliche Adipositas, in dieser Studie mittels Hochfettdiät (HFD) induziert, führt zu einer perinatalen Überernährung und kann durch Fehlprogrammierung von Stoffwechselprozessen

in einer erhöhten Adipositas- und Diabetesprädisposition der Nachkommen resultieren ¹⁰¹. Diese Veranlagung kann an Folgegenerationen weitergegeben werden: Es entsteht ein *circulus vitiosus*, der das generationsübergreifende Adipositas-Modell unterhält ^{103,108,118}. Ein tieferes Verständnis der Fetalprogrammierung ist somit nötig, um Zielstrukturen zu identifizieren, die den Teufelskreis unterbrechen und dadurch zur Prävention von Übergewicht genutzt werden können ¹¹⁹

Als ursächlicher Mechanismus des Intergenerationszyklus wird in vielen gegenwärtigen Studien die Epigenetik aufgeführt ^{101,103}.

2.4.3 Epigenetik

Conrad Waddington, einer der Pioniere in diesem Feld, definierte sie 1942 als „*the branch of biology that studies the causal interactions between genes and their products, which bring the phenotype into being*“; zu Deutsch als „Teilgebiet der Biologie, welches die zugrunde liegenden Interaktionen zwischen Genen und Genprodukten erforscht, die zu einer bestimmten Merkmalsausprägung führen“ ¹²⁰. Auch wenn bis heute kein Konsens über eine einheitliche Definition von Epigenetik besteht, wäre eine mögliche Begriffserläuterung die folgende: „*Alle meiotisch und mitotisch vererbaren Veränderungen der Genexpression, welche nicht in der DNA-Sequenz selbst codiert sind*“ ^{95,120,121}. Das bedeutet, dass unsere Erbanlage zunächst in der DNA-Sequenz festgeschrieben ist und von der befruchteten Eizelle an jede Tochterzelle weitergegeben wird. Die informationstragenden DNA-Abschnitte einer Zelle sind meist Protein-kodierende Strukturgene und werden in ihrer Gesamtheit als *Genom* bezeichnet ²⁶. Das *Genexpressionsmuster* der Zellen ist jedoch variabel und wird durch Umweltreize während Differenzierungsvorgängen modifiziert. Diese molekularen und epigenetischen Anpassungsvorgänge erzeugen in jedem Zelltyp ein individuelles *Epigenom* ¹²², das sich anhand unterschiedlicher phänotypischer Ausprägung, wie z. B. Wachstum, Metabolismus, Körperkomposition etc. (siehe *Abb.10*), bemerkbar macht und mittels Zwillingsforschung belegen lässt ¹²³.

Zu den wesentlichen epigenetischen Mechanismen gehören u. a.:

- nicht-codierende RNAs
- post-translationale Histonmodifikation
- DNA-Methylierung

Gemeinsamkeit der epigenetischen Regelsysteme besteht in der *Modifikation der Genexpressivität*, die als vererbbares Molekulargedächtnis aufgefasst werden könnte und

darüber hinaus einen Zusammenhang zwischen vergangener (Umwelt-)Exposition und zukünftigem Gesundheitsstatus schafft ¹²².

Ein ergänzender und in diesem Zusammenhang relevanter Aspekt der Studie ist, dass jene Vorgänge während der Fetalentwicklung gewebs- und zellspezifisch auftreten ^{124,125}. Eine perinatale Fehlalimentation infolge mütterlichen Übergewichts kann daher auch die metabolische Funktion des Fettgewebes langfristig verändern und so zur gestörten Stoffwechselsituation beitragen ¹⁰¹.

2.5 Fettgewebisdysfunktion

Wenn man erneut die Definition von Adipositas bedenkt, kurz als „übermäßige Fettmasse“ zusammengefasst, so kann man aus den vorangehenden Kapiteln schließen, dass dies mit einer größeren Energiespeicherkapazität einhergeht. Dieser Kapazitätzuschuss wird erreicht durch verschiedene Anpassungsreaktionen des Organismus ¹²⁶:

- Körperkomposition mit adipösem Phänotyp
- Hypertrophie reifer Adipozyten
- Hyperplasie und Differenzierung von Präadipozyten
- Angiogenese und dynamische Umwandlung der Extrazellulärmatrix
- Veränderung des Sekretionsprofils und Zellkomposition

Bei erheblichem Übermaß sind diese zunächst physiologisch angelegten Adaptationsmechanismen jedoch dysfunktional und können Störungen in der Fettgewebsphysiologie verursachen ¹³. Folge ist die Fettgewebisdysfunktion, die sich auf den genannten Ebenen manifestiert und im Folgenden konkretisiert wird.

2.5.1 Körperkomposition mit adipösem Phänotyp

Der Organismus reagiert auf einen Energieüberschuss mit einer Volumenzunahme des Fettgewebes. Über den BMI kann die adipöse Körperkomposition, wie zuvor erläutert, einfach ermittelt werden ⁸. Forschungsergebnisse der letzten Jahrzehnte enthüllten allerdings die Tatsache, dass nicht nur die absolute Fettmasse, sondern insbesondere die Fettgewebslokalisation Auswirkungen auf den Gesundheitsstatus hat ¹⁴. Folgende Faktoren können u. a. die Fettgewebsverteilung beeinflussen: Alter, Genetik, Hormone, Erkrankungen, bestimmte Medikamente und das Geschlecht ¹⁴. Letzteres ist für die Einteilung in den bereits zuvor eingeführten gynoiden („Birnenform“) bzw. androiden („Apfelform“) Typ namensgebend.

Während Frauen eher subkutane Fettmasse anreichern, ist bei Männern ein Fettverteilungsmuster zugunsten der viszeralen Fettmasse zu beobachten ¹²⁷. Diese Klassifikation dient primär zur Risikoabschätzung möglicher Gesundheitsfolgen, da „zentrale bzw. viszerale Adipositas mit erhöhtem Risiko für Diabetes, Bluthochdruck, Atherosklerose, Krebsleiden und erhöhter Sterblichkeit im Vergleich zu peripherer Adipositas vergesellschaftet ist“ ¹⁴. Viszerale Adipositas ist charakterisiert durch einen erhöhten Anteil freier Fettsäuren und TAGs ¹²⁷. Einer der Gründe dafür ist, dass viszerales Fett eine hohe lipolytische Aktivität aufweist und somit die Freisetzung freier Fettsäuren steigert ⁶⁶. Eine im Rahmen von Adipositas auftretende Hyperlipidämie führt bei mangelnder Speicherkapazität von Fettsäuren in den Adipozyten zur ektopen Lipidakkumulation, bspw. im Pankreas, der Leber oder im Muskelgewebe. Folge ist eine Lipotoxizität, die sich durch Zelldysfunktion bzw. -untergang manifestiert ¹²⁸ und in Form metabolischer Störungen klinisch bemerkbar macht ¹²⁷. Ein ähnlicher Strukturwandel kann im fortgeschrittenen Alter beobachtet werden. Der Alterungsprozess geht zwar mit einer kontinuierlichen Abnahme der Gesamtfettmasse einher, der prozentuale Fettgewebsanteil scheint jedoch konstant zu sein und bildet sich in einer Fettgewebsumverteilung mit ektoper Lipidablagerung ab ¹²⁹. Zu Beginn wird die Abnahme von subkutaner Fettmasse beschrieben, während das viszerale Fettkompartiment nahezu erhalten bleibt. Dies in Kombination mit der rückläufigen Fähigkeit, freie Fettsäuren zu eliminieren, mag Mitursache altersbedingter metabolischer Erkrankungen sein. Als zugrundeliegender Pathomechanismus wird die zuvor erwähnte Präadipozytendysfunktion, die sich u. a. anhand abnehmender Differenzierungsfähigkeit äußert, diskutiert ¹²⁹. Aufgrund ähnlicher Mechanismen, die zu metabolischen Störungen führen, wurde Adipositas als beschleunigte Variante der Fettzellalterung betitelt ¹³.

Neben makroskopischen Veränderungen in Form der adipösen Körperstruktur scheinen deshalb auch mikroskopische Veränderungen wegweisend zu sein.

2.5.2 Histologie – Adipozyten und Zellkomposition

(1) Adipozyten

Im Zuge der Fettgewebsexpansion kommen die unter Kapitel 2.1.2.2 (Seite 15) beschriebenen zellulären Adaptationsformen, Hypertrophie und Hyperplasie, zum Tragen ²⁸. Bei der „gesunden“ Fettgewebsexpansion werden adipogene Vorläuferzellen rekrutiert und in den Reifungsprozess eingeschleust. Die Größenzunahme bereits existierender Adipozyten ist limitiert ¹³⁰.

Im adipösen Phänotyp hingegen ist die übermäßige Adipozytenhypertrophie ein häufiges und vorrangiges Phänomen ^{130,131}. Parallel dazu lassen sich weitere histologische Anpassungsreaktionen feststellen. Um eine Volumenzunahme der Adipozyten zu

gewährleisten, ist ein struktureller Umbau der Extrazellulärmatrix (EZM) nötig, in welche die Adipozyten eingebettet sind. Die EZM stellt dabei nicht nur eine mechanische Komponente dar, sondern beeinflusst reziprok den Strukturumbau der Adipozyten über diverse Signalwege. Dieses physiologisch angelegte Regelwerk kann bei massiver Fettgewebszunahme zu einem fibrösen Gewebeumbau führen und somit zur Fettgewebsdysfunktion beitragen^{132,133}. Als Auslöser wird in diesem Zusammenhang das Hypoxie-Modell diskutiert¹³³: Die hypertrophe Zellformation geht mit einer verminderten Sauerstoffversorgung der Adipozyten einher. Auch in klinischen Studien konnte ein verminderter Oxygenierungsgrad bei adipösen Probanden bereits nachgewiesen werden¹³⁴. Als Ursache wird eine unzureichende Vaskularisation in Betracht gezogen. Im Gegensatz zu braunem Fettgewebe scheinen Kompensationsmechanismen des weißen Fettgewebes weniger effizient zu sein, um eine adäquate Gefäßbildung zu gewährleisten. Folge ist eine Hypoxie der Adipozyten. Reaktiv wird eine Entzündungsreaktion initiiert mit dem Ziel, die Perfusion und damit Sauerstoffversorgung zu steigern²⁸. Maßgeblich daran beteiligt ist der *hypoxia-inducible factor-1* (HIF-1), ein Transkriptionsfaktor, der als Antwort auf Ischämiezustände vermehrt exprimiert wird. Über Induktion seiner Zielgene, vornehmlich der Gefäßwachstumsfaktor (engl., *vascular endothelial growth factor*, VEGF), wird u. a. die Angiogenese angeregt, wodurch ihm bspw. auch eine besondere Rolle in der Tumorbilogie zugesprochen wird¹³⁵.

Anders als im Tumorgewebe, scheint das angiogene Signal im Fettgewebe unzureichend wirksam zu sein. Vielmehr führt die HIF-1-Aktivierung zur verstärkten Produktion von EZM-Bestandteilen, was mit einem progressiven fibrotischen Umbau und Inflammation assoziiert ist. Folge ist nicht nur eine Reduktion der Fettgewebsplastizität, sondern auch ein Zellfunktionsverlust mit konsekutivem Zelltod¹³³.

Diese Zellvorgänge erweisen sich im Rahmen der ausgelösten Entzündungsreaktion als potenter Stimulus für die Einwanderung von Immunzellen, unter denen Makrophagen eine Schlüsselrolle einnehmen¹³⁰.

(2) Makrophagen

Bei normalgewichtigen Menschen machen Makrophagen ca. 10 % der SVF im Fettgewebe aus¹³⁶. Mit steigendem BMI nimmt auch die relative Anzahl der Makrophagen zu und lässt sich außerdem bei Größenzunahme der Adipozyten feststellen^{50,136}. Die Einwanderung ins Fettgewebe wird unter anderem über die in den vorherigen Abschnitten beschriebenen Folgen der Fettzelladaptation angeregt. Dies bewirkt jedoch nicht nur eine Veränderung der Makrophagenquantität, sondern beeinflusst ebenso ihre Differenzierung und somit qualitative Merkmale. Der Zelluntergang, gekoppelt mit der Sekretion bestimmter Botenstoffe, stimuliert eine Aktivierung der Makrophagen, die dann als potente „Fresszellen“ zur Phagozytose avitaler Adipozyten fähig sind¹³⁰. Dies wird über Aggregations- und Fusionsvorgänge

bewerkstelligt und endet in einer mehrkernigen Synzytienbildung um den verbliebenen Lipidkern. Diese morphologische Adaptation gilt in der Literatur als charakteristisch für Entzündungszustände ¹³⁷. Die Makrophagenaktivierung bewirkt außerdem die Eigensynthese diverser Entzündungsmediatoren ^{11,50}, die im Wechselspiel mit den entzündeten Adipozyten über autokrine, parakrine und systemische Effekte den Entzündungsstatus verschärfen. Diese Interaktion ist letztlich Motor eines Teufelskreises, der mittels positiver Rückkopplung die chronische Inflammation aufrechterhält ³⁷.

(3) Prädipozyten

Prädipozyten reagieren auf diesen Entzündungszustand mit einer reduzierten Differenzierungsfähigkeit. Mitursächlich ist die verminderte Expression von C/EBP β -LIP und CHOP, die nicht nur bei Entzündungszuständen, sondern auch infolge von zellulärem Stress und metabolischer Dysfunktion zu beobachten ist ¹³⁸. Eine andere Reaktionsform des Prädipozyten auf „Stress“ ist die Induktion von Seneszenz.

Unter Seneszenz versteht man den irreversiblen Zellzyklusarrest, der z. B. häufig bei hyperproliferativen Zuständen wie Krebsleiden beobachtet werden kann und in erster Linie als Schutzmaßnahme dient ¹³⁹. Die Zellen sind hoch-inflammatorisch und können den sog. SASP (*senescence-associated secretory phenotype*) hervorrufen. Dieser stellt sich anhand folgender Eigenschaften dar ¹³⁸:

- A) Erhöhte Zytokinausschüttung
- B) Inflammation und Immunzellinfiltration
- C) Verminderte Zelldifferenzierungskapazität

Aus den Punkten A) und B) lässt sich ein verändertes Sekretionsprofil zugunsten proinflammatorischer Zytokine ableiten, welches sich infolge der Adipositas-induzierten Fettgewebisdysfunktion einstellt ¹³.

2.5.3 Sekretionsprofil

Die außerordentliche Menge an Mediatoren, die vom Fettgewebe sezerniert werden und in Kapitel 2.1.4.1. (Seite 19) beschrieben wurden, ist für die hohe Anpassungsfähigkeit der metabolischen, inflammatorischen und endokrinen Funktion verantwortlich ⁵. Vor diesem Hintergrund bietet die Freisetzung entzündungsfördernder Zytokine einen potentiellen Erklärungsansatz für die Fettgewebisdysfunktion ¹³. Wie zuvor erwähnt, stehen Fettleibigkeit und Insulinresistenz in direktem Zusammenhang mit hohen IL-6 und TNF- α Serumspiegeln ¹⁴⁰. Die erhöhte Expression von Entzündungsmediatoren induziert eine „chronisch sterile geringgradige Inflammation“ ^{28,141}, die viele Studien als mögliche Quelle der

Fettgewebisdysfunktion nennen und Adipositas-assoziierte Folgeerkrankungen hervorrufen kann. Folgende Faktoren werden in diesem Zusammenhang diskutiert ¹³:

Inflammatorische Zytokine haben nicht nur systemische Auswirkungen, sondern können über parakrine und autokrine Interaktionen den lokalen Entzündungszustand aufrechterhalten. Inflammation, zellulärer Stress und metabolische Störungen führen zu einer Einschränkung der Differenzierungskapazität und damit zu einer Dysfunktion der Adipozyten-Vorläuferzellen, die wiederum den Entzündungsstatus verschärfen kann. Diese Prozesse stehen folglich miteinander in Wechselwirkung und können gleichzeitig durch weitere Faktoren, wie z. B. oxidativer Stress sowie gestörte DNA-Reparatur, negativ beeinflusst werden ¹³⁸.

Es besteht ein allgemeiner Konsens darüber, dass die Adipositas getriggerte chronisch sterile Entzündung ihren Ursprung am ehesten im Fettgewebe hat ²⁸. In diesem Inflammationskonzept ist allerdings nicht vollständig geklärt, ob die soeben genannten Faktoren Ursache oder Folge der Fettgewebisdysfunktion sind. Insgesamt scheinen sich diese gegenseitig zu verstärken und münden in der Aufrechterhaltung des chronischen Entzündungsstatus, der sich klinisch anhand Adipositas-assoziiierter Folgeerkrankungen bemerkbar macht ^{40,138}.

2.6 Klinische Relevanz

Chronisch sterile Inflammation gilt als Risikofaktor für die Entwicklung verschiedener Systemerkrankungen ¹⁴²⁻¹⁴⁴. In seiner Rolle als endokrines, sekretorisches Organ kann eine Adipositas-induzierte Fettgewebisdysfunktion diesen Proinflammationsstatus begünstigen und systemische Auswirkungen hervorrufen. Endpunkte stellen die Adipositas-assoziierten Folgeerkrankungen dar, die beispielhaft in Kapitel 2.3 (Seite 22) skizziert wurden.

Die zugrundeliegenden Mechanismen, welche **Stoffwechsel, Zelleigenschaften, Inflammation und das Immunsystem** in diesem Kontext vereinigen, konnten jedoch bislang nicht ausreichend geklärt werden. Das generationsübergreifende Adipositas-Modell mit frühkindlichem Beginn und entsprechenden Langzeitfolgen deutet darüber hinaus auf eine Beeinflussung dieser Zusammenhänge bereits während der Kindesentwicklung hin.

Externe und interne Stimuli wie beispielsweise Genetik und Umwelteinflüsse haben zweifellos modifizierenden Charakter. Welche Bedeutung insbesondere der fetalen metabolischen Programmierung als Antwort auf eine abnorme mütterliche Stoffwechsellage zukommt, ist bei weitem nicht ausreichend verstanden und bietet Grundlage für die Arbeitshypothese der vorliegenden Studie.

2.7 Fragestellungen und Ziel der Arbeit

2.7.1 Zentrale Hypothese

Die klinische Bedeutsamkeit von Adipositas gekoppelt mit der vorangestellten Literaturrecherche zeigen, dass metabolische Einflüsse in der Schwangerschaft und Stillzeit nachteilige Effekte auf den Fetus und letztlich auf die Gesundheit des Kindes haben ¹⁴⁵.

Mütterliche Adipositas stellt einen Risikofaktor für kindliches Übergewicht und damit Adipositas-assoziiierter Folgeerkrankungen dar ^{146,147}. Ob und wie die metabolische Programmierung des Fettgewebes zu dieser Entwicklung beiträgt, ist bislang nicht vollständig geklärt. Daher untersuche ich in meiner Promotionsarbeit folgende Hypothese:

Mütterliche Adipositas induziert eine Zunahme und einen inflammatorischen Phänotyp des Fettgewebes und beeinflusst die Adipogenese in weiblichen Nachkommen langfristig.

An dieser Stelle soll betont werden, dass die vorliegende Promotionsarbeit ausschließlich eine Analyse der weiblichen Nachkommen aufführt. Da die Literatur geschlechtsspezifische Merkmale als Folge der metabolischen Programmierung beschreibt ^{107,148}, wurden entsprechende Untersuchungen und Experimente durch meinen Arbeitskollegen Herrn Dr. med. Thorsten Litzemberger ebenfalls an männlichen Nachkommen durchgeführt und in seiner Promotionsarbeit veröffentlicht. Die Ergebnisse beider Arbeiten wurden mit dem Titel „*Maternal high-fat diet induces long-term obesity with sex-dependent metabolic programming of adipocyte differentiation, hypertrophy and dysfunction in the offspring*“ ¹⁴⁹ im *Journal Clinical Science* unter meiner geteilten Erstautorenschaft publiziert.

Zielsetzung der Zusammenführung beider Arbeiten war es intergeschlechtliche Unterschiede der metabolischen Programmierung im Fettgewebe herauszuarbeiten.

2.7.2 Spezifische Ziele

Zur Untersuchung der zentralen Hypothese wurden drei spezifische Ziele (I-III) formuliert, davon weitere Hypothesen abgeleitet (1-6) und anhand eines tierexperimentellen Diät-Modells (s.u.) zur metabolischen Programmierung geprüft.

I. Untersuchung der Körperkomposition weiblicher Nachkommen adipöser Muttertiere

1. *Mütterliche Hochfettdiät (HFD) führt zu einem adipösen Phänotyp des weiblichen Nachwuchses mit einer Zunahme des weißen Fettgewebsanteils gemessen anhand der Fettdepotmasse und magnetresonanztomographischer Körperanalyse.*

II. Quantitative histomorphometrische Charakterisierung der Adipozyten

2. *Mütterliche HFD induziert eine Adipozytenhypertrophie in den weiblichen Nachkommen.*

III. Analyse des Zellzyklus, der Differenzierung und des sekretorischen Phänotyps

3. *Mütterliche HFD wirkt sich auf die Fettgewebssekretion von Entzündungsmediatoren [Interleukin 6 (Il6); Interleukin 1 β (Il1 β); Metalloproteinase 12 (Mmp12)] zugunsten eines pro-inflammatorischen Milieus aus und aktiviert entzündungsfördernde Signalwege [p38 mitogen-activated protein kinases (MAPKs)] im weiblichen Nachwuchs.*
4. *Weibliche Nachkommen HFD-gefütterter Muttertiere zeigen Veränderungen im Zellzyklus über Programmierung von Genen der Zellzyklusmaschinerie [Cyclin-dependent kinase inhibitor 1a (Cdkn1a; p21); Cyclin-dependent kinase inhibitor 1b (Cdkn1b; p27); Cyclin-dependent kinase inhibitor 2a (Cdkn2a; p16); Cyclin D1 (Ccnd1); NAD-dependent deacetylase sirtuin-1 (Sirt1)].*
5. *Mütterliche HFD hemmt die Präadipozyten-Differenzierung über veränderte Genexpression von Differenzierungsmarkern [Perilipin1 (Plin1); Perilipin2 (Plin2); Krüppel-like factor 4 (Klf4); Catenin beta 1 (Ctnnb1); DLK (Preadipocyte factor 1); peroxisomal proliferator-activated receptor gamma (Ppar γ)].*
6. *Metabolische Störungen in weiblichen Nachkommen HFD-gefütterter Muttertiere werden über Dysregulation der Stoffwechselprozesse im AKT- und AMPK α -Signalweg und über Änderungen im Lipidmetabolismus hervorgerufen [Monoglyceride lipase (Mgl); Fatty acid binding protein 4 (Fabp4); Sterol regulatory element binding transcription Factor 1 (Srebp1); Leptin (Lep); Adiponectin (AdipoQ)].*

2.7.3 Tierexperimentelles Modell der metabolischen Programmierung

Um Auswirkungen der metabolischen Programmierung auf die weiblichen Nachkommen zu untersuchen, wurde ein bereits etabliertes murines Modell der HFD-induzierten mütterlichen Adipositas unserer Arbeitsgruppe genutzt^{106,150}. Das Tierversuchsvorhaben wurde durch die zuständige Genehmigungsbehörde autorisiert und gemäß des Tierschutzgesetzes durchgeführt (LANUV; 2012.A424).

Das Tiermodell umfasst zwei Gruppen von Wildtyp Mäusen mit gleichem genetischen Hintergrund (C57BL/6N), die sich nur durch diätetische Aspekte unterscheiden lassen. Mütter der Untersuchungsgruppe erhalten bereits 6-8 Wochen vor der Konzeption bis hin zum Abstillen eine Hochfettdiät (HFD – *high-fat-diet*, HFD-Gruppe). Weibliche Nachkommen dieser Kohorte werden am postnatalen Tag P21 (P21) auf Standarddiät (SD – *standard-diet*) gesetzt. Die Muttertiere der Kontrollgruppe erhalten bereits vor der Konzeption, während der Gestation sowie Laktationsphase SD. Die Nachkommen der Kontrollgruppe (Co-Gruppe) setzen die SD über die gesamte Lebensspanne fort. Untersuchungen werden zur Beurteilung von (Langzeit-) Effekten am postnatalen Tag 21, 70 und 120 durchgeführt.

3. Publikation

Research Article

Maternal high-fat diet induces long-term obesity with sex-dependent metabolic programming of adipocyte differentiation, hypertrophy and dysfunction in the offspring

Thorsten Litzemberger^{1,*}, Eva-Kristina Huber^{1,*}, Katharina Dinger^{1,2}, Rebecca Wilke¹, Christina Vohlen^{1,3}, Jaco Selle¹, Mazlum Kadah⁴, Thorsten Persigehl⁴, Carola Heneweer⁴, Jörg Dötsch³ and Miguel A. Alejandro Alcazar^{1,2,3}

¹University of Cologne, Faculty of Medicine and University Hospital Cologne, Translational Experimental Pediatrics, Department of Pediatric and Adolescent Medicine, Germany; ²University of Cologne, Faculty of Medicine and University Hospital Cologne, Center for Molecular Medicine Cologne (CMMC), Germany; ³University of Cologne, Faculty of Medicine and University Hospital Cologne, Department of Pediatric and Adolescent Medicine, Germany; ⁴University of Cologne, Faculty of Medicine and University Hospital Cologne, Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Germany

Correspondence: Miguel A. Alejandro Alcazar (miguel.alejandre-alcazar@uk-koeln.de)

Maternal obesity determines obesity and metabolic diseases in the offspring. The white adipose tissue (WAT) orchestrates metabolic pathways, and its dysfunction contributes to metabolic disorders in a sex-dependent manner. Here, we tested if sex differences influence the molecular mechanisms of metabolic programming of WAT in offspring of obese dams. To this end, maternal obesity was induced with high-fat diet (HFD) and the offspring were studied at an *early phase* [postnatal day 21 (P21)], a late phase (P70) and finally P120. In the *early phase* we found a sex-independent increase in WAT in offspring of obese dams using magnetic resonance imaging (MRI), which was more pronounced in females than males. While the adipocyte size increased in both sexes, the distribution of WAT differed in males and females. As mechanistic hints, we identified an inflammatory response in females and a senescence-associated reduction in the preadipocyte factor DLK in males. In the *late phase*, the obese body composition persisted in both sexes, with a partial reversal in females. Moreover, female offspring recovered completely from both the adipocyte hypertrophy and the inflammatory response. These findings were linked to a dysregulation of lipolytic, adipogenic and stemness-related markers as well as AMPK α and Akt signaling. Finally, the sex-dependent metabolic programming persisted with sex-specific differences in adipocyte size until P120. In conclusion, we do not only provide new insights into the molecular mechanisms of sex-dependent metabolic programming of WAT dysfunction, but also highlight the sex-dependent development of low- and high-grade pathogenic obesity.

