

Inhaltsverzeichnis

1.EINLEITUNG.....	4
1.1 DAS FETTGEWEBE-ENERGIESPEICHER UND ENDOKRINES ORGAN	4
1.2 ADIPONEKTIN.....	4
1.2.1 HISTORISCHES - ENTDECKUNG DES MULTIFUNKTIONELLEN PROTEINS	4
1.2.2 ADIPONEKTIN- DAS PROTEIN	5
1.2.2.1 DIE PROTEINSTRUKTUR	5
1.2.2.2 EXPRESSION UND SEKRETION	7
1.2.2.3 REGULATION DER EXPRESSION UND SEKRETION	9
1.2.2.4 METABOLISMUS UND ELIMINATION	11
1.3 DIE ADIPONEKTINREZEPTOREN	11
1.3.1 HISTORISCHES - IDENTIFIKATION DER ADIPONEKTINREZEPTOREN	11
1.3.2 DIE PROTEINE ADIPOR1 UND ADIPOR2.....	12
1.3.2.1 DIE PROTEINSTRUKTUR	12
1.3.2.2 EXPRESSION UND SIGNALTRANSDUKTION	13
1.4 PHYSIOLOGISCHE AKTIVITÄT VON ADIPONEKTIN	16
1.4.1 ADIPONEKTIN – DAS AUTOKRINE ADIPOSTAT	16
1.4.2 DIE PARAKRINE WIRKUNG ADIPONEKTINS	16
1.4.3 DAS ENDOKRINE WIRKUNGSSPEKTRUM ADIPONEKTINS.....	17
1.4.3.1 ANTIDIABETOGENE AKTIVITÄT	17
1.4.3.2 ANTIATHEROSKLEROTISCHE WIRKUNG	18
1.4.3.3 ANTIINFLAMMATORISCHE AKTIVITÄT	26
1.4.3.4 EINFLUSS AUF DEN LIPIDMETABOLISMUS	26
1.4.3.5 ADIPONEKTIN UND DAS ZNS.....	27
1.5 DIE PATHOPHYSIOLOGISCHE ROLLE ADIPONEKTINS	28
1.5.1 ADIPONEKTIN UND DAS METABOLISCHE SYNDROM.....	28
1.5.2 ADIPONEKTIN UND KORONARE HERZERKRANKUNG	29
1.6 DIE ADIPONEKTIN HYPOTHESE	30

2.METHODEN 32

2.1. STUDIENPOPULATION 32

2.1.1 DIE HERZINFARKT FAMILIENSTUDIE..... 32

2.1.2 RETROSPEKTIVE FALL-KONTROLL-STUDIE 32

2.1.3 PROSPEKTIVE GENESTETE FALL-KONTROLL-STUDIE 33

2.2 STUDIENDESIGN 33

2.2.1 RETROSPEKTIVE FALL-KONTROLL-STUDIE 33

2.2.2 PROSPEKTIVE GENESTETE FALL-KONTROLL-STUDIE 34

2.3 DURCHFÜHRUNG DES ADIPONEKTIN-MULTIMER-ELISAS 34

2.4 STATISTISCHE METHODEN 40

3. ERGEBNISSE 41

3.1 BASELINE-CHARAKTERISTIKA 41

3.1.1 BASELINE-CHARAKTERISTIKA DER POPULATION 1 41

3.1.2 BASELINE-CHARAKTERISTIKA DER POPULATION 2 42

3.2 ERGEBNISSE DER RETROSPEKTIVEN FALL-KONTROLL-STUDIE 43

3.2.1 VERTEILUNG DER ADIPONEKTIN-MULTIMERE IN DEN VIER GRUPPEN DER POPULATION
1 43

3.2.2 BESTIMMUNG DES GESAMTADIPONEKTINS UND DER ADIPONEKTIN-MULTIMERE IN
ABHÄNGIGKEIT VON ADIPOSITAS 44

3.2.3 UNTERSUCHUNG DES VERHALTENS VON GESAMTADIPONEKTIN UND ADIPONEKTIN-
MULTIMEREN IN ABHÄNGIGKEIT VON ADIPOSITAS UND HERZINFARKT 45

3.2.4 UNTERSUCHUNG DES VERHALTENS VON GESAMTADIPONEKTIN IN ABHÄNGIGKEIT DES
HERZINFARKTES 47

3.2.5 UNTERSUCHUNG DER ADIPONEKTIN-MULTIMERE SOWIE IHR VERHALTEN ZU
GESAMTADIPONEKTIN IN ABHÄNGIGKEIT EINES HERZINFARKTEREIGNISSES..... 48

3.2.6 UNTERSUCHUNG DER VERHÄLTNISSE HMW-GESAMT-ADIPONEKTIN, MMW-GESAMT-
ADIPONEKTIN UND MMW-HMW-ADIPONEKTIN IN ABHÄNGIGKEIT EINES
MYOKARDINFARKTES UND DES BMI 49

3.2.7 UNTERSUCHUNG DER VERTEILUNG DER WERTE DER MMW-HMW-ADIPONEKTIN-
RATIO..... 51

3.2.8 MULTIVARIATE ANALYSE 52

3.2.9 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE DER RETROSPEKTIVEN FALL-KONTROLL-STUDIE	53
3.3 ERGEBNISSE DER PROSPEKTIVEN GENESTETEN FALL-KONTROLL-STUDIE	53
3.3.1 UNTERSUCHUNG DER MMW-HMW-ADIPONEKTIN-RATIO BEI FÄLLEN UND KONTROLLEN	53
3.3.2 UNTERSUCHUNG DES HERZINFARKTRISIKOS IN ABHÄNGIGKEIT DER MMW-HMW-ADIPONEKTIN-RATIO	54
3.3.3 UNTERSUCHUNG DER MMW-HMW-ADIPONEKTIN-RATIO ALS PRÄDIKTOR FÜR FATALE ODER NICHT FATALE HERZINFARKTE IN ABHÄNGIGKEIT DER ZEIT.....	55
3.3.4 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE DER PROSPEKTIVEN GENESTETEN FALL-KONTROLL-STUDIE	56
<u>4.DISKUSSION</u>	<u>57</u>
4.1. ADIPONEKTIN UND ADIPOSITAS	57
4.2. ADIPONEKTIN UND MYOKARDINFARKT	60
4.2.1 VERÄNDERTE QUANTITÄT VON GESAMTADIPONEKTIN UND ADIPONEKTIN- MULTIMEREN SOWIE ALTERATION DER VERHÄLTNISSE VON GESAMTADIPONEKTIN ZU ADIPONEKTIN- MULTIMEREN UND DES VERHÄLTNISSSES VON MMW- ZU HMW-ADIPONEKTIN IM PLASMA VON HERZINFARKT-PATIENTEN	60
4.2.2 ALTERATION DES VERHÄLTNISSSES MMW-HMW-ADIPONEKTIN ALS UNABHÄNGIGER PRÄDIKTOR FÜR DAS AUFTRETEN EINES MYOKARDINFARKTES.....	68
<u>5. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK</u>	<u>75</u>
<u>6.LITERATUR</u>	<u>79</u>
<u>7. ANHANG.....</u>	<u>91</u>
<u>8.DANKSAGUNG</u>	<u>94</u>