Introduction

Childhood overweight and obesity are global epidemic threats with a steadily rising incidence and the risk for chronic health problems later on [1–3]. The increasing prevalence of obesity results in a higher incidence of obese pregnant and lactating women. Accumulating evidence demonstrates an intergenerational cycle of obesity, with children of obese women being more susceptible to early-onset obesity. This concept has been coined as *metabolic programming* [4–6]. Clinical and experimental studies confirm that maternal obesity during a critical window of development determines metabolic programming of organ structure and physiology in the offspring, and induces metabolic disorders beyond infancy [7–10].

*These authors contributed equally to this work.

Received: 28 November 2019
Revised: 19 March 2020
Accepted: 01 April 2020

Version of Record published:
00 xx 00

For example, offspring of obese dams exhibit marked accumulation of white adipose tissue (WAT), elevated levels of leptin and inflammatory cytokines, insulin resistance and aggravated metabolic response when exposed to obesogenic diet later in life [10–13]. Understanding the molecular mechanisms of adipose dysfunction after maternal obesity may provide novel avenues to prevent long-term sequelae of metabolic programming.

Obesity is characterized by an accumulation and a dysfunction of WAT that results in an elevated secretion of adipocytokines and hormones. This chronic subacute inflammatory state predisposes to higher risk for metabolic pathologies, including diabetes mellitus and cardiovascular diseases [14,15]. The WAT orchestrates various metabolic pathways and contributes to the metabolic syndrome in a sex-dependent manner [16–19]. The progression of obesity-related disease is often inevitable, and intimately linked to adipocyte dysfunction [20]. In general, WAT dysfunction includes inflammation, senescence, insulin resistance, preadipocyte dysfunction and adipocyte hypertrophy [21]. Interestingly, these changes in adipogenic function do not only trigger obesity-related diseases, but are also hallmarks of ageing [22–24]. However, the molecular mechanisms as well as sex differences in adipogenesis during metabolic programming and WAT function remain elusive.

The timing of adipose tissue development determines the window of vulnerability to metabolic programming. The number of adipocytes is primarily determined early in life and is mostly stable through adulthood [25]. Moreover, adipogenesis and adipocyte function are tightly regulated by the concerted interaction of various growth factors and by the microenvironment, including inflammatory cells, matrix, cytokines, hormones and mechanical stress [26,27]. Disruption of these processes by maternal obesity during development can result in WAT dysfunction with adverse auto- and paracrine as well as systemic effects, ultimately promoting metabolic disorders and diseases [25]. Thus, identification of early-onset molecular mechanisms disrupting adipogenesis and determining adipocyte function in a sex-dependent manner in health and disease may define new targets to prevent or reverse WAT dysfunction and attenuate obesity-related pathologies. Here, we present a comprehensive study, in which we investigated adipogenesis, the senescence-associated secretory phenotype (SASP), inflammatory response and the deposition of WAT up to postnatal day 120 (P120). Our data provide evidence of sex-dependent mechanisms in metabolic programming of WAT and most interestingly, a protection of females from long-term adipocyte hypertrophy.

Materials and methods

Animal procedures

All animal procedures for this manuscript were performed in accordance with the German regulations and legal requirements and were authorized by the local government authorities (LANUV; 2012.A424). All mice (C57BL/6N) were placed in a room with $22 \pm 2^\circ\text{C}$, were exposed to a light/dark cycle of 12 h each and had *ad libitum* access to water and their respective chow. The animal model of metabolic programming was performed as previously described [10]. Virgin female mice (C57BL/6N) from our own colony received a high-fat diet (HFD; modified catalog no. C1057;

Altromin, Lage, Germany) or a standard diet (Co; ssniff catalog no. R/M-H, V1534-0) for 8 weeks after weaning (P21). HFD and Co dams were time-mated with standard diet-fed male mice and continued on their respective diets throughout gestation and lactation. At birth, the litter size of all dams was normalized to six for each litter. Water and chow were available *ad libitum*, and food was withdrawn only for experimental reasons. After weaning at P21, the offspring of HFD and Co dams were fed standard diet until P120. Both male and female offspring were studied: Co^{male}, Co^{female}, HFD^{male} and HFD^{female}. The exact number of animals are listed in the figure legends; the animals of each group and time point were obtained from three to four different litters. After killing the mice at P21 and P70, WAT was excised as previously described [28]. In addition, some mice underwent a magnetic resonance imaging (MRI) analysis at P21, P70 or P120. The animal experiments took place in the Laboratory of the the Department of Pediatric and Adolescent Medicine and the Department of Diagnostic and Interventional Radiology, University Hospital Cologne, Cologne, Germany.

MRI-analysis of body composition

A whole body MRI scan was performed to assess total body volume, total fat volume and fat fraction. MRI scans were acquired on a Philips Ingenia 3.0 T system (Philips Healthcare) combined with a commercially available small animal coil (Philips Research Hamburg, Germany) with heating function to preserve body temperature during the examination. All mice underwent inhalational anesthesia with isoflurane (2.0–2.5%) in air during image acquisition. The MR protocol consisted of a 3D mFFE T1-weighted sequence with following parameters: echo time (TE) 3.41 ms, repetition time (TR) 8.13 ms, flip angle 45° , field of view (FOV) = 80 x 32 mm, matrix 256 x 256, slice thickness 0.35 mm, gap 0 mm, acquired voxel size 0.35 x 0.35 mm and reconstructed voxel size 0.17 x 0.17 mm, number of signal averages (NSA) 2 and standard scan time for 183 slices was 2 min.

First, the total body volume was quantified by circling the offspring's body, starting at the cerebellum and ending when both legs were separated from the ilium. Second, the total fat volume was measured by defining signal-intensity thresholds in order to detect the adipose tissue; adipose tissue has a high signal intensity in T1 when compared with other organs. The intestinal area was excluded to avoid false-positive measurements. Finally, the total fat volume was related to the total body volume to determine the fat fraction.

Physiological data of the offspring

The body weight (in grams) was obtained at each time point (P21, P70 and P120). Subsequently, mice were killed and perigonadal (pg), retroperitoneal and subcutaneous WAT were excised and weighed (grams).

Tissue preparation

Perigonadal WAT (pgWAT) was excised for molecular studies at P21 and P70. A fraction of the pgWAT was immediately frozen and stored at -80°C for protein analysis and assessment of gene expression. Another fraction was fixed in 4% paraformaldehyde (PFA) in phosphate-buffered saline, followed by paraffin embedding for quantitative histomorphological studies. Finally, a third fraction was used to assess β -galactosidase-positive cells as an indicator of senescence.

Hematoxylin and Eosin staining

Five-micrometer cross-sections of the PFA-fixed and paraffin-embedded pgWAT were stained with Hematoxylin and Eosin as previously described [29]. The tissue sections were imaged in a magnification of 20x using the slide scanner (Leica SCN400, Germany). The mean linear intercept (MLI) of adipocytes was measured by using the program 'cellAD' and a grid pattern of $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$ (version 5.1, Olympus Europe SE & Co. KG, Hamburg, Germany). Blood vessels and connective tissue were avoided. The MLI was assessed in six to eight random fields of view per pgWAT section; three sections per animal.

Senescence-associated β -galactosidase staining

Senescence-associated β -galactosidase (SA- β -gal) solution was prepared using 1 mg/ml β -X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-indolyl β -D-galactopyranoside; #B4252, Sigma-Aldrich, Germany), 5 mmol/l potassium ferrocyanide [potassium hexacyanoferrate(II) trihydrate; #P3289, Sigma-Aldrich, Germany], 5 mmol/l potassium ferricyanide [potassium hexacyanoferrate(III) trihydrate; #244023, Sigma-Aldrich, Germany], 150 mmol/l NaCl, 2 mmol/l MgCl_2 , 0.01% SDS and 0.02% Nonidet-40 (NP40 Alternative, #492016, Calbiochem, Germany). After that, pgWAT was incubated in β -galactosidase for 2 h at 38°C . Subsequently, the tissue was fixed with Tissue-Tec (Sakura Finetek™; #4583 Sakura; Thermo Fisher Scientific, Germany) and frozen at -80°C . The frozen WAT was sectioned ($20\ \mu\text{m}$) using Research Cryostat Leica CM3050S and counterstained with Nuclear Fast Red (Hoelzel Biotech; #BOS-AR0008, Germany). The number of SA- β -gal positive cells was assessed in two fields of view per pgWAT section; one section per animal.

RNA extraction and reverse transcription polymerase chain reaction

Total RNA was isolated from pgWAT using TRIzol (Thermo Fisher Scientific, Germany), and real time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed at P21 and P70 using the 7500 real-time PCR system (Applied Biosystems, Foster City, CA) as described previously [30]. Gene expression was normalized to Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) and β -Actin at P21 and P70, respectively. Primers and Taq-Man probes were designed using Primer Express and are listed in Table 1.

Protein isolation and immunoblotting

Protein isolation of pgWAT, measurement of protein concentration and immunoblots were performed as described previously [29]. The blots were incubated with the following antibodies: monoclonal rabbit anti-phospho Akt (pAkt; Cell Signaling Technology, #4058; 1:1000); monoclonal rabbit anti-Akt (Cell Signaling Technology, #9272; 1:2000); monoclonal rabbit anti-phospho 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase α (pAMPK α ; Thr¹⁷²; Cell Signaling Technology, #2535; 1:1000); monoclonal rabbit anti-AMPK α (Cell Signaling Technology, #2603; 1:1000); polyclonal rabbit anti- Δ like non-canonical notch ligand [DLK; Preadipocyte factor 1 (Pref1); abcam, #ab21682; 1:2000]; monoclonal rabbit anti-phospho p38 mitogen-activated protein kinase (pp38; Thr¹⁸⁰/Tyr¹⁸²; Cell Signaling Technology, #4511; 1:1000) and polyclonal rabbit anti-p38 (Cell Signaling Technology, #9212; 1:1000). Monoclonal mouse anti- β -Actin (Cell Signaling Technology, #3700; 1:4000) served as a loading control. Anti-mouse IgG,

Table 1 List of primers used for real-time RT-PCR; TaqMan and SYBR-Green primers

Gene	Method	Primer	Sequence
Leptin (<i>Lep</i>)	Taq	for	5'TCACCAGGATCAATGACATTTAC'3
		rev	3'AGCCCAGGAATGAAGTCCA5'
Interleukin 1- β (<i>Il1β</i>)	Taq	probe	5'ACGCAGTCGGTATCCGCCAAGC'3
		for	5'TGACAGTGATGAGAATGACCTGTTC'3
Metalloproteinase12 (<i>Mmp12</i>)	Taq	rev	3'GGACAGCCCAGGTCAAAGG'5
		taq	ACCCAAAAGATGAAGGGCTGCTTCC
		for	5'GCAGCAGTTCTTTGGGCTAGA'3
		rev	3'GTACATCGGGCACTCCACATC'5
Cyclin-dependent kinase inhibitor 1b (<i>Cdkn1b</i>)	Taq	taq	5'CTGGGCAACTGGACAACCTCACTCTGG'3
		for	5'GGAGCAGTGTCCAGGGATGA'3
Cyclin D1 (<i>Ccnd1</i>)	Taq	rev	3'GGGCGTCTGCTCCACAGT'5
		taq	5'CTTCTTCGCAAAAACAAAAGGGCCAACA'3
		for	5'CGCCTCCGTATCTTACTTCAA'3
		rev	3'CTCACAGACCTCCAGCATCCA'5
Sirtuin 1 (<i>Sirt1</i>)	Taq	taq	5'CCATGCGGAAAATCGTGGCCAC'3
		for	5'GGCTTGAGGGTAATCAATACCTGTT'3
		rev	3'GCATGTGCCACTGTCAGTGT'5
		taq	5'ATGACGTCTTGTCTCTAGTTCCTGTGGCA'3
Catenin β 1 (<i>Ctnnb1</i>)	Taq	for	5'GGACGTTCACAAACCGGATTG'3
		rev	3'GGACCCCTGCAGTACTCTTT'5
		taq	5'CCATTGTTTGTGCAGTTGCTTTATTTCTCCC'3
		for	5'CAGACCAGATGCAGTCACAAGTC'3
Krüppel-like factor 4 (<i>Klf4</i>)	Taq	rev	3'ACGACCTTCTCCCTCTTTG'5
		taq	5'CTCTCTCCATTATCAAGAGCTCATGCCACC'3
		for	5'CATCGACTACATCCGCTTCTTG'3
		rev	3'GTGATTTGCTTTTGTGTGCACTTC'5
Adiponectin (<i>Adipoq</i>)	SYBR	taq	5'CACAGCAACCAGAAGCTCAAGCAGGA'3
		for	5'GACAAGGCCGTTCTCTTAC'3
Cyclin-dependent kinase inhibitor 1a (<i>Cdkn1a</i>)	SYBR	rev	3'CCATACACCTGGAGCCAGAC'5
		for	5'GAACATCTCAGGGCCGAAAA'3
Cyclin-dependent kinase inhibitor 1b (<i>Cdkn1b</i>)	SYBR	rev	3'CGTGGCACTTCAGGGTTT'5
		for	5'GGAGCAGTGTCCAGGGATGA'3
Cyclin-dependent kinase inhibitor 2a (<i>Cdkn2a</i>)	SYBR	rev	3'GGGCGTCTGCTCCACAGT'5
		for	5'AACCTCGCGCCAATCC'3
Perilipin 1 (<i>Plin1</i>)	SYBR	rev	3'CCGTGATTGCAAAAAAGCATTAA'5
		for	5'AGGGTGTACGGATAACGTGGTA'3
Perilipin 2 (<i>Plin2</i>)	SYBR	rev	3'GGGTTATCGATGTCTCGGAATTC'5
		for	5'GTCTCGTGGGTGGAGTGGAA'3
Monoacylglycerol lipase (<i>Mgl1</i>)	SYBR	rev	3'CGTGACTCGATGTGCTCAACA'5
		for	5'TCAATGCAGACGGACAGTACCT'3
Fatty acid-binding protein 4 (<i>Fabp4</i>)	SYBR	rev	3'CAGCTCCATGGGACACAAAAGA'5
		for	5'AAGTGGGAGTGGGCTTTGC'3
		rev	3'GACCGGATGGTGACCAAATC'5

HRP-linked (Cell Signaling Technology, #7076, 1:5000) and anti-rabbit IgG, HRP-linked (Cell Signaling Technology, #7074, 1:2000 or 1:1000) were used as secondary antibodies.

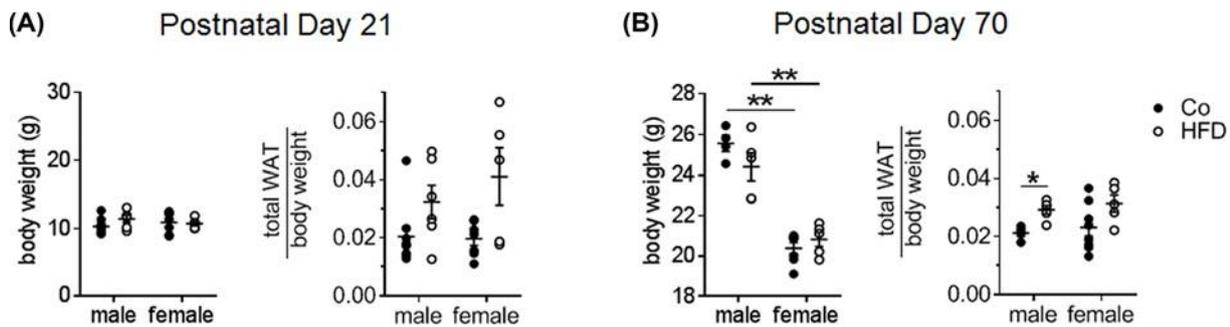


Figure 1. Measurement of body weight and relative WAT in the offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P21 and P70

(A) Body weight and total WAT (g) relative to body weight in male and female offspring at P21. (B) Body weight and total WAT (g) relative to body weight in male and female offspring at P70. Total WAT includes pg, retroperitoneal and subcutaneous WAT. Co, black bar; HFD, white bar; $n=4-10$ animals per group; mean \pm SEM; *Student's t test and Mann–Whitney test: * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

Analysis of data

The results of real-time RT-PCR were calculated based on the $-\Delta\Delta C_t$ method and expressed as fold induction of mRNA expression compared with the housekeeping gene (1.0-fold induction). Values are shown as means \pm standard error of the mean (SEM). Mann–Whitney test or Student's t test were used to test significance at the given time

points. A P -value less than 0.05 was considered significant. Densitometric analysis of protein bands was performed using Bio-Rad ImageLab software (Bio-Rad, Munich, Germany). Band intensities from samples were normalized for loading using the β -Actin band from the same sample.

Results

Maternal obesity induces obese body composition with sex-dependent distribution in the offspring

Maternal obesity was induced in virgin female mice by feeding HFD for 8 weeks prior mating; the future control dams (Co) received standard diet. Both groups continued on their respective diets during pregnancy and lactation. The offspring were investigated and divided in four groups: Co^{male}, Co^{female}, HFD^{male} and HFD^{female}. First, we queried if there are sex-dependent differences regarding the impact of maternal obesity on body weight. At P21, both body weight and relative WAT were slightly higher in HFD^{male} when compared with Co^{male}, respectively; in contrast, females did not exhibit differences in body weight, but a mild increase in fat mass after maternal obesity (Figure 1A). At P70, we found the opposing effect: the body weight was rather reduced, whereas the relative WAT was significantly higher in HFD^{male} when compared with Co^{male}. On the contrary, HFD^{female} exhibited a similar body weight like Co^{female} and the relative WAT was not significantly higher (Figure 1B). We next performed MRI studies to measure body volume (ml) and fat fraction (%) in the offspring. Representative MRI images illustrate fat mass and distribution in HFD^{male} and HFD^{female} in comparison with their respective controls Co^{male} and Co^{female} at P21 (Figure 2A) and P70 (Figure 2C). At P21, the body volume was slightly augmented in males after HFD and significantly higher in females. Likewise, the fat fraction was markedly greater in HFD^{male} than Co^{male}, this effect was even more pronounced in HFD^{female} (Figure 2B). At P70, we found no effect of maternal obesity on body volume, but the fat fraction remained significantly higher in males and slightly in females after maternal obesity. However, the fat fraction in females after maternal obesity compared with Co^{female} was less augmented at P70 than at P21, indicating a partial reversal coupled with a physiological increase in WAT in females (Figure 2D). Finally, we studied if the time- and sex-dependent effects of maternal obesity on inflammatory response, differentiation and metabolism of adipose tissue have long-term effects on body composition and adipocyte size in the offspring. Representative MRI images at P120 are shown in Figure 2E. There were no differences in body volume between Co and HFD in males or females. The fat fraction, however, was higher by almost two-fold in HFD^{male} and HFD^{female} when compared with the sex-matched control (Figure 2F).

We next analyzed WAT distribution by measuring the mass of the different compartments after dissection. At P21, we determined a marked increase in retroperitoneal and pgWAT in HFD^{male} when compared with Co^{male}, whereas in females only pgWAT was higher after maternal obesity (Figure 2G). At P70, we observed a shift in WAT distribution in males with a marked increase in subcutaneous WAT in both HFD^{males} and HFD^{females} when compared with Co^{male}

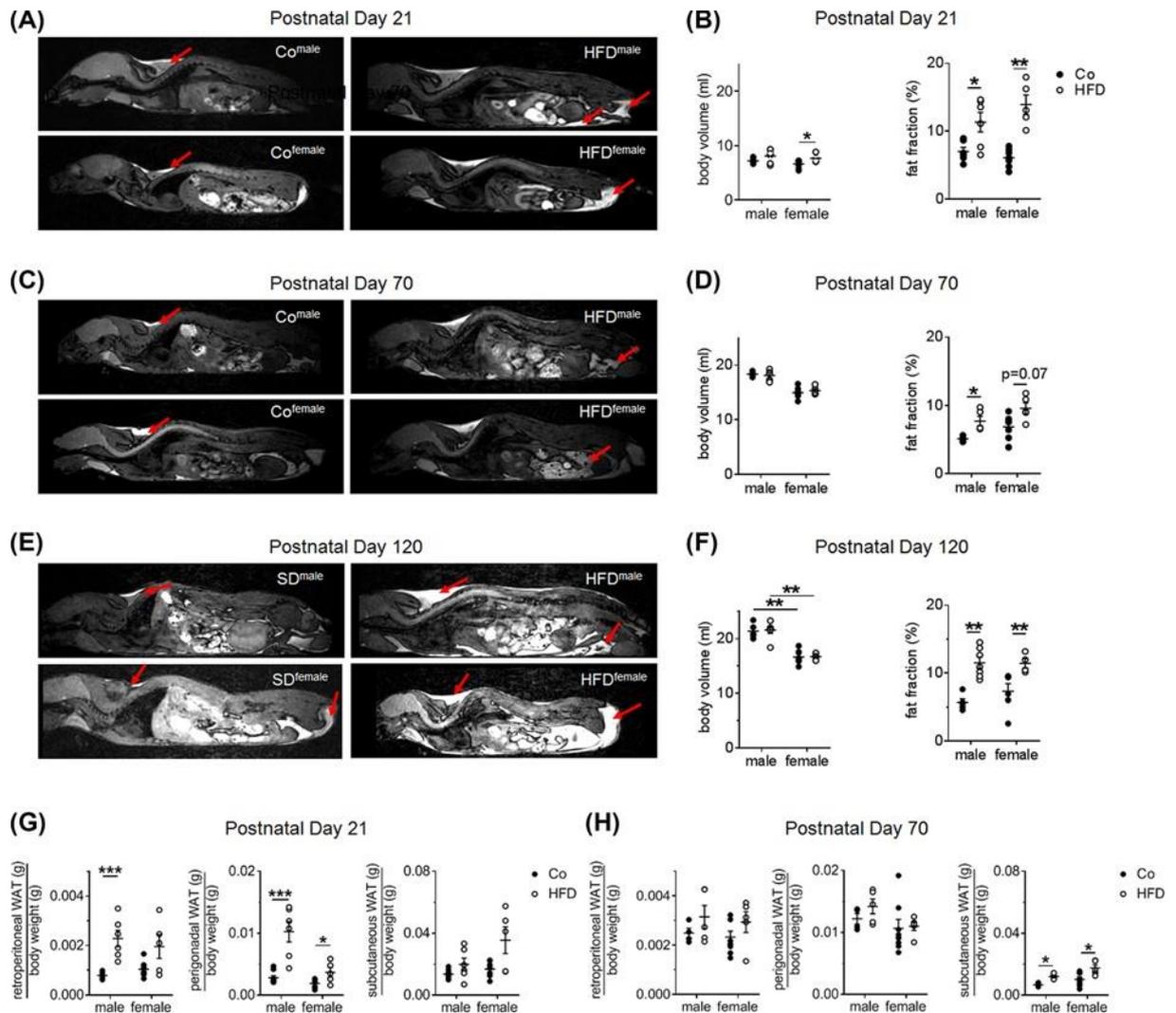


Figure 2. **Assessment of body composition and fat distribution**

(A,B) Representative MRI images showing male and female offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P21 (A) Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female}, and HFD^{female}; red arrows are depicting fat tissue. Measurement of body volume (ml) and fat fraction (%) are shown next to the MRI images (B). (C,D) Representative MRI images showing Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female} and HFD^{female} at P70 (C); red arrows are depicting fat tissue. The respective body volume (ml) and fat fraction (%) are shown next to the MRI images (D). (E,F) Assessment of long-term body composition. Representative MRI images showing male and female offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P120: Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female} and HFD^{female}, red arrows are depicting fat tissue (E). Measurements of body volume (ml) and fat fraction (%) are shown next to the MRI images (F). (G,H) Measurement of dissected WAT in different compartments in gram relative to body weight in grams from Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female} and HFD^{female} at P21 (G) and P70 (H) retroperitoneal, pg and subcutaneous. Co, black bar; HFD, white bar; $n=4-12$ animals per group; mean \pm SEM; *Mann–Whitney test: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$.

or Co^{female}, respectively (Figure 2H). In conclusion, maternal obesity has a modest impact on body weight in both sexes, but induces a persistent obese body composition with a sex-dependent fat distribution.

Maternal obesity programs adipocyte size in a sex-dependent manner

Having shown that maternal obesity induces an obese body composition and a sex-dependent fat distribution let us study the adipocyte size. Since our previous studies investigated pgWAT and the distribution of pgWAT was markedly different in male and female offspring after maternal obesity in the present study, we performed quantitative histomorphometric analysis using this WAT. Representative H&E-stained images are displayed in Figure 3A (P21), B (P70) and C (P120).

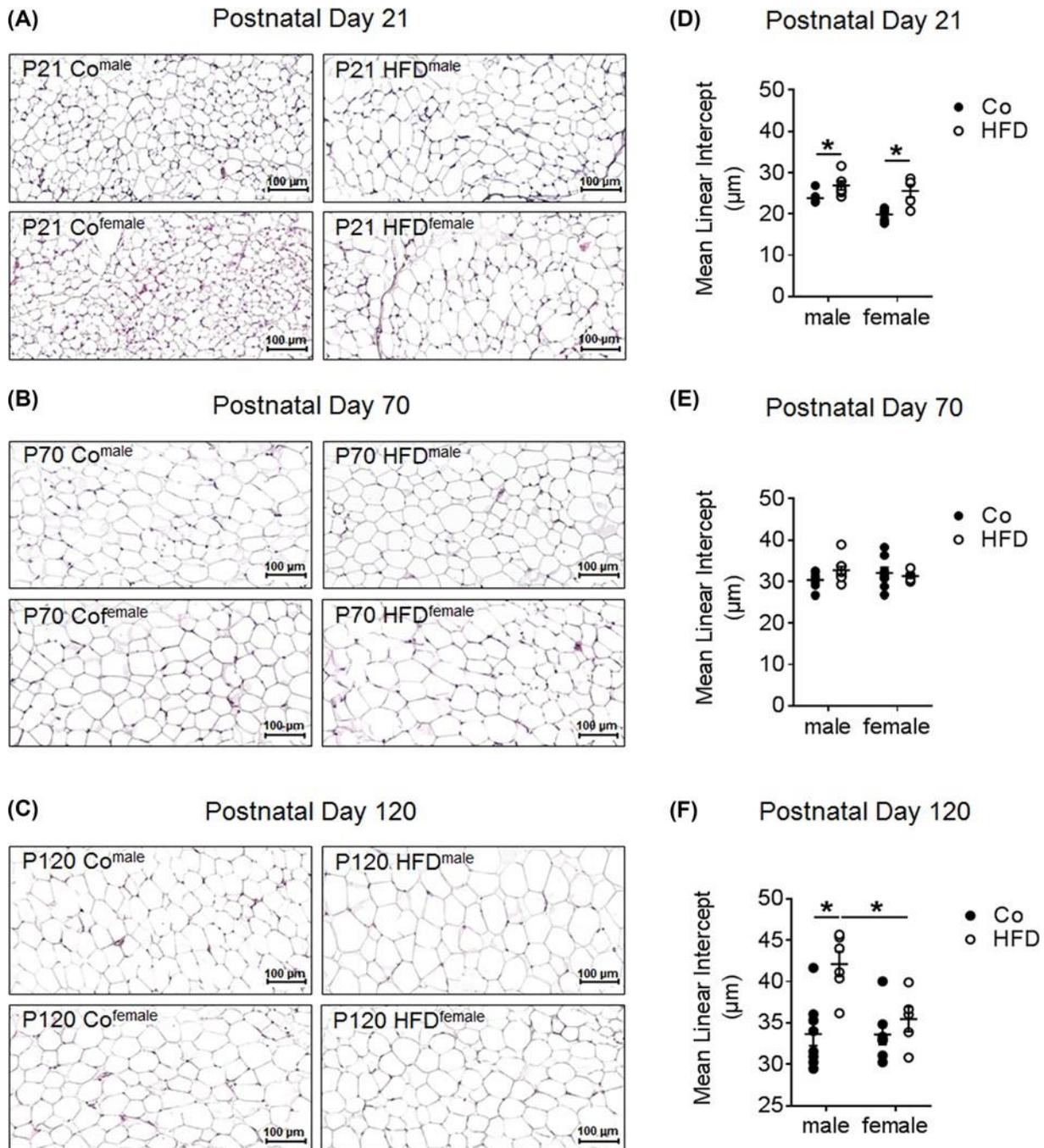


Figure 3. **Quantitative histomorphometric analysis of adipocyte size in pgWAT**

(A–C) Representative images of H&E-stained WAT sections from male and female offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P21 (A), P70 (B), and P120 (C) Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female}, and HFD^{female}. (D–F) Assessment of adipocyte size at P21 (D), P70 (E), and P120 (F) using MLI (µm) as an indicator. Co, black bar; HFD, white bar; $n=4-9$ animals per group; mean \pm SEM; *Mann–Whitney test: $P<0.05$.

Assessment of MLI as an indicator of adipocyte size showed a significant increase in both HFD^{male} and HFD^{female} when compared with the respective Co group at P21 (Figure 3D). At P70, however, the MLI remained slightly higher in HFD^{male} ($P 0.07$), but not in HFD^{female} (Figure 3E). Finally, we analyzed the size of adipocytes at P120 and determined a sex-dependent increase in adipocyte size in the offspring after maternal obesity. HFD^{male} exhibited a significant greater MLI when compared with Co^{male}. Adipocyte size of females, however, was not altered by HFD (Figure 3F).

These data demonstrate a persistent effect of maternal obesity on adipocyte size in males, whereas females recover. In summary, the data show a sex-dependent long-term programming effect of maternal obesity with a persistent obese body composition in both female and male offspring, whereas adipocyte hypertrophy only persisted in males.

Sex-dependent metabolic programming of the inflammatory response in pgWAT

Inflammation is a hallmark of adipose tissue dysfunction and metabolic diseases. Hence, we next analyzed the gene expression of inflammatory mediators in pgWAT in the *early* (P21) and *late phase* (P70). *Early phase* (P21): we found a moderate increase in leptin (*Lep*) mRNA in HFD^{male}, but not HFD^{female} compared with Co^{male} and Co^{female}, respectively (Figure 4A). In contrast, adiponectin (*AdipoQ*) mRNA expression was higher in females after maternal obesity, whereas males were not affected (Figure 4B). Interestingly, key inflammatory macrophage markers, such as interleukin 1 β (*Il1 β*) and metalloproteinase 12 (*Mmp12*), were up-regulated in females after maternal obesity when compared with HFD^{male} (Figure 4C,D). We next assessed the activation of the inflammatory p38 signaling and found a two-fold greater phosphorylation of p38 (pp38) relative to total p38 that was rather reduced in females after maternal obesity than in males (Figure 4E). When p38 was compared with the loading control (β -Actin) we only found a significantly greater activation in SD^{female} than SD^{male}, possible due to interindividual variability.

Late phase (P70): we found a marked sex-dependent reversal of the early inflammatory and metabolic response of pgWAT. The *Lep* expression was not only lower in HFD^{male} when compared with Co^{male}, but also in general lower in females than males. *AdipoQ* mRNA was neither significantly regulated by sex nor by maternal obesity (Figure 4F,G). Regarding inflammatory markers, HFD did not affect the expression of *Il1 β* and *Mmp12* in either sex; however, both genes were significantly lower by up to 80% in females when compared with males (Figure 4H,I). While phosphorylated p38 relative to total p38 was not regulated by maternal obesity, it was lower in Co^{female} than in Co^{male} (Figure 4J), suggesting a time- and sex-dependent inflammatory expression pattern in adipose tissue.

Maternal obesity has long-term sex-dependent effects on the cell cycle machinery of adipocytes

The preceding results demonstrate changes in adipocyte size and the inflammatory expression pattern. We next tested, if these changes are related to altered expression of cell cycle-regulating genes in pgWAT. At the *early phase* (P21; Figure 5A–E) we determined no sex- or HFD-dependent effect on gene expression of cyclin-dependent kinase inhibitor 1a (*Cdkn1a*, P21), cyclin-dependent kinase inhibitor 1b (*Cdkn1b*, P27), cyclin D1 (*Ccnd1*) and NAD-dependent deacetylase sirtuin-1 (*Sirt1*); however, gene expression of cyclin-dependent kinase inhibitor 2a (*Cdkn2a*, P16) was regulated by sex with a significant increase in Co^{female} when compared with Co^{male}.

On the contrary, we determined marked regulation of the aforementioned cell cycle regulating genes at the *late phase* (P70, Figure 5F–J): Cell cycle inhibitory markers (*Cdkn1b* and *Cdkn2a*, *Sirt1*) were significantly reduced in a sex-dependent manner in HFD^{female} compared with Co^{female}. Gene expression of *Cdkn1a* was neither regulated by sex or maternal obesity. However, the proliferative marker *Ccnd1* was significantly up-regulated in HFD^{male} when compared with Co^{male} and not affected in females. In summary, these findings demonstrate a time- and sex-dependent expression of genes encoding for cell cycle-regulating markers, favoring proliferation in females, but less in males after maternal obesity.

Differentiation of adipocytes is time- and sex-dependent after maternal obesity

Preadipocytes are central in adipogenesis and adipose tissue function. They not only serve as progenitors of adipocytes, but they also contribute to adipose tissue dysfunction by adopting inflammatory macrophage-like or senescence-associated phenotype. Therefore, we assessed differentiation markers, such as Perilipin1 and 2 (*Plin1* and *Plin2*) in pgWAT at P21 and P70. At the *early phase* (P21, Figure 6A), we found that both HFD^{female} and Co^{female} express more *Plin1* and *Plin2* than HFD^{male} and Co^{male}, respectively. Interestingly, maternal obesity reduced *Plin2* mRNA significantly in females, but not males when compared with the sex-matched controls. Similarly, gene expression of Krüppel-like factor 4 (*Klf4*; regulator of cell survival and differentiation) was significantly lower in HFD^{female} than in HFD^{male}. Gene expression of Catenin β 1 (*Ctnnb1*; regulator of stemness) was not regulated by sex or maternal obesity. At the *late phase* (P70, Figure 6C), we found a lower *Plin1* and *Plin2* mRNA after maternal obesity independent of sex. Interestingly, the gene expression of *Klf4* and *Ctnnb1* was significantly lower in HFD^{female} when compared with either Co^{female} or HFD^{male}. To further investigate if the differentiation of preadipocytes is regulated

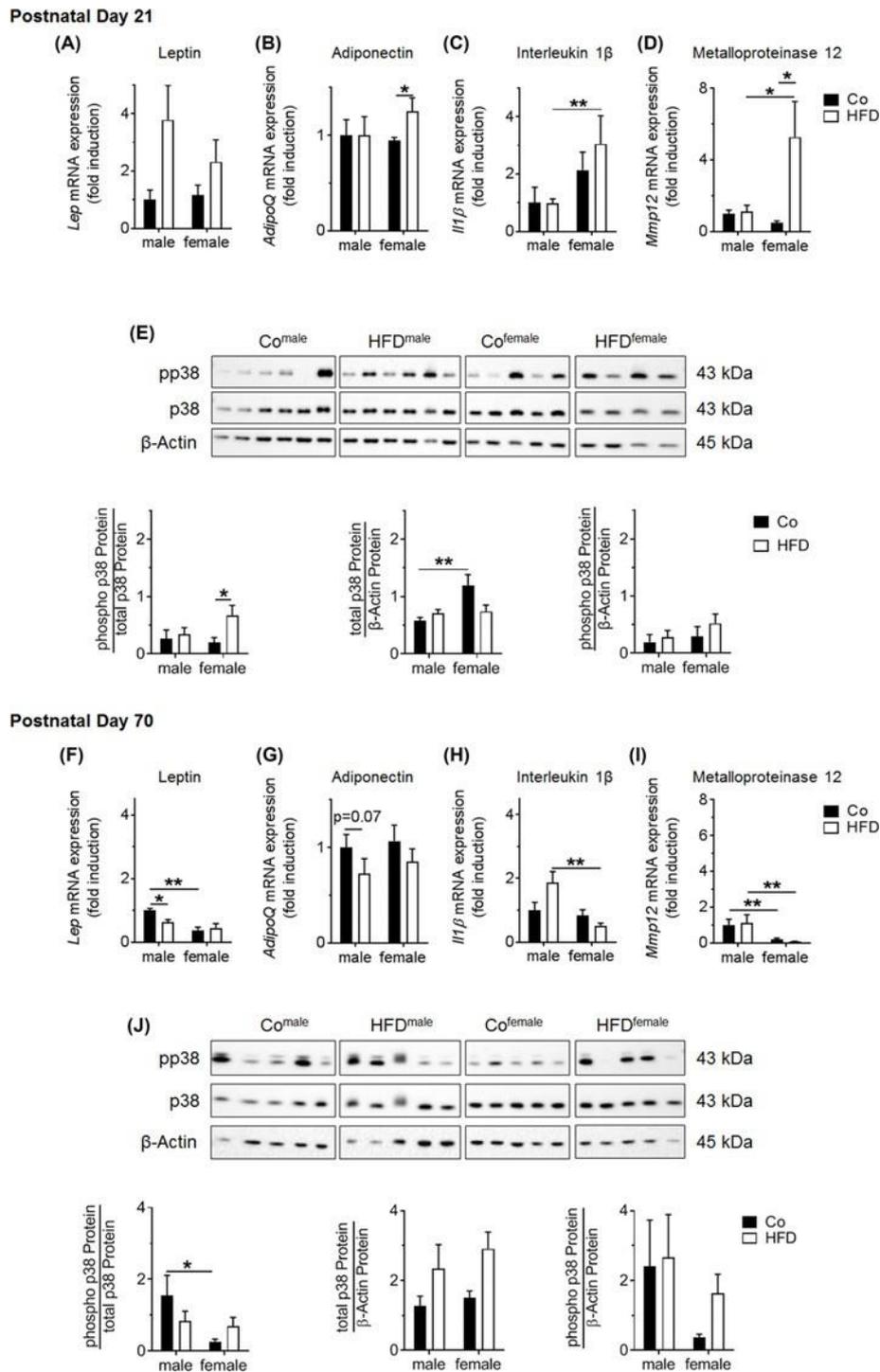


Figure 4. Assessment of adipokine expression and p38 signaling in pgWAT after maternal obesity at P21(A–E) and P70 (F–J). (A–D,F–I) Measurement of gene expression in WAT in male and female offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P21 (A–E) and P70 (F–J) using qRT-PCR: Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female} and HFD^{female}. Adipokines: leptin (*Lep*; A,F); adiponectin (*AdipoQ*; B,G); interleukin 1 β (*Il1 β* ; C,H) and metalloproteinase 12 (*Mmp12*; D,I). (E,J) Immunoblot showing phosphorylated p38 (pp38) and total p38 in WAT of Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female} and HFD^{female} at P21 (E) and P70 (J); β -Actin served as loading control. The quantitative densitometric summary is shown next to respective immunoblot; pp38 was related to total p38 or β -Actin; total p38 was related to β -Actin. Co, black bar; HFD, white bar; $n=4-8$ animals per group; mean \pm SEM; *Mann–Whitney test: * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

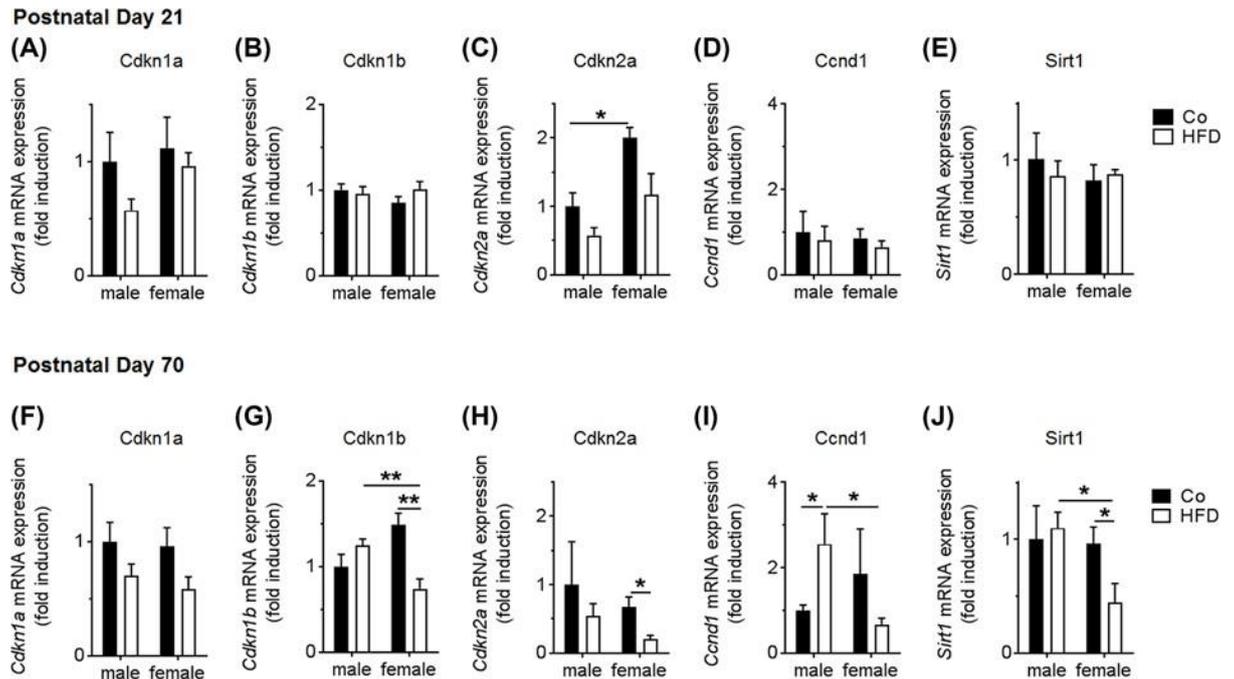


Figure 5.

Assessment of the expression of genes encoding cell cycle regulators in pgWAT from male and female offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P21 (A–E) and P70 (F–J) using qRT-PCR: Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female} and HFD^{female}. Genes: *Cdkn1a* (p21; A,F); *Cdkn1b* (p27; B,G); *Cdkn2a* (p16; C,H); *Ccnd1* (D,I); NAD-dependent deacetylase *Sirt1* (E,J). Co, black bar; HFD, white bar; *n*=4–6 animals per group; mean ± SEM; *Mann–Whitney test: **P*<0.05; ***P*<0.01.

in a sex-specific manner after maternal obesity, we assessed protein abundance of DLK, which inhibits preadipocyte differentiation as well adipogenesis. At P21, but not P70 we found a markedly lower DLK in males, but not females after maternal obesity (Figure 6B,D). In summary, maternal obesity regulates differentiation markers of adipocytes in a time- and sex-specific manner.

Maternal obesity regulates AMPK α and Akt signaling in a sex-dependent manner

Energy metabolism and differentiation of adipocytes are important in the maintenance of adipose tissue function. Since both AMPK α and Akt signaling are central in these processes and regulated by cytokines and hormones, we studied their activation in pgWAT using immunoblots. *Early phase* (P21; Figure 7A,C): first, we assessed phosphorylated AMPK α (pAMPK α) relative to total AMPK α and found lower activation in Co^{female} when compared with Co^{males}. Maternal obesity, however, increased pAMPK α in males significantly and in females slightly (*P* 0.06). Second, we measured phosphorylated Akt (pAkt) and found sex-dependent differences with a greater activation in HFD^{female} than in HFD^{male}. At the *late phase* (P70; Figure 7B,D) we determined opposing effects: pAMPK α was significantly lower in Co^{female} than in Co^{male}. Maternal obesity only reduced AMPK α signaling in males, but did not have any effect in females. On the other hand, pAkt was greater in HFD^{male} when compared with HFD^{female}. In summary, maternal obesity regulates AMPK α and Akt signaling in a time- and sex-dependent manner. At the early phase, AMPK α and Akt are markedly activated in males and females, respectively; whereas this shifts at the late phase, possibly reflecting a sex-dependent imbalance in adipokines and insulin sensitivity.

Maternal obesity regulates adipocyte metabolism in a sex-dependent manner

To determine if adipocyte metabolism is differently regulated in the long-term in males and females after maternal obesity we assessed gene expression of monoacylglycerol lipase (*Mgl1*), sterol regulatory element-binding protein (*Srebp1*) and fatty acid-binding protein 4 (*Fabp4*) in pgWAT at P70.

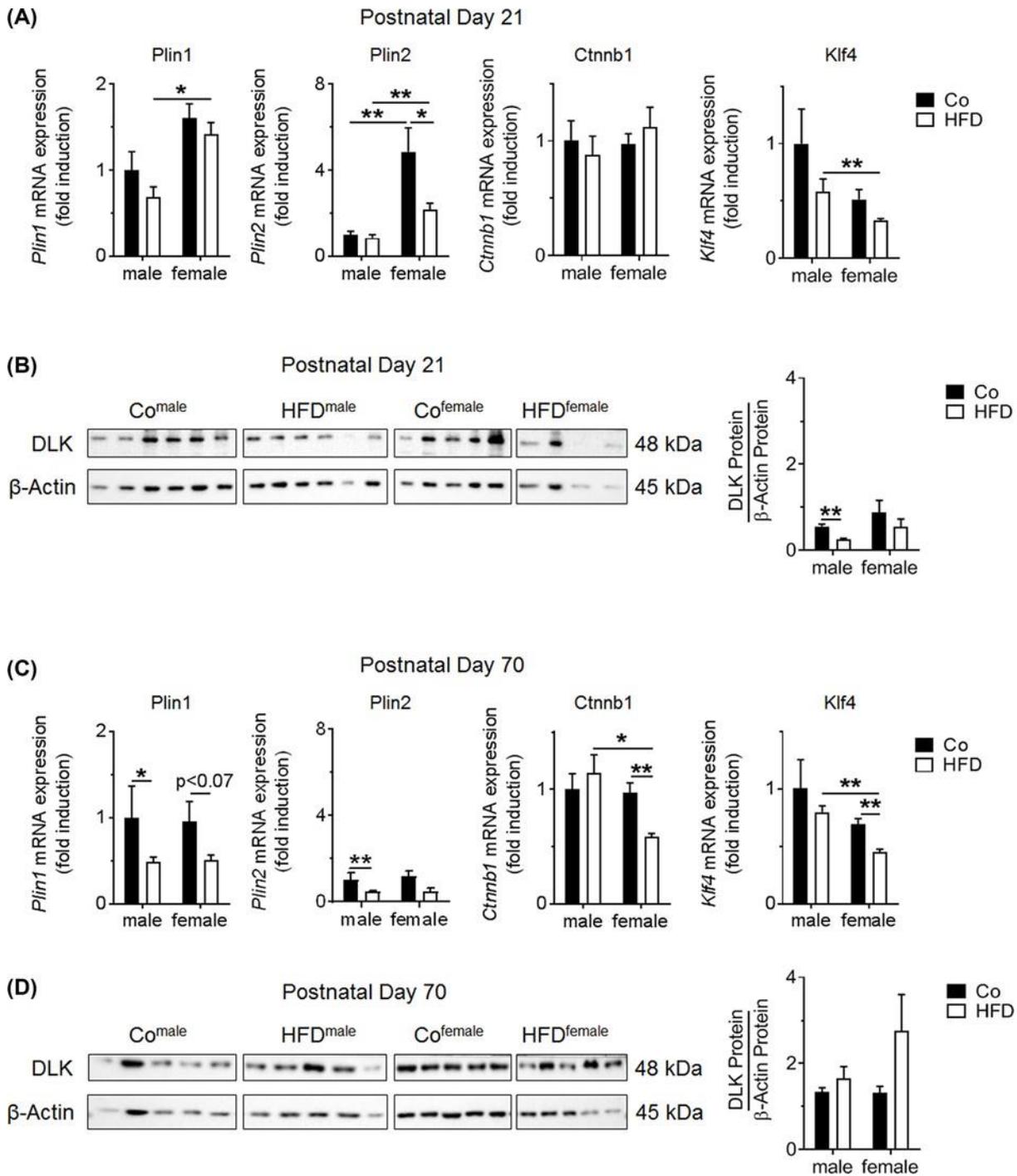


Figure 6.

(A,C) Measurement of the expression of genes encoding regulators of adipocyte differentiation and stemness in pgWAT from male and female offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P21 (A) and P70 (C) using qRT-PCR: Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female} and HFD^{female}. Genes: *Plin1*; *Plin2*; *Klf4*; *Ctnnb1*. (B,D) Immunoblot for DLK (Pref1) as an adipocyte differentiation marker in WAT at P21 (B) and P70 (D); β -Actin served as loading control. The quantitative densitometric summary is shown below to respective immunoblot; DLK was related to β -Actin. Co, black bar; HFD, white bar; $n=4-6$ animals per group; mean \pm SEM; *Mann-Whitney test: * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

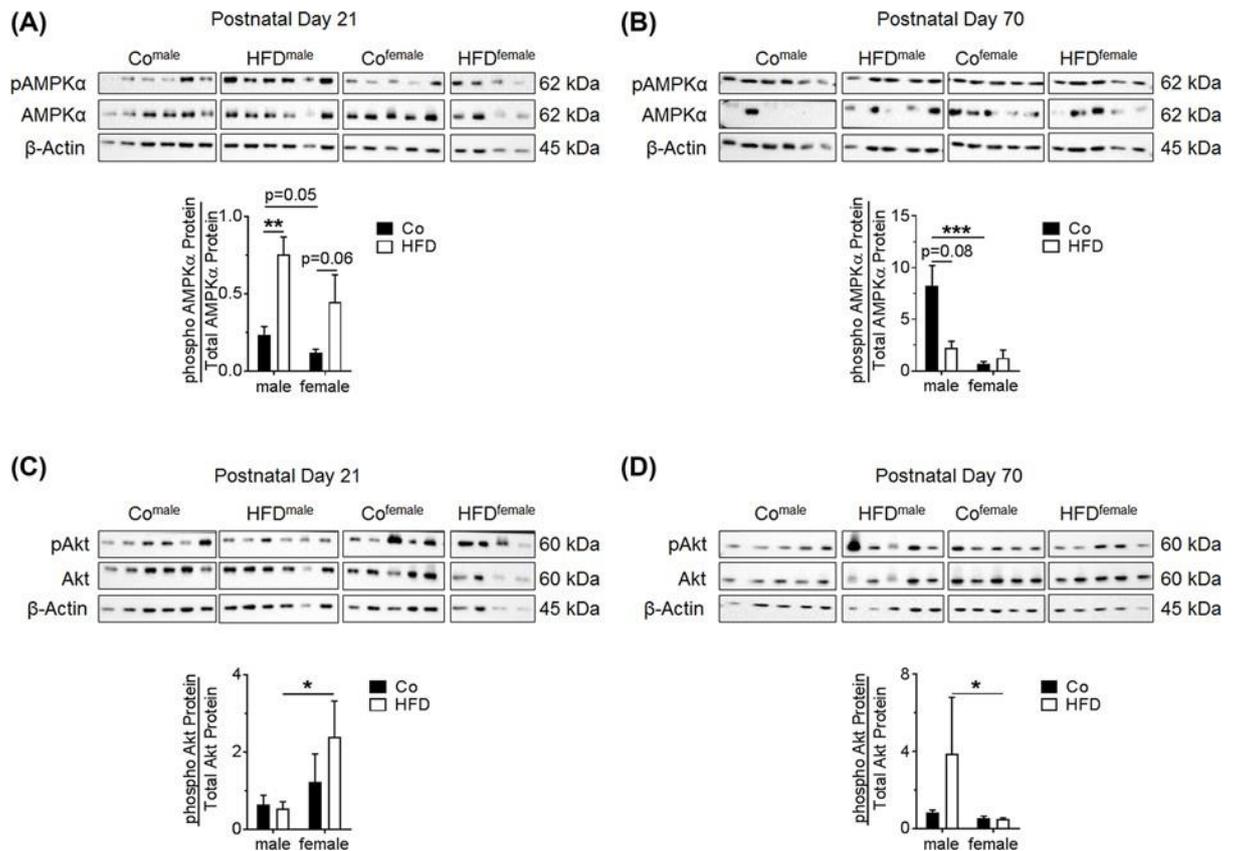


Figure 7.

(A,B) Immunoblot for pAMPK α and total AMPK α as an indicator of adipokine signaling and regulator of adipocyte homeostasis in pgWAT from male and female offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P21 (A) and P70 (B); β -Actin served as loading control. The quantitative densitometric summary is shown below to respective immunoblot; pAMPK α was related to total AMPK α or β -Actin; total AMPK α was related to β -Actin. (C,D) Immunoblot for pAkt and total Akt as an indicator of insulin signaling in WAT at P21 (C) and P70 (D); β -Actin served as loading control. The quantitative densitometric summary is shown below to respective immunoblot; pAkt was related to total Akt or β -Actin; total Akt was related to β -Actin. Co, black bar; HFD, white bar; $n=4-6$ animals per group; mean \pm SEM; *Mann-Whitney test: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$.

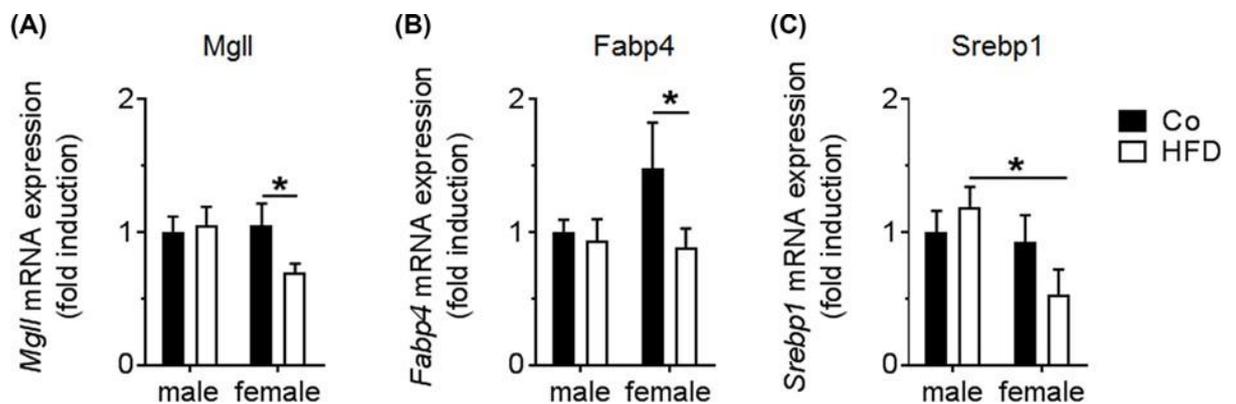


Figure 8. Assessment of expression of genes encoding regulators of adipocyte metabolism in pgWAT from male and female offspring of obese HFD-fed and control (standard diet-fed, Co) dams at P70 using qRT-PCR: Co^{male}, HFD^{male}, Co^{female} and HFD^{female}

Genes: *Mgl1* (A); *Fabp4* (B); *Srebp1* (C). Co, black bar; HFD, white bar; $n=5-8$ animals per group; mean \pm SEM; *Mann-Whitney test: * $P<0.05$.

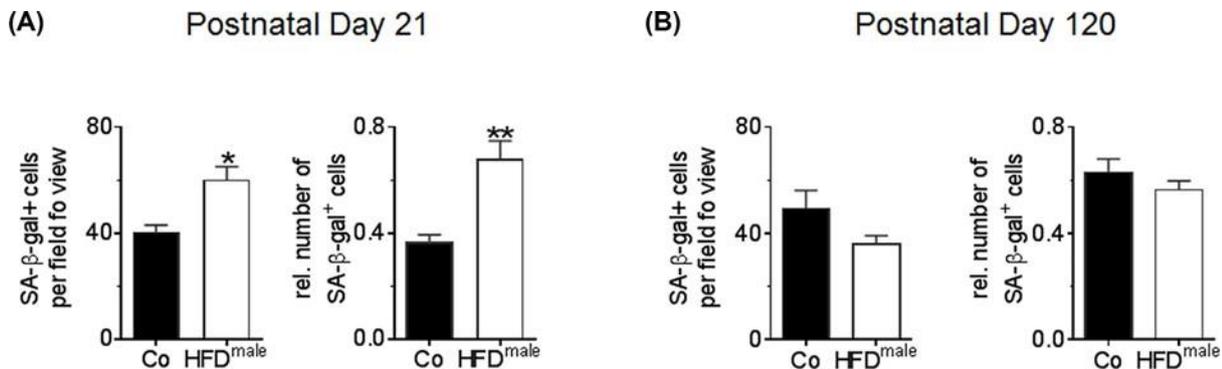


Figure 9.

SA-β-gal staining to assess senescent cells in pgWAT from male offspring of obese HFD-fed (HFD^{male}; black bar) and control (standard diet-fed, Co; white bar) dams at P21 (A) and P120 (B). The graphs display SA-β-gal positive cells per field of view or the number of SA-β-gal positive cells related to all cells; $n=5-8$ animals per group; mean \pm SEM; *Mann-Whitney test: $*P<0.05$; ** $P<0.01$.

We found that *Mgll* (Figure 8A) and *Fabp4* (Figure 8B) were significantly lower in HFD^{female} when compared with Co^{female}. This effect was not detected in male offspring after maternal obesity. Moreover, we found that HFD^{female} expressed less *Srebp1* mRNA than HFD^{male} (Figure 8C), confirming a sex-specific programming effect of maternal obesity on adipocyte metabolism.

Maternal obesity induces a transient early senescence in adipocytes of male offspring

Since we found a markedly lower differentiation markers in male offspring after maternal obesity, we next assessed senescence using SA-β-gal staining. We found a higher number of SA-β-gal positive adipocytes per field of view and relative to all cells in pgWAT of male mice at the *early phase* (P21) (Figure 9A). At P120, however, we did not determine any differences in SA-β-gal staining between Co and HFD (similar for females) (Figure 9B).

Discussion

The present study demonstrates two phases of sex-dependent metabolic programming of adipose tissue in offspring of obese dams. First, we identified an *early phase* (P21) after maternal obesity with (i) an obese body composition, which was more pronounced in females than males; (ii) a sex-dependent distribution of the WAT; (iii) a hypertrophy of adipocytes in both sexes; (iv) a greater inflammatory response and leptin expression in females and males, respectively; (v) a sex-dependent activation of AMPK α and Akt pathway; (v) an increase in senescent adipocytes in male offspring.

Second, a *late phase* after maternal obesity was defined by (i) a persistent obese phenotype in both sexes, with a reversal of the hypertrophy of adipocytes and the inflammatory response in females and senescence in males; (iii) sex-dependent pro-proliferative and stemness inhibiting gene expression in females, but not males; (iv) a dysregulation of AMPK α and Akt signaling in WAT from male offspring; (v) a sex-dependent dysregulation of lipid metabolism in pgWAT. Finally, the obese body composition persisted in both females and males, whereas the histological assessment of pgWAT revealed sex-specific differences in adipocyte size.

Sex determines metabolic programming of an obese body composition and fat distribution

Clinical and experimental studies identified maternal obesity as a rising risk factor for the offspring's health and the origin of chronic diseases beyond infancy [5,6,10,31]. A hormonal imbalance coupled with the chronic subacute inflammatory state in obese individuals triggers metabolic disorder, such as insulin resistance and diabetes mellitus [32]. Prior studies confirmed that impaired metabolism and obesity in the offspring after maternal HFD are intimately linked to an inflammatory response. Moreover, we demonstrated higher levels of adipocytokines and hormones of the pgWAT in offspring of obese dams, which then contributed to renal and pulmonary metabolic programming [10,33]. There is accumulating evidence that susceptibility to metabolic disorders is sex-dependent. A significant heterogeneity exists between men and women developing the metabolic syndrome, in large part related to hormonal regulation of

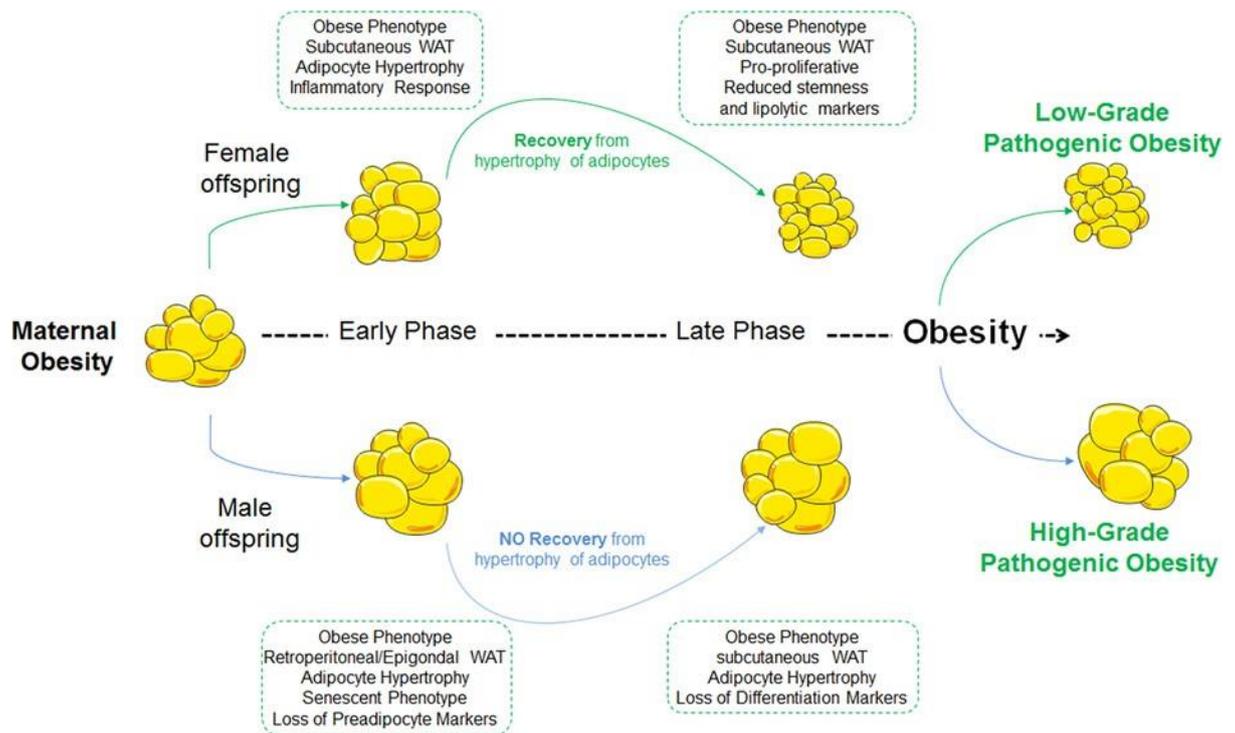


Figure 10. **Working model, in which we propose a sex-dependent metabolic programming of adipocyte tissue with an early phase (P21) and a late phase (P70) in offspring of obese dams**

This two-step metabolic programming results in a persistent obese phenotype with sex-specific persistent hypertrophy of adipocytes in males, but not females. Based on these findings we speculate that metabolic programming after maternal obesity favors low-grade pathogenic obesity in females and high-grade pathogenic obesity in males.

body fat distribution and metabolic abnormalities [34–38]. Here, we provide strong evidence that metabolic programming of the WAT is sex-dependent. First, while offspring of both sexes exhibit an obese body composition, obesity was more pronounced in females than males at the *early phase*. Interestingly, this phenotype partially reversed in females at the *later phase*, indicating sex-dependent mechanisms of the adipose tissue. The recovery in females may also be mediated by the reduced expression of anti-proliferative cyclin-dependent kinases. Second, the distribution of WAT is not only influenced by gender and age, but also related to aging-related diseases and metabolic syndrome [23,39]. We found marked differences in fat depots at the *early stage* with predominant retroperitoneal and pgWAT in males. Interestingly, the distribution in males shifted to subcutaneous in the *later phase*. These findings suggest a plasticity of the adipose tissue after metabolic programming during the *early phase*.

Sex-dependent metabolic programming of adipocyte size and adipogenic capacity

Whether WAT is a friend or foe is not necessarily defined by its amount, but rather by the localization, the size and the function of adipocytes. For example, hypertrophic adipocytes correlate with systemic insulin resistance, and differ from biochemical functions when compared with smaller adipocytes. These differences involve the expression of anti-inflammatory cytokines, such as adiponectin [40–42]. Prior studies showed that maternal obesity increases adipocyte size and expression of adipokines, including *leptin* and *Il6*, in male offspring [43]. Our present study linked a sex-specific inflammatory response in pgWAT of female offspring after maternal obesity to hypertrophy of adipocytes at the *early stage*; however, this greater adipocyte size was reversed in the *later phase*. In contrast, in males the hypertrophy of adipocytes persisted throughout life. Dysfunction of the adipose tissue has been identified as a hallmark of age-related diseases, including cardiovascular and metabolic disorders as well as cancer. In particular, an inflammatory microenvironment is characteristic of adipose tissue dysfunction in this context. Preadipocytes are not only central in adipogenesis, but also involved in inflammation through a senescent phenotype, characterized by reduced differentiation and an inflammatory secretome [25].

This has also been coined as a SASP, which is intimately linked to ageing and metabolic disorders [44,45]. Previous studies showed that maternal obesity increased the expression of adipocytokines, e.g. *Il6*, in male offspring, providing initial evidence of an inflammatory phenotype [33,43]. Our present study demonstrates further characteristics of SASP in male mice. For example at the *early stage*, senescence was more pronounced in the adipose tissue of male offspring, which was related to reduced expression of DLK (also known as *Pref1*), marker of preadipocyte differentiation [46]. *Pref1* was originally identified as an inhibitor of adipogenesis and adipocyte differentiation [47]. *Pref1* null mice exhibit obesity and elevated adipocyte markers. On the contrary, overexpression of *Pref1* decreased adipose mass [48–50]. We speculate that the loss of DLK (*Pref1*) in male offspring after maternal obesity may trigger the obese phenotype. The reduction in regulators of adipocyte differentiation or stemness, such as *Perilipin1* and *Perilipin2*, in male offspring after maternal obesity was also found during the *late phase* at P70. Both *Perilipin1* and *Perilipin2* are not only regulators of adipocyte metabolism and lipolysis, but they also regulate differentiation. Loss of these factors affects adipogenesis and triggers inflammation [51–54]. Interestingly, this marked inhibitory effect of maternal obesity on preadipocyte markers was only observed in males, and not in female offspring, suggesting that disruption of adipogenesis by maternal obesity is more effective in males and could account for the long-term sex-dependent changes in size of adipocytes. Since adipocyte size relates to an obese phenotype, our data indicate that metabolic programming may induce low- and high-grade pathogenic obesity in female and male, respectively.

Sex regulates metabolic programming of adipocyte metabolism

Adipocytokines and insulin are crucial in the maintenance of adipocyte homeostasis through AMPK α and Akt signaling pathways, respectively [55,56]. Insulin/Akt promotes the differentiation of preadipocytes to increase the adipose tissue storage capacity [57], and is thereby important in adipogenesis. In contrast, insulin resistance as seen in obese conditions is characteristic for adipose tissue dysfunction [56]. Similarly, AMPK is a key regulator of glucose and energy metabolism as well as stem cell function [55,58]. There is evidence that a lack of AMPK α induces obesity in response to nutrient-overload, identifying thereby AMPK α as a central regulator of adipocytes [55]. In the present study, AMPK α is activated in WAT of male and female offspring during the *early phase*, and contributes to maintenance of differentiation capacity of adipocytes. On the other hand, during the *late phase* AMPK α signaling was blocked in males, but not females, and thereby may affect adipocyte function and hypertrophy. Moreover, the hypertrophy of adipocytes in male offspring of obese dams compared with females may also be related to a marked activation of Akt signaling in males. Dysregulation of lipolysis and lipogenesis resulting in altered storage of lipids represents another possible explanation for sex-specific hypertrophy of adipocytes. Indeed, key enzymes involved in these processes were regulated in a sex-dependent manner. The expression of monoacylglycerol lipase (*Mgll*), *Srebp1* and *Fabp4* was down-regulated in female mice after maternal obesity when compared with either male offspring of obese dams or control females. Interestingly, *Mgll* null mice fed a HFD gained less body weight than wild-type mice and were protected from insulin resistance and hepatic steatosis [59]. Similarly, SREBP1 promotes hypertrophy of adipocytes and FABP4 is associated with metabolic health [60,61]. Reduced expression of these enzymes may in part explain improved adipocyte function and reversal of early metabolic programming in female offspring.

There are few limitations of the work that need to be discussed and addressed in future studies. Since previous studies from our group investigated pgWAT, we have focused on this compartment of adipose tissue in the present study as well. However, the subcutaneous WAT seems to be markedly affected by perinatal HFD and should be studied in-depth in future studies. Moreover, the question arises whether susceptibility to diet-induced obesity differs between male and female after birth. To this end, a second exposure of adult offspring of obese and lean dams should be performed in the future.

In conclusion, the present study provides a comprehensive analysis of sex-dependent metabolic programming of adipose tissue dysfunction and persistent obese body composition. We do not only demonstrate the long-term impact of maternal obesity on fat fraction and distribution, but we also show two phases of metabolic programming and how sex determines function of the pgWAT. Most intriguingly, female offspring show the capacity to reverse adipocyte hypertrophy and functional changes after the initial metabolic insult by maternal obesity. As depicted in Figure 10, the present study highlights the importance of sex- and gender-dependent differences in the pathogenesis of metabolic diseases, and provides new insights into the molecular mechanisms of sex-dependent metabolic programming of adipose tissue dysfunction, suggesting a low-grade and high grade pathogenic obesity in female and male after maternal obesity, respectively.

Clinical perspectives

- Adipogenesis and adipocyte function are tightly regulated by the microenvironment. Disruption of these processes by maternal obesity can result in metabolic programming of WAT, ultimately promoting obesity-related diseases. Our study aimed to identify molecular mechanisms determining adipocyte function in a sex-dependent manner.
- Maternal obesity induces sex-independent obese body composition and adipose tissue dysfunction in the offspring. While inflammatory signaling is activated in females early in life, the male offspring show early features of SASP and persistent adipocyte hypertrophy. Obesity persists in both sexes up to 3 months. Interestingly, WAT dysfunction and adipocyte hypertrophy reversed in female offspring, but not in male.
- Our data provide new insights into the molecular mechanisms of sex-dependent metabolic programming of WAT dysfunction and possible low- and high-grade pathogenic obesity. This sex-dependent metabolic programming could account for higher clinical susceptibility of males to obesity-related diseases.

Competing Interests

The authors declare that there are no competing interests associated with the manuscript.

Funding

This work was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft [grant number 1632/2-1 (to M.A.A.A.)]; Marga the und Walter Boll Stiftung [grant number 210-02-16 (to M.A.A.A.)]; the Boehringer Ingelheim Stiftung [grant number XXXX (to M.A.A.A.)]; the Center of Molecular Medicine Cologne (CMMC) [grant number XXXX]; the University Hospital Cologne [grant number XXXX (to M.A.A.A.)]; the Ko^o In Fortune, Faculty of Medicine and University Hospital Cologne, Germany [grant numbers 283/2017 (to K.D. and M.A.A.A.) , 321/2017 (to E.-K.H.)].

Author Contribution

K.D., T.P. and M.A.A.A. conceived and designed the research. T.L., E.-K.H., K.D., R.W., C.V., J.S., M.K., C.H. and M.A.A.A. performed the experiments. T.L., E.K.H., K.D., R.W., J.S., T.P. and M.A.A.A. analyzed the data. T.L., E.K.H., K.D., T.P., C.H., J.D. and M.A.A.A. interpreted the results of experiments. T.L., E.K.H. and M.A.A.A. prepared the figures. T.L., E.K.H. and M.A.A.A. drafted the manuscript. T.L., E.K.H., K.D., R.W., C.V., J.S., M.K., T.P., C.H., J.D. and M.A.A.A. approved the final version of manuscript. T.L., E.K.H. and M.A.A.A. edited and revised the manuscript.

Acknowledgements

The authors thank the Imaging Facility of Cluster of Excellence for Aging Research (CECAD) at the University of Cologne as well as the support of the Institute of Diagnostic and Interventional Radiology, University Hospital Cologne.

Abbreviations

DLK, Δ like non-canonical notch ligand; HFD, high-fat diet; MLI, mean linear intercept; MRI, magnetic resonance imaging; P, postnatal day; PFA, paraformaldehyde; pg, perigonadal; pgWAT, perigonadal white adipose tissue; pp38, phosphorylation of p38; Pref1, preadipocyte factor 1; RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction; SASP, senescent-associated secretory phenotype; SA- β -gal, senescence-associated β -galactosidase; WAT, white adipose tissue.

References

- 1 Ahrens, W. et al. (2014) Prevalence of overweight and obesity in European children below the age of 10. *Int. J. Obes. (Lond.)* **38**, S99–S107, <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.140>
- 2 Bornhorst, C. et al. (2016) Early life factors and inter-country heterogeneity in BMI growth trajectories of European children: the IDEFICS Study. *PLoS ONE* **11**, e0149268, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149268>
- 3 Ng, M. et al. (2014) Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* **384**, 766–781, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60460-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60460-8)

- 1 Nicholas, L.M. et al. (2015) The early origins of obesity and insulin resistance: timing, programming and mechanisms. *Int. J. Obes.* **40**, 229, <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.178>
- 2 Patro Golab, B. et al. (2018) Influence of maternal obesity on the association between common pregnancy complications and risk of childhood obesity: an individual participant data meta-analysis. *Lancet Child Adolesc. Health* **2**, 812–821, [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(18\)30273-6](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(18)30273-6)
- 3 Godfrey, K.M. et al. (2017) Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **5**, 53–64, [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(16\)30107-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(16)30107-3)
- 4 Williams, C.B., Mackenzie, K.C. and Gahagan, S. (2014) The effect of maternal obesity on the offspring. *Clin. Obstet. Gynecol.* **57**, 508–515, <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000043>
- 5 Sutton, E.F. et al. (2016) Developmental programming: state-of-the-science and future directions: summary from a Pennington Biomedical Symposium. *Obesity (Silver Spring)* **24**, 1018–1026, <https://doi.org/10.1002/oby.21487>
- 6 Plagemann, A. (2005) Perinatal programming and functional teratogenesis: impact on body weight regulation and obesity. *Physiol. Behav.* **86**, 661–668, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.065>
- 7 Kasper, P. et al. (2017) Renal metabolic programming is linked to the dynamic regulation of a Leptin-Klf15 axis and Akt/AMPKalpha signaling in male offspring of obese dams. *Endocrinology* **158**, 3399–3415, <https://doi.org/10.1210/en.2017-00489>
- 8 S^ˆnajder, D. et al. (2018) Effect of different combination of maternal and postnatal diet on adipose tissue morphology in male rat offspring. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 1–9
- 9 Lecoutre, S. and Breton, C. (2015) Maternal nutritional manipulations program adipose tissue dysfunction in offspring. *Front. Physiol.* **6**, <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00158>
- 10 Alfaradhi, M.Z. et al. (2016) Maternal obesity in pregnancy developmentally programs adipose tissue inflammation in young, lean male mice offspring. *Endocrinology* **157**, 4246–4256, <https://doi.org/10.1210/en.2016-1314>
- 11 Xu, H. et al. (2003) Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **112**, 1821–1830, <https://doi.org/10.1172/JCI200319451>
- 12 Tilg, H. and Moschen, A.R. (2006) Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **6**, 772–783, <https://doi.org/10.1038/nri1937>
- 13 Stubbins, R.E. et al. (2012) Estrogen alters adipocyte biology and protects female mice from adipocyte inflammation and insulin resistance. *Diabetes Obes. Metab.* **14**, 58–66
- 14 White, U.A. and Tchoukalova, Y.D. (2014) Sex dimorphism and depot differences in adipose tissue function. *Biochim. Biophys. Acta* **1842**, 377–392, <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.006>
- 15 Fuente-Martin, E. et al. (2013) Sex differences in adipose tissue: it is not only a question of quantity and distribution. *Adipocyte* **2**, 128–134, <https://doi.org/10.4161/adip.24075>
- 16 Beigh, S.H. and Jain, S. (2012) Prevalence of metabolic syndrome and gender differences. *Bioinformation* **8**, 613–616, <https://doi.org/10.6026/97320630008613>
- 17 Gustafson, B. (2010) Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb.* **17**, 332–341, <https://doi.org/10.5551/jat.3939>
- 21 Klo^ˆting, N. and Blu^ˆher, M. (2014) Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **15**, 277–287, <https://doi.org/10.1007/s11154-014-9301-0>
- 22 Borengasser, S.J. et al. (2013) Maternal obesity enhances white adipose tissue differentiation and alters genome-scale DNA methylation in male rat offspring. *Endocrinology* **154**, 4113–4125, <https://doi.org/10.1210/en.2012-2255>
- 23 Perez, L.M. et al. (2016) 'Adipaging': ageing and obesity share biological hallmarks related to a dysfunctional adipose tissue. *J. Physiol.* **594**, 3187–3207, <https://doi.org/10.1113/JP271691>
- 24 Stout, M.B. et al. (2017) Physiological aging: links among adipose tissue dysfunction, diabetes, and frailty. *Physiology* **32**, 9–19, <https://doi.org/10.1152/physiol.00012.2016>
- 25 Ghaben, A.L. and Scherer, P.E. (2019) Adipogenesis and metabolic health. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **20**, 242–258, <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0093-z>
- 26 Jeffery, E. et al. (2016) The adipose tissue microenvironment regulates depot-specific adipogenesis in obesity. *Cell Metab.* **24**, 142–150, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.012>
- 27 Pope, B.D. et al. (2016) Microenvironmental control of adipocyte fate and function. *Trends Cell Biol.* **26**, 745–755, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.05.005>
- 28 Dinger, K. et al. (2016) Early-onset obesity dysregulates pulmonary adipocytokine/insulin signaling and induces asthma-like disease in mice. *Sci. Rep.* **6**, 24168, <https://doi.org/10.1038/srep24168>
- 29 Alejandro-Alcázar, M.A. et al. (2007) Hyperoxia modulates TGF- β /BMP signaling in a mouse model of bronchopulmonary dysplasia. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **292**, L537–L549, <https://doi.org/10.1152/ajplung.00050.2006>
- 30 Alcazar, M.A.A. et al. (2012) Early postnatal hyperalimentation impairs renal function via SOCS-3 mediated renal postreceptor leptin resistance. *Endocrinology* **153**, 1397–1410, <https://doi.org/10.1210/en.2011-1670>
- 31 Heslehurst, N. et al. (2019) The association between maternal body mass index and child obesity: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* **16**, e1002817, <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002817>
- 32 Kahn, S.E., Hull, R.L. and Utzschneider, K.M. (2006) Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* **444**, 840–846, <https://doi.org/10.1038/nature05482>
- 33 Dinger, K. et al. (2016) Early-onset obesity dysregulates pulmonary adipocytokine/insulin signaling and induces asthma-like disease in mice. *Sci. Rep.* **6**, 24168, <https://doi.org/10.1038/srep24168>

- 22 Dearden, L., Bouret, S.G. and Ozanne, S.E. (2018) Sex and gender differences in developmental programming of metabolism. *Mol. Metab.* **15**, 8–19, <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.04.007>
- 23 Arpon, A. et al. (2019) Interaction among sex, aging, and epigenetic processes concerning visceral fat, insulin resistance, and dyslipidaemia. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* **10**, 496, <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00496>
- 24 Nguyen, L.T. et al. (2017) SIRT1 reduction is associated with sex-specific dysregulation of renal lipid metabolism and stress responses in offspring by maternal high-fat diet. *Sci. Rep.* **7**, 8982, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08694-4>
- 25 Chella Krishnan, K., Mehrabian, M. and Lusis, A.J. (2018) Sex differences in metabolism and cardiometabolic disorders. *Curr. Opin Lipidol.* **29**, 404–410, <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000536>
- 26 Pradhan, A.D. (2014) Sex differences in the metabolic syndrome: implications for cardiovascular health in women. *Clin. Chem.* **60**, 44–52, <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.202549>
- 27 Jura, M. and Kozak, L.P. (2016) Obesity and related consequences to ageing. *Age (Dordr.)* **38**, 23, <https://doi.org/10.1007/s11357-016-9884-3>
- 28 McLaughlin, T. et al. (2007) Enhanced proportion of small adipose cells in insulin-resistant vs insulin-sensitive obese individuals implicates impaired adipogenesis. *Diabetologia* **50**, 1707–1715, <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0708-y>
- 29 Lundgren, M. et al. (2007) Fat cell enlargement is an independent marker of insulin resistance and 'hyperleptinaemia'. *Diabetologia* **50**, 625–633, <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0572-1>
- 30 Meyer, L.K. et al. (2013) Adipose tissue depot and cell size dependency of adiponectin synthesis and secretion in human obesity. *Adipocyte* **2**, 217–226, <https://doi.org/10.4161/adip.24953>
- 31 Janoschek, R. et al. (2016) Dietary intervention in obese dams protects male offspring from WAT induction of TRPV4, adiposity, and hyperinsulinemia. *Obesity (Silver Spring)* **24**, 1266–1273, <https://doi.org/10.1002/oby.21486>
- 32 Xu, M. et al. (2015) Targeting senescent cells enhances adipogenesis and metabolic function in old age. *Elife* **4**, e12997, <https://doi.org/10.7554/eLife.12997>
- 33 Newsholme, P. and de Bittencourt, Jr, P.I. (2014) The fat cell senescence hypothesis: a mechanism responsible for abrogating the resolution of inflammation in chronic disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **17**, 295–305, <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000077>
- 34 Prestwich, T.C. and Macdougald, O.A. (2007) Wnt/beta-catenin signaling in adipogenesis and metabolism. *Curr. Opin. Cell Biol.* **19**, 612–617, <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2007.09.014>
- 35 Hudak, C.S. and Sul, H.S. (2013) Pref-1, a gatekeeper of adipogenesis. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* **4**, 79, <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00079>
- 48 Smas, C.M. and Sul, H.S. (1993) Pref-1, a protein containing EGF-like repeats, inhibits adipocyte differentiation. *Cell* **73**, 725–734, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90252-L](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90252-L)
- 49 Lee, K. et al. (2003) Inhibition of adipogenesis and development of glucose intolerance by soluble preadipocyte factor-1 (Pref-1). *J. Clin. Invest.* **111**, 453–461, <https://doi.org/10.1172/JCI15924>
- 50 Villena, J.A. et al. (2008) Resistance to high-fat diet-induced obesity but exacerbated insulin resistance in mice overexpressing preadipocyte factor-1 (Pref-1): a new model of partial lipodystrophy. *Diabetes* **57**, 3258–3266, <https://doi.org/10.2337/db07-1739>
- 51 Takahashi, Y. et al. (2016) Perilipin2 plays a positive role in adipocytes during lipolysis by escaping proteasomal degradation. *Sci. Rep.* **6**, 20975, <https://doi.org/10.1038/srep20975>
- 52 McManaman, J.L. et al. (2013) Perilipin-2-null mice are protected against diet-induced obesity, adipose inflammation, and fatty liver disease. *J. Lipid Res.* **54**, 1346–1359, <https://doi.org/10.1194/jlr.M035063>
- 53 Sohn, J.H. et al. (2018) Perilipin 1 (Plin1) deficiency promotes inflammatory responses in lean adipose tissue through lipid dysregulation. *J. Biol. Chem.* **293**, 13974–13988, <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.003541>
- 54 Lyu, Y. et al. (2015) Defective differentiation of adipose precursor cells from lipodystrophic mice lacking perilipin 1. *PLoS ONE* **10**, e0117536, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117536>
- 55 Wu, L. et al. (2018) AMP-activated protein kinase (AMPK) regulates energy metabolism through modulating thermogenesis in adipose tissue. *Front. Physiol.* **9**, 122, <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00122>
- 56 Shimobayashi, M. et al. (2018) Insulin resistance causes inflammation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* **128**, 1538–1550, <https://doi.org/10.1172/JCI96139>
- 57 Tomlinson, J.J. et al. (2010) Insulin sensitization of human preadipocytes through glucocorticoid hormone induction of forkhead transcription factors. *Mol. Endocrinol.* **24**, 104–113, <https://doi.org/10.1210/me.2009-0091>
- 58 Liu, Y. and Yamashita, J.K. (2019) AMPK activators contribute to maintain naive pluripotency in mouse embryonic stem cells. *Biochem. Biophys Res. Commun.* **509**, 24–31, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.11.164>
- 59 Yoshida, K. et al. (2019) Monoacylglycerol lipase deficiency affects diet-induced obesity, fat absorption, and feeding behavior in CB1 cannabinoid receptor-deficient mice. *FASEB J.* **33**, 2484–2497, <https://doi.org/10.1096/fj.201801203R>
- 60 Horton, J.D. et al. (2003) Overexpression of sterol regulatory element-binding protein-1a in mouse adipose tissue produces adipocyte hypertrophy, increased fatty acid secretion, and fatty liver. *J. Biol. Chem.* **278**, 36652–36660, <https://doi.org/10.1074/jbc.M306540200>
- 61 Prentice, K.J., Saksi, J. and Hotamisligil, G.S. (2019) Adipokine FABP4 integrates energy stores and counterregulatory metabolic responses. *J. Lipid Res.* **60**, 734–740, <https://doi.org/10.1194/jlr.S091793>

4. Ergebnisse

Die Promotionsarbeit wurde mit der Zielsetzung durchgeführt, den Einfluss HFD-induzierter mütterlicher Adipositas auf den Fettgewebsphänotypen der weiblichen Nachkommen sowie die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen zu erforschen. Da sich Adipositas hinsichtlich Ausprägung, Physiologie und dem damit assoziierten Risikoprofil für Folgeerkrankungen, wie in der Einleitung dargelegt, wesentlich unterscheidet, wurden analog zu meiner Arbeit die Effekte mütterlicher Adipositas auf männliche Nachkommen durch Herrn Thorsten Litzenburger in seiner Promotionsarbeit analysiert. Während Herr Litzenburger männliche Nachkommen untersucht hat, lag der Fokus meiner Studie ausschließlich auf weiblichen Nachkommen. Das ermöglichte eine klare Trennung beider Promotionsthemen.

Die wichtigsten Ergebnisse meiner Promotionsarbeit lassen sich in einer Phasen-abhängigen Veränderung der zuvor erläuterten Fettgewebsphysiologie darlegen.

Die *frühe Phase* (A-E), in dieser Studie auf den postnatalen Tag 21 (P21) festgelegt, geht mit (A) einer adipösen Körperkomposition der weiblichen Nachkommen infolge mütterlicher HFD einher; Es zeigte sich weiterhin, dass die metabolische Programmierung zu (B) einer Umverteilung der angelegten Körperfettdepots führt, insbesondere mit einer Zunahme des perigonadalen Fettgewebes; Die Adipozyten reagierten mit (C) einer Hypertrophie und (D) einem assoziierten höheren Inflammationspotenzial; Zusätzlich wurden (E) auf zellmolekularer Ebene Auswirkungen auf Stoffwechselprozesse im AMPK α -Signalweg nachgewiesen.

In der *späten Phase* an P70 (F-I) konnte als Effekt mütterlicher HFD (F) eine Persistenz des adipösen Phänotyps der weiblichen Nachkommen identifiziert werden. Interessanterweise zeigte sich weder eine Adipozytenhypertrophie noch eine gesteigerte Entzündungsantwort; Des Weiteren wurde (G) eine mögliche Proliferations-fördernde und Stammzell-inhibitorische Wirkung über entsprechende Genexpression beschrieben; (H) Eine Dysregulation im AMPK α - und AKT-Signalweg konnte in der späten Phase nicht festgestellt werden; Jedoch wurden (I) Veränderungen im Lipidmetabolismus bei der Untersuchung des perigonadalen Fettgewebes aufgezeigt.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass mütterliche HFD eine persistierende adipöse Körperkomposition weiblicher Nachkommen induziert. Während sich die frühe Adipozytenhypertrophie mit inflammatorischem Muster wieder zurückbildet, wurden in der Spätphase Proliferations-fördernde und Stammzell-inhibitorische Marker gemeinsam mit Veränderungen im Lipidmetabolismus identifiziert.

5. Diskussion

5.1 Auswirkungen der metabolischen Programmierung und deren Einordnung

5.1.1 Perinataler Energieüberschuss infolge mütterlicher HFD begünstigt eine Vermehrung des Körperfettanteils und moduliert Fettkompartimente im weiblichen murinen Nachwuchs

Unsere Forschungsgruppe lehnt sich in einigen Arbeiten methodisch an das Konzept der HFD-induzierten mütterlichen Adipositas an (s.o.). Bspw. bekräftigt die Studie von Dinger et al. einige Forschungshypothesen hinsichtlich der Auswirkung metabolischer Programmierung¹⁵⁰. Dort konnte u. a. bereits nachgewiesen werden, dass mütterliche HFD allein in der Stillzeit frühkindliches Übergewicht männlicher Nachkommen begünstigt. Im Vergleich dazu zeigten die Körpergewichtsmessungen der vorliegenden Arbeit keinen Effekt der diätetischen Maßnahme auf die weibliche HFD-Gruppe an P21. Diese heterogene Beobachtung deutet auf eine zeit- und geschlechtsabhängige Programmierung während vulnerabler Entwicklungsphasen hin und lässt sich anhand teilweise divergenter Forschungsergebnisse belegen¹⁵¹.

Während in der Studie von Dinger et al. Effekte einer Hyperalimentation in der Stillzeit untersucht wurden, gelang es bspw. der Arbeitsgruppe von Ensenaer et al. die perikonzeptionelle Phase als kritisches Zeitfenster zu spezifizieren¹⁵². Weder männliche noch weibliche Nachkommen wiesen ein verändertes Körpergewicht an P21 nach adipogener Exposition im perikonzeptionellen Entwicklungszeitraum auf. Als Langzeitfolge der metabolischen Programmierung konnten allerdings folgende geschlechtsspezifische Reaktionen nachgewiesen werden: Die männliche Untersuchungsgruppe zeigte neben metabolischen Störungen ein erhöhtes Körpergewicht im Vergleich zur Kontrollgruppe, wohingegen die weibliche Kohorte mit einer reduzierten Körperfettmasse bei unverändertem Körpergewicht imponierte¹⁵². In dem Tiermodell von Rattanatray et al., bei dem sich die diätetische Intervention ebenfalls auf die perikonzeptionelle Entwicklungsphase beschränkte, waren weder zum Geburtszeitpunkt noch im Alter von 4 Monaten Gewichtsunterschiede in den männlichen und weiblichen Untersuchungspopulationen detektierbar¹¹³. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass weitere Faktoren, wie bspw. Diätkomposition, Gesundheitsstatus des Muttertiers etc. (s.u.), die Ausprägung der perinatalen Programmierung beeinflussen¹⁴⁸.

In einer Studie von Hartil et al. wurde ähnlich unserem Modell die mütterliche HFD-Intervention 2 Wochen vor der Verpaarung begonnen und nach der Stillzeit beendet, wonach sich ein reduziertes Geburtsgewicht der männlichen Nachkommen zeigte. Die Weibchen wiesen wie in der vorliegenden Arbeit hingegen keine Gewichtsunterschiede auf¹⁵³.

Um bei unverändertem Körpergewicht der weiblichen HFD-Gruppe die Fettverteilung zu untersuchen, wurde darüber hinaus der Quotient aus totaler weißer Fettgewebssmasse, die *post mortem* durch Präparation des perigonadalen, subkutanen und retroperitonealen Fettdepots gewonnen wurde, und dem Gesamtkörpergewicht bestimmt. Dabei zeigte sich in der frühen Phase nur ein leicht erhöhter Anstieg der prozentualen Gesamtkörperfettmasse in der weiblichen HFD-Gruppe. Bei differenzierter Betrachtung der einzelnen Fettdepots konnte allerdings eine signifikante Gewichtszunahme des perigonadalen Fettkompartiments gemessen werden. Die unterstützende Bildgebung konnte den Verdacht auf eine adipöse Körperkomposition bekräftigen. In der Untersuchungsgruppe wurde in der MRT-Analyse an P21 nicht nur eine signifikante Vergrößerung des Körpervolumens festgestellt, sondern auch eine deutliche Zunahme der Fettfraktion gemessen.

In der späten Phase zeigte sich weiterhin kein Unterschied zwischen der HFD- und Co-Gruppe hinsichtlich der Körpergewichtsmessung. Zudem war weder eine Abweichung in der relativen totalen Fettgewebssmasse noch im MRT-ermittelten Körpervolumen nachweisbar, was auf eine mögliche transiente Erholung infolge der Diätumstellung von HFD auf SD zurückzuführen ist. Allerdings ist eine leicht erhöhte Fettfraktion der HFD-Gruppe ($p = 0,07$) beschrieben worden, die sich am ehesten auf den subkutanen Fettgewebsanteil projiziert. In der Fettdepotmessung konnte nämlich eine signifikante Zunahme der subkutanen Fettgewebssmasse detektiert werden. Mit der Frage, ob es sich bei diesen strukturellen Umbauvorgängen um langwirksame „Erholungsmechanismen“ handelt, ist eine Verlaufsuntersuchung als sinnvoll erachtet worden. Zu diesem Zweck wurden Gewichtsmessung und MRT-Analysen an P120 durchgeführt. Dabei zeigte sich kein Unterschied im Körpervolumen, Körpergewicht oder in der Verteilung der Fettdepots (siehe Anhang 1). Die adipöse Körperkomposition mit fast 2-fachem Anstieg der magnetresonanztomographisch gemessenen Fettfraktion in der HFD-Gruppe scheint jedoch eine langfristige Auswirkung der durch mütterliche HFD ausgelösten metabolischen Programmierung zu sein.

Zusammenfassend hat das vorliegende mütterliche HFD-Modell kaum Einfluss auf das Körpergewicht der Nachkommen, aber zeigt eine persistierende Zunahme des Fettanteils mit passagerer Modulation der Körperfettverteilung.

5.1.2 Mütterliche HFD induziert eine transiente, reversible Adipozytenhypertrophie

Eine Zunahme des (viszeralen) Fettgewebsanteils lässt sich in den Symptomkomplex des metabolischen Syndroms einreihen⁸. Gemeinsamkeit der fetalen Programmierung infolge mütterlicher HFD ist eine Manifestation verschiedener Merkmalsausprägungen, die im

Rahmen des metabolischen Syndroms auftreten. Zu diesen Veränderungen gehört unter anderem auch die Zunahme der durchschnittlichen Adipozytengröße^{151,154}.

Folglich führten wir eine histologische Analyse der Fettgewebszellen durch. Da sich, wie zuvor beschrieben, eine Gewichtszunahme des perigonadalen Fettgewebes in der HFD-Gruppe an P21 verzeichnen ließ und dem viszeralen Fettdepot hinsichtlich der Fettgewebsdysfunktion eine besondere Bedeutung zukommt, wurde entsprechendes Fettdepot weiblicher Nachkommen untersucht^{155,156}.

In der vorliegenden Studie wurde in der frühen Phase eine signifikante Erhöhung des *mean linear intercepts* (MLI; Parameter für die Adipozytengröße) in weiblichen Nachkommen von HFD-Muttertieren festgestellt. Dies lässt sich als Adipozytenhypertrophie interpretieren und kann eine Massenzunahme des perigonadalen Fettkompartiments bedingen. In der Praxis lässt sich ein Zusammenhang zwischen hypertrophen Adipozyten und Insulinresistenz herstellen¹⁵⁷, sodass diesem Aspekt eine klinische Bedeutung zukommt. Weitere Untersuchungen zur Überprüfung der metabolischen Funktion, bspw. durch den oralen Glukosetoleranztest⁸, sollten demnach in Folgestudien Anwendung finden.

Im Gegensatz zur frühen Phase war eine zelluläre Hypertrophie an P70 nicht mehr nachweisbar. Kongruent zu dieser Beobachtung verhält sich die Analyse des perigonadalen Fettgewebskompartiments an P70, bei dem sich kein Unterschied in der Masse zwischen Co- und HFD-Gruppe zeigte. Diese Dynamik lässt sich möglicherweise mit der Plastizität des Fettgewebes begründen, welche strukturelle Umbauprozesse über die gesamte Lebensspanne hinweg ermöglichen^{16,130}. Insbesondere das viszerale Fettdepot weist darüber hinaus ein starkes angiogenes Potential auf, sodass infolge ausreichender Vaskularisation eine gesunde Fettgewebsstruktur aufgebaut und hypoxische Schäden im Sinne einer inflammatorischen Reaktion neutralisiert werden könnten¹⁵⁸. Diese Theorie wird durch die von Rudnicki et al. präsentierten Ergebnisse ergänzt. In einem murinen HFD-Modell zeigte die weibliche Untersuchungskohorte eine stärkere Kapillarisation des perigonadalen Fettdepots mit erhöhter Expression pro-angiogener Mediatoren nach 16-wöchiger HFD. Zusätzlich wurde bei den männlichen Untersuchungstieren eine signifikante Gewichtszunahme nach HFD-Exposition im Gegensatz zur weiblichen HFD-Kohorte beschrieben, die mit einer gestörten Glukosetoleranz assoziiert war. Diese Studie unterstreicht eine geschlechtsspezifische Reaktion auf die veränderte Stoffwechsellage infolge der HFD¹⁵⁹. An dieser Stelle sei erwähnt, dass eine Studie von Stubbins et al. Östrogen einen modulierenden Effekt auf die Adipozytengröße zuschrieb; Östrogen schütze vor einer HFD-induzierten Hypertrophie der Adipozyten. Folge ist ein reduziertes Inflammationspotential mit Erhalt der Insulinsensitivität¹⁶⁰.

Die in der vorliegenden Studie an P70 beobachtete Angleichung der Adipozytengröße von Nachkommen HFD-gefütterter Muttertiere an die Kontrollgruppe besteht auch an P120. Dies

lässt sich neben der Diätumstellung gegebenenfalls auf postpubertär konstant hohe Östrogenspiegel zurückführen ¹⁶¹ und vermag Ausdruck einer kompensierten Stoffwechsellage sein.

Die Reversibilität der Adipozytenhypertrophie in den weiblichen Nachkommen nach Umstellung von HFD auf SD wird in der Publikation von Larson-Meyer et al. untermauert. Diese Studie konnte eine Korrelation zwischen Lebensstiländerung und Reduktion der Adipozytengröße herausarbeiten ¹⁶², die mit einer verbesserten Stoffwechsellage einhergehen ¹⁶³. Diätinterventionen und körperliche Aktivität sind unerlässlich in der Primärprävention von Adipositas und konnten in klinischen Studien bereits Gesundheitserfolge für Mutter und Kind erzielen ¹⁶⁴.

In Zusammenschau der präsentierten Ergebnisse lässt sich ableiten, dass die mütterliche HFD in der frühen Phase Anzeichen der Fettgewebisdysfunktion in Form von Adipozytenhypertrophie, erhöhter Fettfraktion und viszeraler Adipositas bei den weiblichen Nachkommen erkennen lässt. Es bleibt allerdings offen, ob diese Beobachtungen auf der mütterlichen HFD *per se* oder einer gestörten Stoffwechselsituation des Muttertiers beruhen, da keine Erfassung des mütterlichen Gesundheitsstatus erfolgt ist. Nichtsdestotrotz scheinen im Verlauf Kompensationsmechanismen wirksam zu werden, die zu einer Erholung auf Ebene der Adipozyten und Fettkompartimente führen.

An dieser Stelle galt es zu prüfen, ob sich ähnliche Kompensationsmechanismen hinsichtlich des Inflammationsstatus beobachten ließen. Folglich wurde das Sekretionsprofil von Entzündungsmarkern untersucht.

5.1.3 Nach mütterlicher HFD zeigt sich in der frühen Phase eine Aktivierung inflammatorischer Signalwege

Wie anfänglich beschrieben, bietet die Veränderung des Fettgewebssekretionsprofils einen Erklärungsansatz für die Fettgewebisdysfunktion ⁴⁰. Die induzierte chronisch sterile Inflammation lässt sich anhand entsprechender Zytokinausschüttung und Aktivität inflammatorischer Signalwege einschätzen. Insbesondere dem viszeralen Fettkompartiment wird hierbei eine besondere Bedeutung beigemessen, da es ein starkes pro-inflammatorisches Potenzial aufweist ¹⁶⁵ und bei übermäßiger Masse Teilkriterium des metabolischen Syndroms (s.o.) darstellt ^{8,166}. Aufgrund dieser Tatsache wurden Entzündungsmarker im perigonadalen Fettgewebe mittels Genexpression und Proteinanalysen gemessen.

Zu den gut beschriebenen Adipozytokinen gehört u. a. IL-6, das als Mediator inflammatorischer Prozesse dient und als Sepsis-Marker herangezogen werden kann ¹⁶⁷. In der Therapie chronischer Entzündungserkrankungen, wie z. B. rheumatoider Arthritis, hat sich der IL-6 Signalweg bereits als potenter Angriffspunkt bewährt ¹⁶⁸ und wird derzeit in der Covid-

19-Behandlung erprobt ¹⁶⁹. IL-6 greift in Stoffwechselprozesse ein, indem es bspw. die Fettoxidation und Glukoseverwertung beeinflusst ¹⁷⁰. Vor diesem Hintergrund ist es plausibel, dass IL-6 eine wichtige Rolle in der Adipositas-induzierten chronischen Inflammation einnimmt ¹⁷¹. Erhöhte IL-6 Serumspiegel konnten bereits anhand von *in vitro* und *in vivo* Studien als Reaktion auf eine erhöhte Fettmasse festgestellt werden ^{172,173}.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich in der frühen Phase ein tendenzieller, wenn auch nicht signifikanter ($p=0,0635$) Anstieg der IL-6-mRNA-Expression (siehe Anhang 2) im Fettgewebe weiblicher Nachkommen, deren Muttertiere eine HFD erhielten. Dieser Effekt stellte sich in der späten Phase invers dar. An P70 wurde signifikant weniger IL-6 in der HFD-Gruppe gemessen und deutet somit auf ein passager erhöhtes Inflammationspotential nach mütterlicher HFD hin. Die dynamische IL-6-Aktivität ließ sich durch ein entsprechendes Expressionsmuster der stressinduzierten p38-Signalkaskade bestätigen ¹⁷⁴, die ebenfalls ein erhöhtes Inflammationspotenzial der HFD-Gruppe in der frühen Phase suggeriert.

Offen bleibt, wer Triebkraft der Entzündungsreaktion ist, da sich neben den Adipozyten bspw. auch Makrophagen an der Synthese von Entzündungsmediatoren beteiligen ¹¹.

In diesem Zusammenhang wurde der Makrophagen-Marker MMP12 (Metalloproteinase 12) untersucht, der sowohl Entzündungsprozesse als auch die Fettgewebsmodulation beeinflusst [180]. An P21 ließ sich eine erhöhte MMP12-Expression feststellen, sodass von einer gesteigerten Makrophagenaktivität in der frühen Phase auszugehen ist. Damit liegt nicht nur eine Mitwirkung der Makrophagen am Inflammationsprozess nahe, sondern könnte auch die im Verlauf beschriebene Fettgewebsmodulation erklären ¹⁷⁵.

Leptin, ein weiteres Adipozytokin, hat neben seiner Schlüsselfunktion als Appetitzügler ebenfalls immunmodulatorischen Einfluss ¹¹. Trotz des an P21 erfassten adipösen Phänotyps war eine erhöhte Leptin mRNA-Konzentration der weiblichen HFD-Gruppe nicht nachweisbar. Gemäß diverser Studienansätze besteht jedoch eine ausgeprägte Korrelation zwischen Fettmasse und der Leptinsekretion ¹⁵¹. In der Tat entfaltet Leptin seine endokrine Funktion durch Ausschüttung in die Blutbahn und Bindung an spezifische Rezeptoren ¹⁷⁶. Eine Vielzahl der Studien konzentriert sich bei der Leptinanalyse deshalb primär auf die Leptinserumkonzentration ¹⁷⁷⁻¹⁷⁹. Da in der vorliegenden Studie die Untersuchung der Genexpression des Fettgewebes vorgenommen wurde, besteht darin eine mögliche Erklärung für die Diskrepanz der Ergebnisse. Zudem wurde die Leptinmenge nur im perigonadalen Fettkompartiment untersucht und limitiert eine Übertragung auf die Gesamtfettmasse. Für diese Fragestellung wäre die Messung der Leptinserumkonzentration bzw. -genexpression in den anderen Kompartimenten aufschlussreich gewesen.

Ähnliche Differenzen in Literatur und unserer Datenauswertung präsentieren sich bezüglich Adiponektin. Eine Reihe an Forschungsarbeiten demonstrieren ein inverses Verhältnis zwischen der Adiponektin-mRNA-Expression und zunehmender Fettmasse ^{180,181}. In der

vorliegenden Studie zeigte sich an P21 eine erhöhte Genexpression des Adipozytokins in der HFD-Gruppe trotz adipöser Körperkomposition. In Zusammenschau der vorangestellten Ergebnisse sollte hier nochmals die Möglichkeit einer in der frühen Phase einsetzenden Kompensation der durch die Fettgewebisdysfunktion gestörten Regelkreise in Betracht gezogen werden. Adiponektin könnte mit seinen antiinflammatorischen Eigenschaften¹¹ dem erhöhten Inflammationspotential in der frühen Phase entgegenwirken und nachteilige Effekte teilweise langfristig aufheben. In einer Studie von Sparrenberger et al. wurde der Zusammenhang zwischen dem Metabolischen Syndrom und der Adiponektinkonzentration untersucht. Hohe Adiponektinspiegel waren dabei mit einem niedrigeren Risiko versehen, metabolische Störungen zu entwickeln, unabhängig vom Körpergewicht⁴⁶. Darüber hinaus wurden in der Arbeit von Aguilar-Salinas et al. hohe Adiponektinkonzentrationen mit dem sogenannten „*Metabolically Healthy Obese (MHO) Phenotype*“ (dt. „metabolisch gesunder adipöser Phänotyp“) in Verbindung gebracht¹⁸². Das Modell einer metabolisch-gesunden Fettleibigkeit wird zunehmend in unterschiedlichen Forschungsarbeiten vertreten¹⁸³. Der „MHO“-Phänotyp unterliegt derzeit keiner einheitlichen Definition, beschreibt jedoch grundsätzlich eine adipöse Körperkomposition ohne das Vorliegen metabolischer Erkrankungen wie bspw. Dyslipidämie, Diabetes, Bluthochdruck etc. Interessanterweise war dieser Adipositas-Subtyp häufiger in weiblichen Studienteilnehmern zu finden¹⁸³.

Die vorliegende Arbeit zeigt an P70 eine Reversibilität der an P21 beobachteten Adipozytenhypertrophie und Inflammation trotz adipöser Körperzusammensetzung. Diese Ergebnisse gemeinsam mit einer unauffälligen Leptin- und Adiponektin-mRNA-Konzentration in der späten Phase (P70) lassen zunächst auf eine „*low-grade pathogenic obesity*“ („gering pathogene Adipositas-Form“) schließen. Um zu beurteilen, ob bei der weiblichen Kohorte tatsächlich ein „MHO“-Phänotyp vorliegt, bedarf es weiterer Untersuchungen, um das Vorhandensein metabolischer Erkrankungen zu prüfen.

5.1.4 Die adipozytäre Zellzyklusregulation lässt sich durch mütterliche HFD in weiblichen Nachkommen langfristig beeinflussen

Um die Effekte der metabolischen Programmierung auf Adipozyten näher zu erfassen, wurde die Expression von Zellzyklus-regulierenden Genen im perigonadalen Fettgewebe untersucht. Der Zellzyklus ist ein komplexer Vorgang, der mittels verschiedener Kontrollsysteme gesteuert wird. Neben Wachstumsfaktoren übernehmen Kinasen eine wichtige Funktion in der Regulation der Zellzyklusmaschinerie. Kinasen sind Enzyme, deren Aktivität von Cyclinen abhängig ist und deshalb auch als „Cyclin-abhängige Kinasen - CDK“ betitelt sind. D-Cycline vermitteln den Übergang von der *Gap-1-Phase* in die *Synthese-Phase*, in welcher die DNA-

Replikation stattfindet²⁵. Damit liefern sie die Voraussetzung für die Zellteilung und können so als Proliferationsmarker interpretiert werden¹⁸⁴. Über Inhibitoren der CDKs (CDK-Inhibitoren) wird der Vorgang gehemmt²⁵.

An P21 wurden keine Unterschiede zwischen HFD- und Co-Gruppen im Genexpressionsmuster des Cyclin-abhängigen Kinase-Inhibitor 1a (*Cyclin dependent kinase inhibitor 1a*; *Cdkn1a*; P21), *Cdkn1b* (P27), *Cdkn2a* (P16), *Cyclin D1* (*Ccnd1*) und *Sirtuin 1* (*NAD-dependent deacetylase sirtuin-1*; *Sirt1*) detektiert. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass mütterliche HFD möglicherweise in der frühen Phase zunächst keine Auswirkungen auf den Zellzyklus der Adipozyten hat.

In der späten Phase hingegen zeigte sich eine verminderte Expression inhibitorischer Zellzyklus-regulierender Gene. Die mRNA-Konzentration von *Cdkn2a* war an P70 in der Untersuchungsgruppe signifikant reduziert. Dieser Effekt war bei der Messung von *Cdkn1b* noch deutlicher ausgeprägt und ist möglicherweise indikativ für eine gesteigerte Proliferation. Die mütterliche HFD bewirkte zusätzlich eine verminderte Genexpression von *Sirt1* in den weiblichen Nachkommen. *Sirt1* wird, ebenso wie den zuvor genannten CDKs, eine regulatorische Funktion im Zellzyklusarrest zugesprochen¹⁸⁵.

Insgesamt deuten die vorliegenden Daten auf eine mögliche Proliferations-fördernde Genexpression in der späten Phase hin, die eine Hyperplasie der Adipozyten induzieren könnte. Aus diesem Grund untersuchten wir als nächstes Differenzierungsmarker im Fettgewebe.

5.1.5 Mütterliche HFD prägt die Adipozytendifferenzierung phasenabhängig

Die Rolle der Präadipozyten wurde insbesondere im Kontext der Adipogenese zuvor erläutert. Als adipozytäre Vorläuferzellen sind sie für den Erhalt des Fettzellbestands verantwortlich, was durch ihre Differenzierung in reife Adipozyten erfolgt. Aufgrund ihres inflammatorischen Charakters tragen sie zudem zur Ursache und zum Selbsterhalt einer Fettgewebdysfunktion bei^{13,18}.

Zur Überprüfung der Differenzierungskapazität in unserem Tiermodell wurden entsprechende Adipogenese-Marker im perigonadalen Fettgewebe untersucht.

Ein zentraler Vermittler der Adipogenese stellt, wie in Kapitel 2.1.2.1 (Seite 13) beschrieben, der Transkriptionsfaktor *PPAR γ* dar¹⁸⁶. In der frühen Phase wurde signifikant weniger *PPAR γ* -mRNA im perigonadalen Fettgewebe der HFD-Gruppe gemessen. Dieses Ergebnis zeigt Parallelen zu einer anderen Forschungsarbeit, die Auswirkungen mütterlicher HFD auf Adipogenese-Marker untersuchte¹⁸⁷. Ein weiterer interessanter Aspekt wird in einer Studie von Liang et al. durch die „*adipose tissue expandability*-“ (dt. „Fettgewebsexpansions-“)

Hypothese aufgegriffen. Diese besagt, dass bei Mangel an suffizienten Adipozyten-Vorläuferzellen, hervorgerufen durch mütterliche Adipositas, nicht adäquat auf einen Energieüberschuss, bspw. im Sinne einer HFD, reagiert werden kann¹⁵⁶. Dies kann sich dadurch zeigen, dass Progenitorzellen nicht ausreichend in der Lage sind, zu reifen Adipozyten zu differenzieren. Folge ist die Fettakkumulation in bereits existierenden Adipozyten mit konsekutiver Hypertrophie sowie ektopter Lipidablagerung. Dies weist, wie zuvor geschildert, ein inflammatorisches Potential auf¹³ und kann mit den unter Kapitel 5.1.3 (Seite 63) genannten Schlussfolgerungen in Einklang gebracht werden. Der „Fettgewebsexpansionshypothese“ steht allerdings entgegen, dass die PPAR γ -Genexpression der Untersuchungsgruppe in der Studie von Liang et al. erhöht und in der vorliegenden Datenauswertung weder in der frühen noch in der späten Phase Gruppenunterschiede des Präadipozyten-Differenzierungsmarkers DLK nachweisbar waren¹⁸⁸. Für eine Dysfunktion der Adipozyten-Vorläuferzellen in weiblichen Nachkommen bietet unsere Arbeit somit keinen Anhaltspunkt. Dennoch wird in der Übersichtsarbeit von Tchkonina et al. eine Reduktion adipogener Transkriptionsfaktoren als Ausdruck und wichtiger Mechanismus in der Adipositas-induzierten Fettgewebdsdysfunktion genannt¹³. Es ist demnach plausibel, dass sich PPAR γ -Agonisten, wie z. B. Rosiglitazone, mitunter über Beeinflussung der Adipogenese als wirksame Antidiabetika etabliert haben¹⁸⁹. Da sich die verminderte PPAR γ -mRNA-Expression in der HFD-Gruppe nur auf die frühe Phase beschränkte, präsentieren sich somit auch in diesem Kontext Anzeichen einer passageren Fettgewebdsdysfunktion.

In der frühen Phase zeigte sich außerdem signifikant weniger Perilipin 2 mRNA bei weiblichen Nachkommen, deren Muttertiere eine HFD erhielten. Perilipin 2 gehört zur Perilipinfamilie, die als Hüllproteine intrazelluläre Lipidtropfen umgeben und am Lipidstoffwechsel beteiligt sind¹⁹⁰. Perilipin 2 wird auch als „*adipose differentiation-related protein*“ bezeichnet, da es erstmals im Rahmen der Adipozytendifferenzierung beschrieben wurde¹⁹¹. Neuere Studien identifizierten Perilipin 2 als ubiquitär vorkommendes Protein, dessen physiologische Funktion jedoch nach wie vor weitestgehend unbekannt ist¹⁹². In einem murinen Knock-out-Modell von McManaman et al. wurde die metabolische Rolle von Perilipin 2 näher beleuchtet. In Abwesenheit von Perilipin 2 seien sowohl männliche als auch weibliche Mäuse vor einer HFD-induzierten Fettleibigkeit geschützt. Zusätzlich verhindere der Knock-out die Entwicklung einer Fettleber und weise ein reduziertes Inflammationspotential auf¹⁹³. Auch dieser Zusammenhang lässt sich gut in die Annahme einer geringgradig pathogenen Adipositasform der weiblichen Nachkommen einreihen.

Das Genexpressionsprofil von Perilipin 1 wies hingegen weder an P21 noch an P70 signifikante Unterschiede nach mütterlicher HFD auf.

Die Analyse der Genaktivität von *Ctnnb1* (Catenin beta 1) und *Klf4* (Krüppel-like factor 4) zeigte interessanterweise erst in der späten Phase signifikante Unterschiede in der mRNA-Expression zwischen HFD- und Co-Gruppe. Sowohl *Ctnnb1* als auch *Klf4* beeinflussen Transkriptionsprozesse^{194,195}. Für beide Gene wurde eine deutlich verminderte mRNA-Expression im perigonadalen Fettgewebe von weiblichen Nachkommen HFD-gefütterter Muttertiere detektiert. Diese Ergebnisse scheinen zunächst im Widerspruch zu stehen, da der *Wnt/β-Catenin*-Signalweg als Inhibitor und *Klf4* als Induktor der Adipogenese identifiziert wurden^{194,196}. Bei verminderter *β-Catenin*-mRNA-Synthese wäre außerdem von einer erhöhten *PPARγ*-Expression auszugehen, die in einer negativen gegenseitigen Regulation während der Adipogenese begründet ist¹⁹⁷. Die Organgewichtsmessungen des perigonadalen Fettdepots, welche sich in der frühen Phase in der HFD-Gruppe erhöht und an P70 gleich schwer zeigten, lassen sich eher mit einer geringeren Adipogeneserate erklären. Zusätzlich gilt es zu beachten, dass das Genexpressionsprofil, bspw. durch posttranslationale Modifikation, von der tatsächlichen Proteinaktivität abweichen kann¹⁹⁸. Darüber hinaus ist die Adipogenese ein dynamischer Prozess, während die mRNA-Detektion lediglich eine Momentaufnahme darstellt. In einer Studie von Park et al. konnte nachgewiesen werden, dass *Wnt* insbesondere in der frühen Phase der Adipogenese seine inhibitorische Wirkung über *β-Catenin* entfaltet. Außerdem wurde gezeigt, dass *Wnt* einen antagonistischen Effekt auf *Klf4* hat, indem es dessen Bindungskapazität an den *PPARγ*-Rezeptor vermindert¹⁹⁹. Daraus könnte man ableiten, dass die verminderte *β-Catenin*-mRNA-Synthese Folge einer transienten Aktivitätssteigerung mit erhöhtem Verbrauch darstellt bei geringer basaler Adipogeneserate, was sich anhand der reduzierten *Klf4*-mRNA bestätigen ließe. Neuere Studien enthüllten außerdem, dass der *Wnt/β-Catenin*-Signalweg sowohl die Fettverteilung als auch den Lipidmetabolismus beeinflusst^{200,201}. In einem murinen *β-Catenin*-Knock-out-Modell konnten protektive Einflüsse auf den Metabolismus festgestellt und eine diätetisch-induzierte Fettleibigkeit der Mäuse verhindert werden²⁰⁰. Dies unterstreicht die Annahme einer geringgradig pathogenen Fettleibigkeit in den weiblichen Nachkommen dieser Studie.

5.1.6 Mütterliche HFD dysreguliert in der frühen Phase den AMPKα-Signalweg

Da die AMPKα- und Akt-Signalwege zentrale Regulatoren des Energiehaushaltes von Adipozyten sind, wurde ihre Expression und Aktivität im perigonadalen Fettgewebe durch den Nachweis des relativen phosphorylierten Anteils sowie der Gesamtproteinmenge analysiert. Während die Proteinbestimmung des phosphorylierten und totalen AKT weder in der frühen noch in der späten Phase Gruppenunterschiede aufwies, konnte an P21 eine leichte Erhöhung

($p=0,06$) der phosphorylierten und damit aktiven AMPK α Proteinmenge in der HFD-Gruppe nachgewiesen werden.

Dieses Ergebnis steht zunächst im Widerspruch sowohl zur adipösen Körperkomposition an P21, welche eine positive Energiebilanz und somit eine verminderte Phosphorylierung von AMPK α suggeriert ³⁹, als auch zu mehreren Studien, die eine verminderte AMPK α -Aktivität infolge mütterlicher Adipositas beschreiben ²⁰²⁻²⁰⁴. Zu beachten ist an dieser Stelle jedoch, dass letztere Studien die Proteinaktivität in der Leber bzw. der Skelettmuskulatur untersuchten und somit eine organ- und zellspezifische Regulation von AMPK α zugrunde liegen könnte.

Einen weiteren interessanten Aspekt liefert die Adiponektin-Interaktion. Wie in Kapitel 2.1.4.1 (Seite 19) aufgeführt, bewirkt Adiponektin eine Aktivierung der AMP-Kinase und begünstigt so die Glukoseverwertung und den Fettsäureabbau mittels β -Oxidation ²⁰⁵. In einer Studie von Gauthier et al. wurde eine erniedrigte AMPK α -Aktivität in Probanden detektiert, die eine Insulinresistenz aufwiesen, verglichen mit BMI-entsprechenden Insulin-sensitiven Kontrollen ²⁰⁵. In Zusammenschau der generierten Daten könnte eine Erhöhung von AMPK α somit auf die gesteigerte Adiponektin-Synthese zurückzuführen sein, die im Rahmen des „metabolisch gesunden adipösen Phänotyps“ bereits diskutiert wurde. Diese Annahme setzt eine erhaltene Insulinsensitivität der weiblichen Nachkommen voraus, die sich anhand fehlender Gruppenunterschiede im AKT-Signalweg sowie bezüglich des Insulinrezeptors β (siehe Anhang 3) in der frühen und späten Phase ableiten lässt, und damit den MHO-Phänotypen kennzeichnen würde ²⁰⁶.

5.1.7 Änderungen im Lipidmetabolismus der weiblichen Nachkommen sind Langzeitfolgen mütterlicher HFD

Um langfristige Auswirkungen metabolischer Programmierung auf den Lipidstoffwechsel zu ermitteln, wurde das Genexpressionsprofil wichtiger Marker des Lipidmetabolismus an P21 (siehe Anhang 4) und P70 untersucht.

Wie zuvor erläutert, katalysiert die Monoacylglycerin-Lipase (*Monoacylglycerol lipase – MglI*) den letzten Schritt der Lipolyse, indem sie Monoacylglycerin zu Fettsäuren und Glycerin hydrolysiert ^{25,26}. Während an P21 kein signifikanter Unterschied zwischen Co- und HFD-Gruppe detektierbar war, zeigte sich an P70 eine signifikante Reduktion der *MglI*-mRNA-Expression in der HFD-Gruppe. Interessanterweise zeigen Yoshida et al., dass *MglI*-defiziente Mäuse nicht nur eine geringere Körpergewichtszunahme nach einer HFD aufweisen, sondern auch bezüglich Insulinresistenz und der Entwicklung einer Lebersteatose geschützt sind. Begründet wurde dieser Zusammenhang durch eine erhaltene Fettspeicherkapazität, die eine hepatische Fettakkumulation und begleitende Inflammation verhindert ²⁰⁷. Auch in der vorliegenden Studie könnte sich die verringerte lipolytische Aktivität positiv auf den

Metabolismus der Adipozyten auswirken²⁰⁸. Lipasehemmer, wie bspw. Orlistat, finden bereits in der medikamentösen Behandlung von Adipositas Anwendung²⁰⁹. Über die zusätzliche Interaktion mit dem endogenen Cannabinoid-System, welches unter anderem die neuronale Regulation der Nahrungszufuhr beeinflusst^{207,210,211}, ist die MglI ein interessanter Forschungsgegenstand zur Untersuchung therapeutischer Interventionsmöglichkeiten²¹².

Als weiterer Marker des Fettstoffwechsels wurde das *Fatty Acid-Binding Protein 4 (Fabp4)* bestimmt. Die Proteinfamilie steuert den Fettsäuretransport in die Zellorganellen und beeinflusst die weitere Fettverwertung²¹³. An P21 war ein leichter Anstieg der gemessenen mRNA in der HFD-Gruppe zu verzeichnen ($p=0,0635$), wohingegen in der späten Phase signifikant weniger mRNA im perigonadalen Fett der weiblichen Nachkommen detektiert wurde. Die Arbeitsgruppe von Uysal et al. generierte ein *Fabp4*-Knockout-Modell in genotypisch adipösen Mäusen, um Auswirkungen auf den Glukose- und Fettstoffwechsel zu untersuchen. Trotz eines ausgeprägteren adipösen Phänotyps wurde bei *Fabp4*-defizienten Mäusen eine höhere Insulinsensitivität nachgewiesen. Gleichzeitig zeigte sich eine reduzierte Lipolyse-Antwort nach entsprechender Stimulation²¹⁴. Die in der vorliegenden Studie verminderte *Fabp4*-Synthese deckt sich mit der verminderten Lipolyse-Aktivität, gemessen anhand der reduzierten *MglI*-Expression, und suggeriert eine verbesserte Stoffwechsellage in der späten Phase. Interessanterweise wird die Inhibition des von Makrophagen und Adipozyten produzierten Proteins in der Therapie metabolischer Erkrankungen erprobt²¹³.

Des Weiteren wurde das Genexpressionsprofil vom *Sterol regulatory element-binding protein-1 (Srebp1)* untersucht. Als Transkriptionsfaktor ist es für die Aktivierung lipogener Zielstrukturen zuständig, die sowohl die Lipidsynthese als auch die Aufnahme von Fettsäuren und Triacylglyceriden vermitteln²¹⁵. In der Tat zeigen Borengasser et al., dass bei erhöhtem Körperfettanteil eine gesteigerte Expression lipogener Substanzen vorzufinden ist¹⁸⁷. Umgekehrt beschreibt jedoch die Studie von Vithayathil et al. eine reduzierte *Srebp1*-mRNA-Expression in weiblichen und männlichen Nachkommen adipöser Muttertiere 3 Wochen *post partum*. Interpretiert wurde das Ergebnis als Schutz bzw. Kompensationsmechanismus gegen eine weitere Fettakkumulation im Rahmen einer schon bestehenden übermäßigen Fettablagerung²¹⁶. Diese Theorie konnte bereits in humanen und tierexperimentellen Forschungsarbeiten bekräftigt werden^{217,218}. Passend dazu fand sich in der vorliegenden Studie ebenfalls eine reduzierte *Srebp1*-mRNA-Expression in der frühen Phase. Auch hier könnte ein ebensolcher Kompensationsmechanismus zum Tragen kommen. Dies würde eine Erklärung dafür bieten, dass sich die initial an P21 vorhandenen signifikanten Unterschiede im relativen Anteil des perigonadalen Fettgewebes an P70 nicht aufzeigen ließen. Gleichzeitig reiht sich die vorangestellte Annahme ins Postulat der geringgradigen Adipositasform ein und bekräftigt unsere Schlussfolgerung.

5.2 Limitationen der Studie

5.2.1 Technische Limitationen der bildgebenden Verfahren

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse zur Körperkomposition kann man davon ausgehen, dass bei unverändertem Körpergewicht und -volumen andere Organstrukturen zugunsten der erhöhten Fettfraktion weichen mussten. Es ist beschrieben worden, dass chronische Inflammation zu skelettaler Muskelatrophie führt ²¹⁹. Mithilfe der verwendeten MRT-Methodik war es jedoch nicht möglich, Muskelgewebe zu detektieren und diese These zu bestätigen. Ebenso wenig konnte eine differenzierte Analyse der einzelnen Fettkompartimente per Bildgebung vorgenommen werden. Dennoch spielt die Fettdepot-Modulation eine wichtige Rolle in der Fettgewebisdysfunktion. Eine Studie von Shankar et. al. gelang ebendiese Differenzierung unter Zuhilfenahme der Computertomographie ²²⁰. Die Magnetresonanztomographie wird zwar bevorzugt zur Detektion von Weichteilgewebe eingesetzt ²²¹, in diesem Kontext scheint die computertomographische Bildgebung jedoch von Vorteil zu sein.

5.2.2 Vergleich der Fettkompartimente

Ebenso unberücksichtigt bleiben die Untersuchung und Analyse molekularbiologischer und zellulärer Veränderungen der übrigen Fettgewebekompartimente, wie subkutanes und retroperitoneales Fett. Die heterogene Fettgewebsverteilung bei vergleichbarer totaler Fettmasse führt bekanntermaßen zu Unterschieden im Metabolismus und der Krankheitssuszeptibilität, bspw. hinsichtlich der Insulinresistenz ²²².

Somit wäre insbesondere angesichts der an P70 gemessenen Zunahme subkutaner Fettmasse eine Datenerhebung dieses Fettdepots zukünftig wünschenswert.

5.2.3 Einflussfaktoren der metabolischen Programmierung

Die metabolische Programmierung, die in dieser Studie anhand des Modells mütterlicher HFD konzipiert wurde, kann durch verschiedene Faktoren modifiziert werden und je nach Untersuchungsgegenstand variieren.

Faktoren, welche die fetale Programmierung beeinflussen, sind u. a. ^{107,148,151,220}:

- Zeitfenster der Diätintervention
- Diätzusammensetzung (Mikro- und Makronährstoffe)
- Mütterlicher Gesundheitszustand und „Mikroumwelt“
- Zu untersuchende Spezies (z. B. Maus, Ratte, andere Säugetiere), deren genetische Abstammung und Untersuchungsobjekt (z. B. Gewebetyp)
- Geschlecht und Sexualhormone

5.2.3.1 Zeitfenster der Diätintervention

Das vorliegende Tiermodell ist in unserer Arbeitsgruppe bereits etabliert und lässt sich entsprechend der wissenschaftlichen Fragestellung modifizieren^{106,150}. So konnten in der Studie „*Identification of Critical Windows of Metabolic Programming of Metabolism and Lung Function in Male Offspring of Obese Dams*“ von Dinger et al. bereits kritische Zeitfenster der Fetalentwicklung identifiziert werden, die, abhängig vom Expositionszeitraum, Ausprägung von Metabolismus und Organfunktion in den Nachkommen beeinflussten²²³.

Hinweisen zufolge weisen unterschiedliche Organsysteme eine heterogene Anfälligkeit bezüglich der fetalen Programmierung auf. Dies ist unter anderem davon abhängig, in welchen der kritischen Entwicklungsfenstern eine Exposition metabolischer Störungen stattfindet. Das Fettgewebe reagiert äußerst sensibel auf eine abnorme mütterliche Stoffwechsellage in der späten Schwangerschaftsphase²²⁴. Ein interessanter Aspekt wäre deshalb auch andere Gewebstypen infolge fetaler Programmierung genauer zu untersuchen und kritischen Entwicklungsfenstern zuzuordnen. Eine solche Anforderung würde jedoch den Umfang der Arbeit übersteigen und sollte deshalb in zukünftigen Forschungsprojekten Anwendung finden.

5.2.3.2 Diätzusammensetzung (Mikro- und Makronährstoffe)

Variabilität der metabolischen Programmierung wird außerdem durch Veränderung der Diät-komponenten wie Protein-, Fett-, Kohlenhydratgehalt und Mikronährstoffe erzeugt. Dabei kann auch bei gleicher Kalorienangabe eine unterschiedliche Nährstoffzusammensetzung gegeben sein, die zu einer andersartigen Ausprägung der metabolischen Programmierung führen kann¹⁵¹.

5.2.3.3 Mütterlicher Gesundheitszustand und „Mikroumwelt“

Entwickeln sich durch die HFD neben mütterlicher Adipositas weitere Begleiterscheinungen wie bspw. Glukosetoleranzstörungen oder Insulinresistenz, kann sich dies auf den kindlichen Organismus zusätzlich auswirken [151]. Es ist daher zu hinterfragen, ob die HFD in ihrer Komposition *per se*, die daraus resultierende Adipositas oder die dadurch induzierten Stoffwechseleränderungen des Muttertiers entscheidenden Einfluss nehmen. Da in der vorliegenden Studie keine Beurteilung des mütterlichen Gesundheitszustands erfolgte, wird durch diese Störgröße eine weitere Limitation hinsichtlich Ursache der Veränderungen in den Nachkommen generiert.

5.2.3.4 Spezies, genetische Abstammung und Untersuchungsobjekt

Studien an nichtmenschlichen Primaten (NHP – *non human primate*), die eine stärkere Assoziation zum menschlichen Organismus aufweisen, zeigten im Vergleich zu Nagetieren ähnliche metabolische Veränderungen nach mütterlicher HFD auf, sodass auch murine Modelle einen gewissen Rückschluss auf den menschlichen Organismus zulassen. Interessanterweise waren bei den NHPs negative Effekte der mütterlichen HFD nach peripartaler Diätumstellung eher reversibel ¹⁵¹, weshalb in unserer Schwangerschaftsvorsorge der diätetischen Beratung eine besonders nachhaltige Bedeutung zukommen sollte. Die Arbeitsgruppe von Ensenauer et al. konnte zudem beweisen, dass auch väterliche Adipositas die Genaktivität in den Nachkommen geschlechtsabhängig beeinflusst ²²⁵. In der Studie wurden anders als in der vorliegenden Arbeit *Naval Medical Research Institute* (NMRI)-Mäuse untersucht ¹⁵², deren genetische Abstammung weitestgehend vor HFD induzierten metabolischen Störungen schützt ²²⁶.

Während in dieser Arbeit besonderer Fokus auf dem weißen Fettgewebe lag, konnte unsere Arbeitsgruppe zusätzlich Auswirkungen metabolischer Programmierung auf andere Organe, wie bspw. die Lungen- ²²³ und Nierenfunktion ¹⁰⁶ identifizieren, die unterschiedlichen kritischen Zeitfenstern der metabolischen Programmierung zugeordnet werden können ²²⁷.

5.2.3.5 Geschlecht und Sexualhormone

Da es sich bei der zugrundeliegenden Publikation um eine geschlechtsspezifische Studie handelt und der Fokus hier auf den weiblichen Nachkommen liegt, hätte zuletzt die Berücksichtigung der weiblichen Homöostase interessante Aspekte liefern können. Die Untersuchung weiblicher Versuchstiere stellt aufgrund von Hormonschwankungen infolge des Menstruationszyklus eine Herausforderung dar ⁶¹, weshalb männliche Studienobjekte nach wie vor Forschungsarbeiten dominieren ^{59,228}. Neben seiner zentralen Rolle in der Ausprägung von Geschlechtsmerkmalen, werden über den Östrogenrezeptor zahlreiche weitere Signalkaskaden initiiert. Darunter fällt auch der Fettstoffwechsel und bietet somit einen interessanten Forschungsgegenstand für zukünftige Studien ²²⁹.

Die Daten der vorliegenden Arbeit wurden gemeinsam mit den Ergebnissen der männlichen Nachkommen (Promotionsarbeit von Herrn Thorsten Litzenburger) unter dem Aspekt geschlechtsspezifischer Unterschiede der metabolischen Programmierung des Fettgewebes in der Publikation „*Maternal high-fat diet induces long-term obesity with sex-dependent metabolic programming of adipocyte differentiation, hypertrophy and dysfunction in the offspring*“ in der Fachzeitschrift *Clinical Science* ¹⁴⁹ veröffentlicht. Die Studie zeigt, dass die männlichen im Vergleich zu den weiblichen Nachkommen eine eher pathogene Form der

Adipositas ausbilden. Diese Diskrepanz spiegelt sich bspw. auch hinsichtlich geschlechtsabhängiger Prävalenzen diverser kardiovaskulärer Erkrankungen wider^{230,231}.

Welche Ursachen dieser geschlechtsspezifischen Beobachtung zugrunde liegen, kann nur spekuliert werden. Ob und inwieweit die präventiven Mechanismen des weiblichen Organismus auch beim männlichen Geschlecht aktiviert werden können, eröffnet ein großes Forschungsfeld.

5.3 Ausblick

Präventionsstrategien setzen sich auf unterschiedlichen politischen Ebenen fest: Zunächst gilt es als „*forschungspolitische* Aufgabe“ (Molekular-)Mechanismen in der Krankheitsentstehung zu identifizieren, die als Angriffspunkt präventiver Maßnahmen genutzt werden können. „*Bildungspolitisch*“ stehen Aufklärung und Schulung der Präventionsmaßnahmen im Vordergrund. Außerdem versteht sich das „*sozialpolitische*“ Engagement in einem systematischen Zugangsmanagement zur Gesundheitsförderung¹⁰¹. Adipositas hat in unserer Gesellschaft einen relevanten medizinischen Stellenwert erreicht und epidemieartiges Ausmaß angenommen. Nichtsdestotrotz sind die zugrundeliegenden Mechanismen nicht ausreichend verstanden und Gegenstand aktueller Forschung. In diesem Kontext soll die vorliegende Studie ein tieferes Verständnis der pathophysiologischen Zusammenhänge schaffen, die mit Adipositas einhergehen. Es konnte gezeigt werden, dass mütterliche Adipositas infolge einer HFD zur fetalen Prägung des Fettgewebstypen führt und langfristige Auswirkungen auf den Metabolismus der Nachkommen hat.

Dabei ließ sich in der zugrundeliegenden Publikation eine gering- und hochgradige Adipositasform bei weiblichen und männlichen Nachkommen respektive unterscheiden. Merkmale der geringgradigen metabolischen Ausprägung könnten zukünftig Angriffspunkte therapeutischer Interventionen darstellen. Grundsätzlich sollten Adipositas betreffende Präventionsmaßnahmen in jeder Entwicklungsphase eingreifen, um eine generationsübergreifende Ausbreitung einzudämmen. Es bedarf weiterer Studien, die dafür verantwortlichen Zielstrukturen zu ermitteln und entsprechende Präventionsstrategien zu entwickeln.

6. Literaturverzeichnis

1. Wadolowska L, Hamulka J, Kowalkowska J, et al. Changes in Sedentary and Active Lifestyle, Diet Quality and Body Composition Nine Months after an Education Program in Polish Students Aged 11-12 Years: Report from the ABC of Healthy Eating Study. *Nutrients* 2019; 11(2).
2. Hill JJ. Obesity: An Emerging Threat. *Journal of National Black Nurses' Association : JNBNA* 2018; 29(2): 36-9.
3. WHO. Obesity and overweight. 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (Zuletzt abgerufen am 23.06.2022)
4. Benecke A, Vogel H. Themenheft 16 "Übergewicht und Adipositas". Robert Koch-Institut; 2003. p. 16.
5. Bulcão C, Ferreira SR, Giuffrida FM, Ribeiro-Filho FF. The new adipose tissue and adipocytokines. *Current diabetes reviews* 2006; 2(1): 19-28.
6. Haslam D. Obesity: a medical history. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 2007; 8 Suppl 1: 31-6.
7. Deller T, Welsch U, Kummer W. Histologie - Das Lehrbuch: Elsevier Health Sciences; 2018.
8. Herold G. Innere Medizin 2019: De Gruyter; 2019.
9. Park JH, Ogura K, Fujiwara T, et al. The Values and Limitations of FDG-PET/CT for Diagnosis of Hibernoma. *Case reports in orthopedics* 2015; 2015: 958690.
10. Aquila H, Link TA, Klingenberg M. The uncoupling protein from brown fat mitochondria is related to the mitochondrial ADP/ATP carrier. Analysis of sequence homologies and of folding of the protein in the membrane. *The EMBO journal* 1985; 4(9): 2369-76.
11. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2005; 115(5): 911-9; quiz 20.
12. Hausman DB, DiGirolamo M, Bartness TJ, Hausman GJ, Martin RJ. The biology of white adipocyte proliferation. *Obesity Reviews* 2001; 2(4): 239-54.
13. Tchkonja T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging cell* 2010; 9(5): 667-84.
14. Tchkonja T, Thomou T, Zhu Y, et al. Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. *Cell metabolism* 2013; 17(5): 644-56.
15. Fischer-Posovszky P, Wabitsch M. Entwicklung und Funktion des Fettgewebes. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2004; 152(8): 834-42.
16. Cawthorn WP, Scheller EL, MacDougald OA. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. *Journal of lipid research* 2012; 53(2): 227-46.
17. Obregon M-J. Changing white into brite adipocytes. Focus on "BMP4 and BMP7 induce the white-to-brown transition of primary human adipose stem cells". *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2014; 306(5): C425-C7.
18. Charrière G, Cousin B, Arnaud E, et al. Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *The Journal of biological chemistry* 2003; 278(11): 9850-5.
19. Rosen ED, Spiegelman BM. Molecular Regulation of Adipogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 2000; 16(1): 145-71.
20. Karagiannides I, Tchkonja T, Dobson DE, et al. Altered expression of C/EBP family members results in decreased adipogenesis with aging. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 2001; 280(6): R1772-80.
21. Hotta K, Bodkin NL, Gustafson TA, Yoshioka S, Ortmeyer HK, Hansen BC. Age-Related Adipose Tissue mRNA Expression of ADD1/SREBP1, PPAR γ , Lipoprotein Lipase, and GLUT4 Glucose Transporter in Rhesus Monkeys. *The Journals of Gerontology: Series A* 1999; 54(5): B183-B8.
22. Roche AF. The adipocyte-number hypothesis. *Child development* 1981; 52(1): 31-43.
23. Hirsch J, Batchelor B. Adipose tissue cellularity in human obesity. *Clinics in endocrinology and metabolism* 1976; 5(2): 299-311.
24. Brook CG, Lloyd JK, Wolf OH. Relation between age of onset of obesity and size and number of adipose cells. *British medical journal* 1972; 2(5804): 25-7.
25. Berghold S, Grillhösl C, Horn F, Lindenmeier G, Armbruster M. Biochemie des Menschen: Das Lehrbuch für das Medizinstudium: Thieme; 2015.
26. Rassow J. Biochemie: 50 Tabellen: Thieme; 2008.
27. DeFronzo RA. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. *International journal of clinical practice Supplement* 2004; (143): 9-21.
28. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition* 2004; 92(3): 347-55.
29. Hau R, Martini U. PONS Wörterbuch für Schule und Studium Latein-Deutsch: PONS; 2012.

30. Maffei M, Fei H, Lee GH, et al. Increased expression in adipocytes of ob RNA in mice with lesions of the hypothalamus and with mutations at the db locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1995; 92(15): 6957-60.
31. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372(6505): 425-32.
32. Izquierdo AG, Crujeiras AB, Casanueva FF, Carreira MC. Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? *Nutrients* 2019; 11(11).
33. Agrawal S, Gollapudi S, Su H, Gupta S. Leptin activates human B cells to secrete TNF- α , IL-6, and IL-10 via JAK2/STAT3 and p38MAPK/ERK1/2 signaling pathway. *Journal of clinical immunology* 2011; 31(3): 472-8.
34. Sarraf P, Frederich RC, Turner EM, et al. Multiple Cytokines and Acute Inflammation Raise Mouse Leptin Levels: Potential Role in Inflammatory Anorexia. *Journal of Experimental Medicine* 1997; 185(1): 171-6.
35. Kishida K, Funahashi T, Shimomura I. Adiponectin as a routine clinical biomarker. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism* 2014; 28(1): 119-30.
36. Ma W, Huang T, Zheng Y, et al. Weight-Loss Diets, Adiponectin, and Changes in Cardiometabolic Risk in the 2-Year POUNDS Lost Trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2016; 101(6): 2415-22.
37. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature reviews Immunology* 2006; 6(10): 772-83.
38. Zhou L, Deepa SS, Etzler JC, et al. Adiponectin activates AMP-activated protein kinase in muscle cells via APPL1/LKB1-dependent and phospholipase C/Ca²⁺/Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase-dependent pathways. *The Journal of biological chemistry* 2009; 284(33): 22426-35.
39. Hardie DG, Pan DA. Regulation of fatty acid synthesis and oxidation by the AMP-activated protein kinase. *Biochemical Society Transactions* 2002; 30(6): 1064-70.
40. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *The Journal of Clinical Investigation* 2005; 115(5): 1111-9.
41. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nature medicine* 2002; 8(7): 731-7.
42. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochemical and biophysical research communications* 2004; 323(2): 630-5.
43. Ajuwon KM, Spurlock ME. Adiponectin inhibits LPS-induced NF- κ B activation and IL-6 production and increases PPAR γ 2 expression in adipocytes. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2005; 288(5): R1220-R5.
44. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Novel Modulator for Endothelial Adhesion Molecules. *Circulation* 1999; 100(25): 2473-6.
45. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2002; 106(22): 2767-70.
46. Sparrenberger K, Sbaraini M, Cureau FV, Teló GH, Bahia L, Schaan BD. Higher adiponectin concentrations are associated with reduced metabolic syndrome risk independently of weight status in Brazilian adolescents. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2019; 11(1): 40.
47. Lim JY, Kim WH, Park SI. GO6976 prevents TNF-alpha-induced suppression of adiponectin expression in 3T3-L1 adipocytes: putative involvement of protein kinase C. *FEBS letters* 2008; 582(23-24): 3473-8.
48. Hotamisligil G, Shargill N, Spiegelman B. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259(5091): 87-91.
49. Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha. *J Clin Invest* 1994; 94(4): 1543-9.
50. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112(12): 1796-808.
51. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and Subcutaneous Adipose Tissues of Obese Subjects Release Interleukin-6: Depot Difference and Regulation by Glucocorticoid1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1998; 83(3): 847-50.
52. Hwang LL, Wang CH, Li TL, et al. Sex differences in high-fat diet-induced obesity, metabolic alterations and learning, and synaptic plasticity deficits in mice. *Obesity (Silver Spring, Md)* 2010; 18(3): 463-9.

53. Amengual-Cladera E, Lladó I, Gianotti M, Proenza AM. Sex differences in the effect of high-fat diet feeding on rat white adipose tissue mitochondrial function and insulin sensitivity. *Metabolism: clinical and experimental* 2012; 61(8): 1108-17.
54. Ventegodt S, Orr G, Merrick J. The need for evidence-based, non-drug medicine. 2012; 24(2): 113.
55. AWMF online - Das Portal der wissenschaftlichen Medizin. Medizin Ao-DPdw. Leitlinien. <https://www.awmf.org/leitlinien.html> (Zuletzt abgerufen am 23.06.2022)
56. Bottinger EP. Foundations, promises and uncertainties of personalized medicine. *The Mount Sinai journal of medicine, New York* 2007; 74(1): 15-21.
57. Freire AC, Basit AW, Choudhary R, Piong CW, Merchant HA. Does sex matter? The influence of gender on gastrointestinal physiology and drug delivery. *International journal of pharmaceutics* 2011; 415(1-2): 15-28.
58. Dotson JL, Bricker JB, Kappelman MD, Chisolm D, Crandall WV. Assessment of Sex Differences for Treatment, Procedures, Complications, and Associated Conditions Among Adolescents Hospitalized with Crohn's Disease. *Inflammatory bowel diseases* 2015; 21(11): 2619-24.
59. Beery AK. Inclusion of females does not increase variability in rodent research studies. *Current opinion in behavioral sciences* 2018; 23: 143-9.
60. Mayor JM, Preventza O, McGinigle K, et al. fPersistent Underrepresentation of Female Patients in United States Trials of Common Vascular Diseases from 2008-2020. *Journal of vascular surgery* 2021.
61. Chari T, Griswold S, Andrews NA, Fagiolini M. The Stage of the Estrus Cycle Is Critical for Interpretation of Female Mouse Social Interaction Behavior. *Frontiers in behavioral neuroscience* 2020; 14: 113.
62. Lüllmann-Rauch R, Paulsen F. Taschenlehrbuch Histologie: Thieme; 2012.
63. Onstad MA, Schmandt RE, Lu KH. Addressing the Role of Obesity in Endometrial Cancer Risk, Prevention, and Treatment. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2016; 34(35): 4225-30.
64. Jones ME, Thorburn AW, Britt KL, et al. Aromatase-deficient (ArKO) mice accumulate excess adipose tissue. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2001; 79(1-5): 3-9.
65. Heine PA, Taylor JA, Iwamoto GA, Lubahn DB, Cooke PS. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000; 97(23): 12729-34.
66. Nicklas BJ, Rogus EM, Colman EG, Goldberg AP. Visceral adiposity, increased adipocyte lipolysis, and metabolic dysfunction in obese postmenopausal women. *The American journal of physiology* 1996; 270(1 Pt 1): E72-8.
67. Ley CJ, Lees B, Stevenson JC. Sex- and menopause-associated changes in body-fat distribution. *The American journal of clinical nutrition* 1992; 55(5): 950-4.
68. Lobo RA. Metabolic syndrome after menopause and the role of hormones. *Maturitas* 2008; 60(1): 10-8.
69. Schienkiewitz A MG, Kuhnert R et al. Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen in Deutschland. *Journal of Health Monitoring* 2017; 2(2): 21 - 28.
70. Federation ID. The IDF consensus worldwide definition of the METABOLIC SYNDROME. 2006. [https://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idfconsensus-worldwide-definitionof-the-metabolic-syndrome.html#:~:text=IDF%20Consensus%20Worldwide%20Definition%20of%20the%20Metabolic%20Syndrome&text=The%20metabolic%20syndrome%20is%20a,cholesterol%20and%20high%20blood%20pressure.\(Zuletzt abgerufen am 23.06.2022\).](https://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idfconsensus-worldwide-definitionof-the-metabolic-syndrome.html#:~:text=IDF%20Consensus%20Worldwide%20Definition%20of%20the%20Metabolic%20Syndrome&text=The%20metabolic%20syndrome%20is%20a,cholesterol%20and%20high%20blood%20pressure.(Zuletzt abgerufen am 23.06.2022).)
71. Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *The Lancet* 2002; 360(9331): 473-82.
72. Hebebrand J, Dabrock P, Lingenfelder M, Mand E, Rief W, Voit W. Ist Adipositas eine Krankheit? Interdisziplinäre Perspektiven. *Dtsch Arztebl International* 2004; 101(37): A-2468.
73. Branca F. Die Herausforderung Adipositas und Strategien zu ihrer Bekämpfung in der Europäischen Region der WHO: Zusammenfassung: WHO; 2007.
74. Gesellschaft DA. <https://www.adipositas-gesellschaft.de/index.php?id=39>.
75. WHO. Obesity and overweight. 2020. [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight.\(Zuletzt abgerufen am 23.06.2022\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight.(Zuletzt abgerufen am 23.06.2022))
76. Gesundheitswissen S. Diagnostik - Wie kann man Adipositas anhand des BMI-Werts erkennen? 2018. <https://www.stiftung-gesundheitswissen.de/wissen/adipositas/diagnostik> (Zuletzt abgerufen am 07.06.2020).

77. Soriano-Maldonado A, Aparicio VA, Félix-Redondo FJ, Fernández-Bergés D. Severity of obesity and cardiometabolic risk factors in adults: Sex differences and role of physical activity. The HERMEX study. *International journal of cardiology* 2016; 223: 352-9.
78. Deurenberg P, Deurenberg-Yap M, Guricci S. Asians are different from Caucasians and from each other in their body mass index/body fat per cent relationship. *Obesity Reviews* 2002; 3(3): 141-6.
79. consultation We. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *The Lancet* 2004; 363(9403): 157-63.
80. Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, et al. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2001; 149(8): 807-18.
81. Gortner L, Meyer S. Duale Reihe Pädiatrie: Thieme; 2018.
82. Hellstern G, Bald M, Blattmann C, Bosse HM. Kurzlehrbuch Pädiatrie: Thieme; 2012.
83. Jugendalter AAIK-u. Definition der Adipositas. <https://aga.adipositas-gesellschaft.de/index.php?id=210> (Zuletzt abgerufen am 08.06.2020).
84. Europe W-ROF. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/obesity/data-and-statistics>. (Zuletzt abgerufen am 02.05.2020).
85. WHO. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. (Zuletzt abgerufen am 02.05.2020)
86. Schienkiewitz A, Brettschneider A-K, Damerow S, Rosario AS. Übergewicht und Adipositas im Kindes- und Jugendalter in Deutschland—Querschnittergebnisse aus KiGGS Welle 2 und Trends. 2018.
87. Puhl RM, King KM. Weight discrimination and bullying. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism* 2013; 27(2): 117-27.
88. Tsiros MD, Olds T, Buckley JD, et al. Health-related quality of life in obese children and adolescents. *International journal of obesity (2005)* 2009; 33(4): 387-400.
89. Al-Hazzaa HM, Abahussain NA, Al-Sobayel HI, Qahwaji DM, Musaiger AO. Lifestyle factors associated with overweight and obesity among Saudi adolescents. *BMC Public Health* 2012; 12: 354-.
90. Pereira-Lancha LO, Campos-Ferraz PL, Lancha AH, Jr. Obesity: considerations about etiology, metabolism, and the use of experimental models. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2012; 5: 75-87.
91. Popkin BM, Adair LS, Ng SW. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. *Nutr Rev* 2012; 70(1): 3-21.
92. Levy E, Saenger AK, Steffes MW, Delvin E. Pediatric Obesity and Cardiometabolic Disorders: Risk Factors and Biomarkers. *Ejifcc* 2017; 28(1): 6-24.
93. Moß A, Wabitsch M, Kromeyer-Hauschild K, Reinehr T, Kurth BM. Prävalenz von Übergewicht und Adipositas bei deutschen Einschulkindern. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 2007; 50(11): 1424-31.
94. Schienkiewitz A, Damerow S, Mauz E, Vogelgesang F, Kuhnert R, Rosario AS. Entwicklung von Übergewicht und Adipositas bei Kindern—Ergebnisse der KiGGS-Kohorte. 2018.
95. Reichetzeder C. Fetale Programmierung – von der Epidemiologie zur Epigenetik. *Journal für Gynäkologische Endokrinologie/Österreich* 2018; 28(2): 40-7.
96. Gluckman PD, Hanson MA. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 2004; 15(4): 183-7.
97. Schulz LC. The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2010; 107(39): 16757-8.
98. Eriksson JG. The fetal origins hypothesis--10 years on. *BMJ* 2005; 330(7500): 1096-7.
99. Hales C, Barker D. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis*,†. *International Journal of Epidemiology* 2012; 42(5): 1215-22.
100. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *British medical bulletin* 2001; 60: 5-20.
101. Plagemann A. Perinatale Programmierung, neuro-endokrine Epigenomik und präventive Medizin – Das Konzept der *Vegetativen Prägung*. *Nova Acta Leopoldina NF120*. 2014:197-225.
102. Dörner G. Problems and terminology of functional teratology. *Acta biologica et medica Germanica* 1975; 34(6): 1093-5.
103. Dudenhausen APuJW. Weichenstellung im Mutterleib - Über Perinatale Programmierung und künftige Präventivmedizin. *Humboldt-Spektrum*. 2008:S. 4-10.
104. Chen C, Xu X, Yan Y. Estimated global overweight and obesity burden in pregnant women based on panel data model. *PLoS One* 2018; 13(8): e0202183-e.
105. Champion ML, Harper LM. Gestational Weight Gain: Update on Outcomes and Interventions. *Current diabetes reports* 2020; 20(3): 11.

106. Kasper P, Vohlen C, Dinger K, et al. Renal Metabolic Programming Is Linked to the Dynamic Regulation of a Leptin-Klf15 Axis and Akt/AMPK α Signaling in Male Offspring of Obese Dams. *Endocrinology* 2017; 158(10): 3399-415.
107. Almeida MM, Dias-Rocha CP, Souza AS, et al. Perinatal maternal high-fat diet induces early obesity and sex-specific alterations of the endocannabinoid system in white and brown adipose tissue of weanling rat offspring. *British Journal of Nutrition* 2017; 118(10): 788-803.
108. Nicholas LM, Morrison JL, Rattanatray L, Zhang S, Ozanne SE, McMillen IC. The early origins of obesity and insulin resistance: timing, programming and mechanisms. *International journal of obesity (2005)* 2016; 40(2): 229-38.
109. Buckley AJ, Keserü B, Briody J, Thompson M, Ozanne SE, Thompson CH. Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. *Metabolism: clinical and experimental* 2005; 54(4): 500-7.
110. Janoschek R, Bae-Gartz I, Vohlen C, et al. Dietary intervention in obese dams protects male offspring from WAT induction of TRPV4, adiposity, and hyperinsulinemia. *Obesity (Silver Spring, Md)* 2016; 24(6): 1266-73.
111. Krasnow SM, Nguyen ML, Marks DL. Increased maternal fat consumption during pregnancy alters body composition in neonatal mice. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism* 2011; 301(6): E1243-53.
112. Nicholas LM, Morrison JL, Rattanatray L, et al. Differential effects of exposure to maternal obesity or maternal weight loss during the periconceptual period in the sheep on insulin signalling molecules in skeletal muscle of the offspring at 4 months of age. *PLoS One* 2013; 8(12): e84594-e.
113. Rattanatray L, MacLaughlin SM, Kleemann DO, Walker SK, Muhlhausler BS, McMillen IC. Impact of maternal periconceptual overnutrition on fat mass and expression of adipogenic and lipogenic genes in visceral and subcutaneous fat depots in the postnatal lamb. *Endocrinology* 2010; 151(11): 5195-205.
114. Muhlhausler BS, Duffield JA, McMillen IC. Increased Maternal Nutrition Increases Leptin Expression in Perirenal and Subcutaneous Adipose Tissue in the Postnatal Lamb. *Endocrinology* 2007; 148(12): 6157-63.
115. Plagemann A, Harder T, Schellong K, Schulz S, Stupin JH. Early postnatal life as a critical time window for determination of long-term metabolic health. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism* 2012; 26(5): 641-53.
116. Plagemann A, Harder T, Brunn M, et al. Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. *The Journal of physiology* 2009; 587(Pt 20): 4963-76.
117. Plagemann A, Dudenhausen JW. Adipositas als Risiko in der Perinatalmedizin. München: Springer; 2010.
118. Li J, Huang J, Li JS, Chen H, Huang K, Zheng L. Accumulation of endoplasmic reticulum stress and lipogenesis in the liver through generational effects of high fat diets. *Journal of hepatology* 2012; 56(4): 900-7.
119. Rooney K, Ozanne SE. Maternal over-nutrition and offspring obesity predisposition: targets for preventative interventions. *International journal of obesity (2005)* 2011; 35(7): 883-90.
120. Deans C, Maggert KA. What do you mean, "epigenetic"? *Genetics* 2015; 199(4): 887-96.
121. Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429(6990): 457-63.
122. Yamada L, Chong S. Epigenetic studies in Developmental Origins of Health and Disease: pitfalls and key considerations for study design and interpretation. *Journal of developmental origins of health and disease* 2017; 8(1): 30-43.
123. Czyz W, Morahan JM, Ebers GC, Ramagopalan SV. Genetic, environmental and stochastic factors in monozygotic twin discordance with a focus on epigenetic differences. *BMC medicine* 2012; 10: 93.
124. Yagi S, Hirabayashi K, Sato S, et al. DNA methylation profile of tissue-dependent and differentially methylated regions (T-DMRs) in mouse promoter regions demonstrating tissue-specific gene expression. *Genome research* 2008; 18(12): 1969-78.
125. Shiota K, Kogo Y, Ohgane J, et al. Epigenetic marks by DNA methylation specific to stem, germ and somatic cells in mice. *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms* 2002; 7(9): 961-9.
126. Mariman ECM, Wang P. Adipocyte extracellular matrix composition, dynamics and role in obesity. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2010; 67(8): 1277-92.
127. Chang E, Varghese M, Singer K. Gender and Sex Differences in Adipose Tissue. *Current diabetes reports* 2018; 18(9): 69.

128. Listenberger LL, Han X, Lewis SE, et al. Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; 100(6): 3077-82.
129. Cartwright MJ, Tchkonja T, Kirkland JL. Aging in adipocytes: potential impact of inherent, depot-specific mechanisms. *Experimental gerontology* 2007; 42(6): 463-71.
130. Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest* 2011; 121(6): 2094-101.
131. Muir LA, Neeley CK, Meyer KA, et al. Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: Correlations with diabetes in human obesity. *Obesity (Silver Spring, Md)* 2016; 24(3): 597-605.
132. Khan T, Muise ES, Iyengar P, et al. Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. *Molecular and cellular biology* 2009; 29(6): 1575-91.
133. Sun K, Tordjman J, Clément K, Scherer PE. Fibrosis and adipose tissue dysfunction. *Cell metabolism* 2013; 18(4): 470-7.
134. Kabon B, Nagele A, Reddy D, et al. Obesity decreases perioperative tissue oxygenation. *Anesthesiology* 2004; 100(2): 274-80.
135. Höpfl G, Ogunshola O, Gassmann M. HIFs and tumors--causes and consequences. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 2004; 286(4): R608-23.
136. Curat CA, Miranville A, Sengenès C, et al. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes* 2004; 53(5): 1285-92.
137. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *Journal of lipid research* 2005; 46(11): 2347-55.
138. Stout MB, Justice JN, Nicklas BJ, Kirkland JL. Physiological Aging: Links Among Adipose Tissue Dysfunction, Diabetes, and Frailty. *Physiology (Bethesda, Md)* 2017; 32(1): 9-19.
139. Campisi J. Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors. *Cell* 2005; 120(4): 513-22.
140. Hotamisligil GS, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 1994; 43(11): 1271-8.
141. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444(7121): 860-7.
142. Amin MN, Hussain MS, Sarwar MS, et al. How the association between obesity and inflammation may lead to insulin resistance and cancer. *Diabetes & metabolic syndrome* 2019; 13(2): 1213-24.
143. Boehncke WH. Systemic Inflammation and Cardiovascular Comorbidity in Psoriasis Patients: Causes and Consequences. *Frontiers in immunology* 2018; 9: 579.
144. Buleu F, Sirbu E, Caraba A, Dragan S. Heart Involvement in Inflammatory Rheumatic Diseases: A Systematic Literature Review. *Medicina (Kaunas, Lithuania)* 2019; 55(6).
145. Yang Z, Huffman SL. Nutrition in pregnancy and early childhood and associations with obesity in developing countries. *Maternal & child nutrition* 2013; 9 Suppl 1(Suppl 1): 105-19.
146. Muhlhausler BS, Ong ZY. The fetal origins of obesity: early origins of altered food intake. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets* 2011; 11(3): 189-97.
147. Taylor PD, Poston L. Developmental programming of obesity in mammals. *Experimental physiology* 2007; 92(2): 287-98.
148. Lecoutre S, Deracinois B, Laborie C, et al. Depot- and sex-specific effects of maternal obesity in offspring's adipose tissue. *The Journal of endocrinology* 2016; 230(1): 39-53.
149. Litzenger T, Huber E-K, Dinger K, et al. Maternal high-fat diet induces long-term obesity with sex-dependent metabolic programming of adipocyte differentiation, hypertrophy and dysfunction in the offspring. *Clinical Science* 2020; 134(7): 921-39.
150. Dinger K, Kasper P, Hucklenbruch-Rother E, et al. Early-onset obesity dysregulates pulmonary adipocytokine/insulin signaling and induces asthma-like disease in mice. *Scientific reports* 2016; 6: 24168.
151. Williams L, Seki Y, Vuguin PM, Charron MJ. Animal models of in utero exposure to a high fat diet: A review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 2014; 1842(3): 507-19.
152. Dahlhoff M, Pfister S, Blutke A, et al. Peri-conceptual obesogenic exposure induces sex-specific programming of disease susceptibilities in adult mouse offspring. *Biochimica et biophysica acta* 2014; 1842(2): 304-17.
153. Hartil K, Vuguin PM, Kruse M, et al. Maternal substrate utilization programs the development of the metabolic syndrome in male mice exposed to high fat in utero. *Pediatric research* 2009; 66(4): 368-73.

154. Pérez-Torres I, Gutiérrez-Alvarez Y, Guarner-Lans V, Díaz-Díaz E, Manzano Pech L, Caballero-Chacón SDC. Intra-Abdominal Fat Adipocyte Hypertrophy through a Progressive Alteration of Lipolysis and Lipogenesis in Metabolic Syndrome Rats. *Nutrients* 2019; 11(7).
155. Chusyd DE, Wang D, Huffman DM, Nagy TR. Relationships between Rodent White Adipose Fat Pads and Human White Adipose Fat Depots. *Frontiers in nutrition* 2016; 3: 10.
156. Liang X, Yang Q, Fu X, et al. Maternal obesity epigenetically alters visceral fat progenitor cell properties in male offspring mice. *The Journal of physiology* 2016; 594(15): 4453-66.
157. Crandall DL, Fried SK, Francendese AA, Nickel M, DiGirolamo M. Lactate release from isolated rat adipocytes: influence of cell size, glucose concentration, insulin and epinephrine. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme* 1983; 15(7): 326-9.
158. Šnajder D, Perić Kačarević Ž, Grgić A, et al. Effect of different combination of maternal and postnatal diet on adipose tissue morphology in male rat offspring. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet* 2019; 32(11): 1838-46.
159. Rudnicki M, Abdifarkosh G, Rezvan O, Nwadozi E, Roudier E, Haas TL. Female Mice Have Higher Angiogenesis in Perigonadal Adipose Tissue Than Males in Response to High-Fat Diet. *Frontiers in physiology* 2018; 9: 1452.
160. Stubbins RE, Najjar K, Holcomb VB, Hong J, Núñez NP. Oestrogen alters adipocyte biology and protects female mice from adipocyte inflammation and insulin resistance. *Diabetes, obesity & metabolism* 2012; 14(1): 58-66.
161. Hoyt LT, Falconi AM. Puberty and perimenopause: reproductive transitions and their implications for women's health. *Social science & medicine (1982)* 2015; 132: 103-12.
162. Larson-Meyer DE, Heilbronn LK, Redman LM, et al. Effect of calorie restriction with or without exercise on insulin sensitivity, beta-cell function, fat cell size, and ectopic lipid in overweight subjects. *Diabetes care* 2006; 29(6): 1337-44.
163. Stenkula KG, Erlanson-Albertsson C. Adipose cell size: importance in health and disease. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 2018; 315(2): R284-r95.
164. Adamo KB, Ferraro ZM, Goldfield G, et al. The Maternal Obesity Management (MOM) Trial Protocol: a lifestyle intervention during pregnancy to minimize downstream obesity. *Contemporary clinical trials* 2013; 35(1): 87-96.
165. Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral Fat Adipokine Secretion Is Associated With Systemic Inflammation in Obese Humans. *Diabetes* 2007; 56(4): 1010-3.
166. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, et al. Intra-Abdominal Fat Is a Major Determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Criteria for the Metabolic Syndrome. *Diabetes* 2004; 53(8): 2087-94.
167. Remick DG, Bolgos G, Copeland S, Siddiqui J. Role of interleukin-6 in mortality from and physiologic response to sepsis. *Infection and immunity* 2005; 73(5): 2751-7.
168. Gabay C, Emery P, van Vollenhoven R, et al. Tocilizumab monotherapy versus adalimumab monotherapy for treatment of rheumatoid arthritis (ADACTA): a randomised, double-blind, controlled phase 4 trial. *Lancet (London, England)* 2013; 381(9877): 1541-50.
169. Samaee H, Mohsenzadegan M, Ala S, Maroufi SS, Moradimajd P. Tocilizumab for treatment patients with COVID-19: Recommended medication for novel disease. *International immunopharmacology* 2020; 89(Pt A): 107018.
170. Han MS, White A, Perry RJ, et al. Regulation of adipose tissue inflammation by interleukin 6. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2020; 117(6): 2751-60.
171. Mauer J, Denson JL, Brüning JC. Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer. *Trends in immunology* 2015; 36(2): 92-101.
172. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2000; 85(9): 3338-42.
173. Bastard JP, Maachi M, Van Nhieu JT, et al. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2002; 87(5): 2084-9.
174. Manieri E, Sabio G. Stress kinases in the modulation of metabolism and energy balance. *Journal of molecular endocrinology* 2015; 55(2): R11-22.
175. Lee JT, Pamir N, Liu NC, et al. Macrophage metalloelastase (MMP12) regulates adipose tissue expansion, insulin sensitivity, and expression of inducible nitric oxide synthase. *Endocrinology* 2014; 155(9): 3409-20.

176. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, Mantzoros CS. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Annals of internal medicine* 2010; 152(2): 93-100.
177. Cerf ME, Chapman CS, Louw J. High-fat programming of hyperglycemia, hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperleptinemia, and altered islet architecture in 3-month-old wistar rats. *ISRN endocrinology* 2012; 2012: 627270.
178. Sun B, Purcell RH, Terrillion CE, Yan J, Moran TH, Tamashiro KL. Maternal high-fat diet during gestation or suckling differentially affects offspring leptin sensitivity and obesity. *Diabetes* 2012; 61(11): 2833-41.
179. Mitra A, Alvers KM, Crump EM, Rowland NE. Effect of high-fat diet during gestation, lactation, or postweaning on physiological and behavioral indexes in borderline hypertensive rats. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 2009; 296(1): R20-8.
180. Kern PA, Di Gregorio GB, Lu T, Rassouli N, Ranganathan G. Adiponectin Expression From Human Adipose Tissue. *Relation to Obesity, Insulin Resistance, and Tumor Necrosis Factor- α Expression* 2003; 52(7): 1779-85.
181. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *The Journal of biological chemistry* 1996; 271(18): 10697-703.
182. Aguilar-Salinas CA, García EGa, Robles L, et al. High Adiponectin Concentrations Are Associated with the Metabolically Healthy Obese Phenotype. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2008; 93(10): 4075-9.
183. Phillips CM. Metabolically healthy obesity: Definitions, determinants and clinical implications. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2013; 14(3): 219-27.
184. Horie K, Yamamoto H, Karube K, et al. Cyclin A is a reliable proliferation marker in endometrial cancer cell lines. *Oncol Lett* 2019; 17(5): 4455-62.
185. Zhang W, Feng Y, Guo Q, et al. SIRT1 modulates cell cycle progression by regulating CHK2 acetylation–phosphorylation. *Cell Death & Differentiation* 2020; 27(2): 482-96.
186. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 1994; 79(7): 1147-56.
187. Borengasser SJ, Zhong Y, Kang P, et al. Maternal obesity enhances white adipose tissue differentiation and alters genome-scale DNA methylation in male rat offspring. *Endocrinology* 2013; 154(11): 4113-25.
188. Wang Y, Hudak C, Sul HS. Role of preadipocyte factor 1 in adipocyte differentiation. *Clinical lipidology* 2010; 5(1): 109-15.
189. Fujimura T, Kimura C, Oe T, et al. A selective peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulator with distinct fat cell regulation properties. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2006; 318(2): 863-71.
190. Girusse A, Langin D. Adipocyte lipases and lipid droplet-associated proteins: insight from transgenic mouse models. *International Journal of Obesity* 2012; 36(4): 581-94.
191. Jiang HP, Serrero G. Isolation and characterization of a full-length cDNA coding for an adipose differentiation-related protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1992; 89(17): 7856-60.
192. Takahashi Y, Shinoda A, Kamada H, Shimizu M, Inoue J, Sato R. Perilipin2 plays a positive role in adipocytes during lipolysis by escaping proteasomal degradation. *Scientific reports* 2016; 6(1): 20975.
193. McManaman JL, Bales ES, Orlicky DJ, et al. Perilipin-2-null mice are protected against diet-induced obesity, adipose inflammation, and fatty liver disease. *Journal of lipid research* 2013; 54(5): 1346-59.
194. Birsoy K, Chen Z, Friedman J. Transcriptional regulation of adipogenesis by KLF4. *Cell metabolism* 2008; 7(4): 339-47.
195. Chen N, Wang J. Wnt/ β -Catenin Signaling and Obesity. *Frontiers in physiology* 2018; 9: 792.
196. Bagchi DP, Nishii A, Li Z, et al. Wnt/ β -catenin signaling regulates adipose tissue lipogenesis and adipocyte-specific loss is rigorously defended by neighboring stromal-vascular cells. *Molecular metabolism* 2020; 42: 101078.
197. MOLDES M, ZUO Y, MORRISON RF, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor γ suppresses Wnt/ β -catenin signalling during adipogenesis. *Biochemical Journal* 2003; 376(3): 607-13.
198. Wang Y-C, Peterson SE, Loring JF. Protein post-translational modifications and regulation of pluripotency in human stem cells. *Cell Research* 2014; 24(2): 143-60.
199. Park B, Chang S, Lee G-J, Kang B, Kim JK, Park H. Wnt3a disrupts GR-TEAD4-PPAR γ 2 positive circuits and cytoskeletal rearrangement in a β -catenin-dependent manner during early adipogenesis. *Cell Death & Disease* 2019; 10(1): 16.

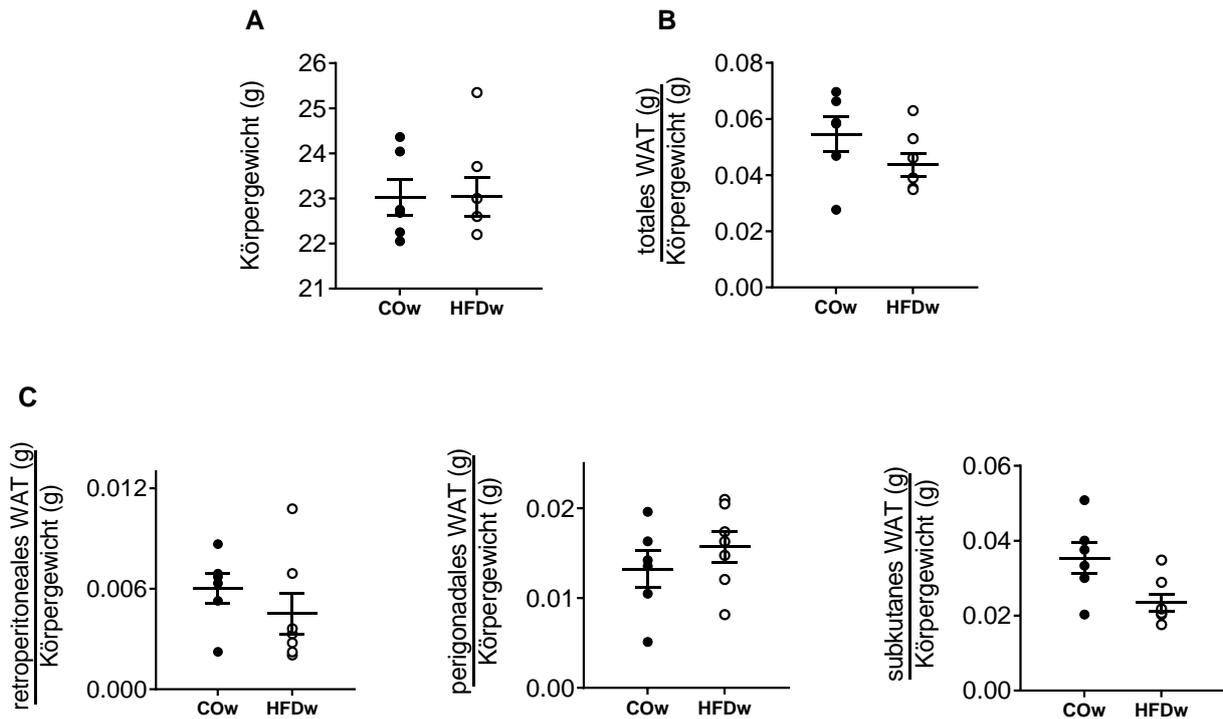
200. Bagchi DP, Nishii A, Li Z, et al. Wnt/ β -catenin signaling regulates adipose tissue lipogenesis and adipocyte-specific loss is rigorously defended by neighboring stromal-vascular cells. *Molecular metabolism* 2020; 42: 101078.
201. Chen M, Lu P, Ma Q, et al. CTNNB1/ β -catenin dysfunction contributes to adiposity by regulating the cross-talk of mature adipocytes and preadipocytes. *Science advances* 2020; 6(2): eaax9605.
202. Borengasser SJ, Zhong Y, Kang P, et al. Maternal Obesity Enhances White Adipose Tissue Differentiation and Alters Genome-Scale DNA Methylation in Male Rat Offspring. *Endocrinology* 2013; 154(11): 4113-25.
203. Shankar K, Kang P, Harrell A, et al. Maternal overweight programs insulin and adiponectin signaling in the offspring. *Endocrinology* 2010; 151(6): 2577-89.
204. Zhu MJ, Han B, Tong J, et al. AMP-activated protein kinase signalling pathways are down regulated and skeletal muscle development impaired in fetuses of obese, over-nourished sheep. *The Journal of physiology* 2008; 586(10): 2651-64.
205. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature medicine* 2002; 8(11): 1288-95.
206. Boonchaya-anant P, Apovian CM. Metabolically Healthy Obesity—Does it Exist? *Current Atherosclerosis Reports* 2014; 16(10): 441.
207. Yoshida K, Kita Y, Tokuoka SM, et al. Monoacylglycerol lipase deficiency affects diet-induced obesity, fat absorption, and feeding behavior in CB(1) cannabinoid receptor-deficient mice. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2019; 33(2): 2484-97.
208. Teixeira AA, Lira FS, Pimentel GD, et al. Aerobic Exercise Modulates the Free Fatty Acids and Inflammatory Response During Obesity and Cancer Cachexia. *Critical reviews in eukaryotic gene expression* 2016; 26(3): 187-98.
209. Heck AM, Yanovski JA, Calis KA. Orlistat, a new lipase inhibitor for the management of obesity. *Pharmacotherapy* 2000; 20(3): 270-9.
210. Chon SH, Douglass JD, Zhou YX, et al. Over-expression of monoacylglycerol lipase (MGL) in small intestine alters endocannabinoid levels and whole body energy balance, resulting in obesity. *PLoS One* 2012; 7(8): e43962.
211. Jager G, Witkamp RF. The endocannabinoid system and appetite: relevance for food reward. *Nutrition research reviews* 2014; 27(1): 172-85.
212. Mulvihill MM, Nomura DK. Therapeutic potential of monoacylglycerol lipase inhibitors. *Life sciences* 2013; 92(8-9): 492-7.
213. Furuhashi M, Saitoh S, Shimamoto K, Miura T. Fatty Acid-Binding Protein 4 (FABP4): Pathophysiological Insights and Potent Clinical Biomarker of Metabolic and Cardiovascular Diseases. *Clinical Medicine Insights Cardiology* 2014; 8(Suppl 3): 23-33.
214. Uysal KT, Scheja L, Wiesbrock SM, Bonner-Weir S, Hotamisligil GS. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2. *Endocrinology* 2000; 141(9): 3388-96.
215. Li N, Zhao F, Wei C, et al. Function of SREBP1 in the milk fat synthesis of dairy cow mammary epithelial cells. *International journal of molecular sciences* 2014; 15(9): 16998-7013.
216. Vithayathil MA, Gugusheff JR, Ong ZY, Langley-Evans SC, Gibson RA, Muhlhausler BS. Exposure to maternal cafeteria diets during the suckling period has greater effects on fat deposition and Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c (SREBP-1c) gene expression in rodent offspring compared to exposure before birth. *Nutrition & metabolism* 2018; 15: 17.
217. Kolehmainen M, Vidal H, Alhava E, Uusitupa MI. Sterol regulatory element binding protein 1c (SREBP-1c) expression in human obesity. *Obesity research* 2001; 9(11): 706-12.
218. Nadler ST, Stoehr JP, Schueler KL, Tanimoto G, Yandell BS, Attie AD. The expression of adipogenic genes is decreased in obesity and diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000; 97(21): 11371-6.
219. Londhe P, Guttridge DC. Inflammation induced loss of skeletal muscle. *Bone* 2015; 80: 131-42.
220. Shankar K, Harrell A, Liu X, Gilchrist JM, Ronis MJ, Badger TM. Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 2008; 294(2): R528-38.
221. Oestmann JW. Radiologie: vom Fall zur Diagnose ; 15 Tabellen: Thieme; 2005.
222. Ibáñez CA, Vázquez-Martínez M, León-Contreras JC, et al. Different Statistical Approaches to Characterization of Adipocyte Size in Offspring of Obese Rats: Effects of Maternal or Offspring Exercise Intervention. *Frontiers in physiology* 2018; 9: 1571.
223. Dinger K, Koningsbruggen-Rietschel SV, Dötsch J, Alejandre Alcazar MA. Identification of Critical Windows of Metabolic Programming of Metabolism and Lung Function in Male Offspring of Obese Dams. *Clinical and translational science* 2020; 13(6): 1065-70.

224. Symonds ME, Stephenson T, Gardner DS, Budge H. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: mechanisms and critical windows. *Reproduction, fertility, and development* 2007; 19(1): 53-63.
225. Hedegger K, Philippou-Massier J, Krebs S, et al. Sex-specific programming effects of parental obesity in pre-implantation embryonic development. *International Journal of Obesity* 2020; 44(5): 1185-90.
226. Ahrén B, Scheurink AJ. Marked hyperleptinemia after high-fat diet associated with severe glucose intolerance in mice. *European journal of endocrinology* 1998; 139(4): 461-7.
227. Fisher RE, Steele M, Karrow NA. Fetal programming of the neuroendocrine-immune system and metabolic disease. *Journal of pregnancy* 2012; 2012: 792934.
228. Zucker I, Beery AK. Males still dominate animal studies. *Nature* 2010; 465(7299): 690-.
229. Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine reviews* 2013; 34(3): 309-38.
230. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2010; 121(7): e46-e215.
231. Blenck CL, Harvey PA, Reckelhoff JF, Leinwand LA. The Importance of Biological Sex and Estrogen in Rodent Models of Cardiovascular Health and Disease. *Circulation research* 2016; 118(8): 1294-312.

7.2 Zusätzliche Ergebnisse

Anhang 1

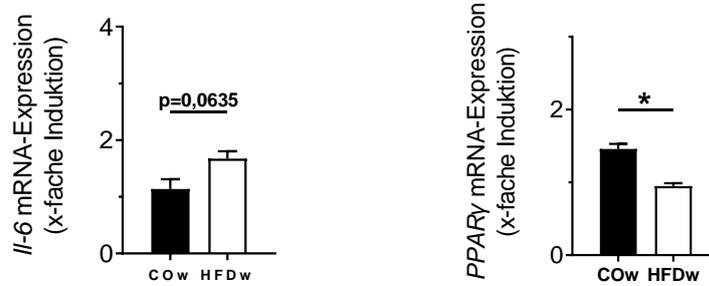
Postnataler Tag 120



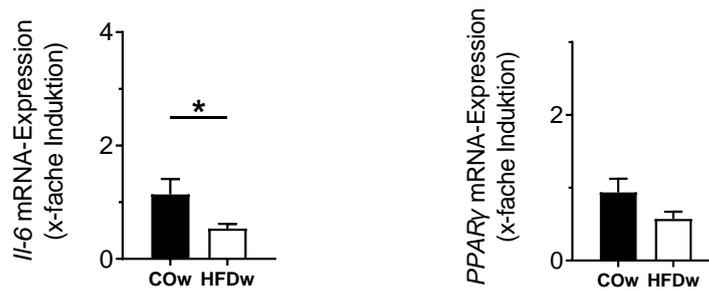
Anhang 1: Auswertung der Körper- und Organgewichte an P120. **(A)** Körpergewicht in g und **(B)** Weißes Fettgewebe (*white adipose tissue*, WAT, g) gemessen relativ zum Körpergewicht (g). Totales WAT enthält retroperitoneales, perigonadales, und subkutanes WAT **(C)**. Schwarzer Balken = Kontrollgruppe weiblich (COW) und weißer Balken = Versuchsgruppe (Hochfettdiät weiblich, HFDw); n pro Gruppe: 6-7; Mittelwert \pm Standardfehler; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; durchgeführter statistischer Test: Mann-Whitney-test.

Anhang 2

Postnataler Tag 21

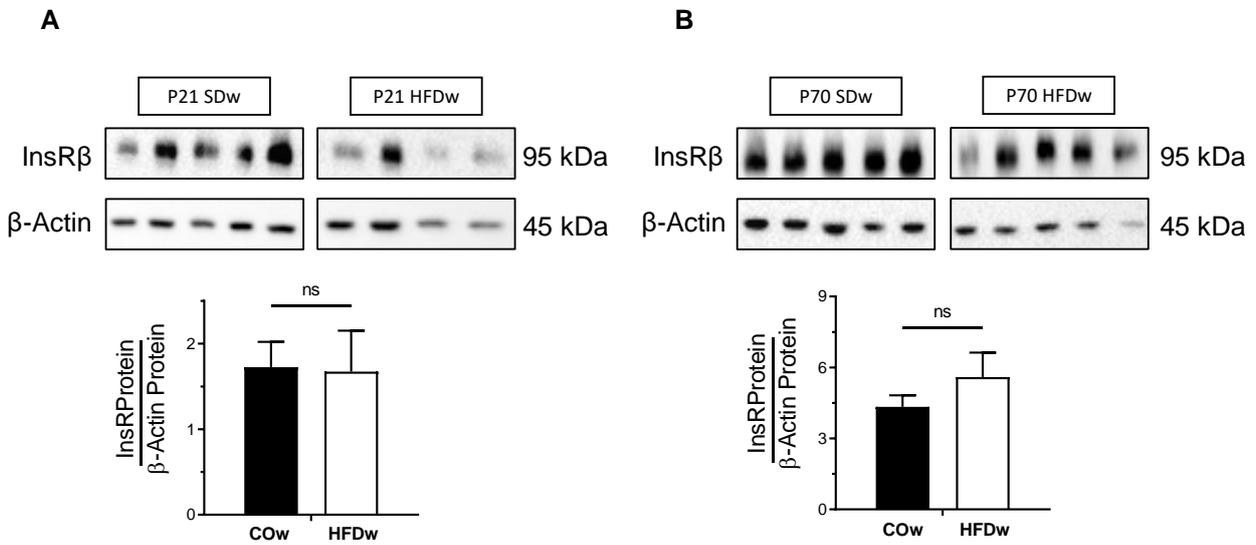


Postnataler Tag 70



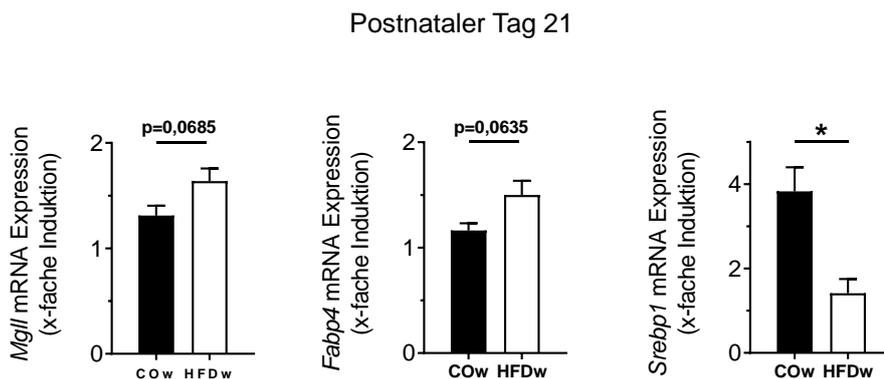
Anhang 2: Auswertung der Genexpressionen durch RT-PCR an P21 und P70 für *IL-6* und *PPAR-γ*. Jeweils linker Graph: *IL-6*, jeweils rechter Graph: *PPAR-γ*. Schwarzer Balken = Kontrollgruppe weiblich (COW) und weißer Balken = Versuchsgruppe (Hochfett-diät weiblich, HFDw); *n* pro Gruppe: 4-5; Mittelwert ± Standardfehler; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; housekeeping gene an P21: *HPRT*; housekeeping gene an P70: β -*Actin*; Referenzgruppe: SDm; durchgeführter statistischer Test: Mann-Whitney-test.

Anhang 3



Anhang 3: Immunoblotting des *Insulinrezeptor* β im perigonadalen weißen Fettgewebe an P21 (A) und P 70 (B); Die Ladungskontrolle ist β -Actin. Schwarzer Balken = Kontrollgruppe weiblich (COw) und weißer Balken = Versuchsgruppe (Hochfettdiät weiblich, HFDw); n pro Gruppe: 4-5; Mittelwert \pm Standardfehler; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; durchgeführter statistischer Test: Mann-Whitney-test.

Anhang 4



Anhang 4: Auswertung der Genexpressionen im perigonadalen weißen Fettgewebe durch RT-PCR an P21 für *Mgll*, *Fabp4* und *Srebp1*. Schwarzer Balken = Kontrollgruppe weiblich (COw) und weißer Balken = Versuchsgruppe (Hochfettdiät weiblich, HFDw); n pro Gruppe: 4-5; Mittelwert \pm Standardfehler; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; housekeeping gene: *HPRT*; Referenzgruppe: SDm; durchgeführter statistischer Test: Mann-Whitney-test.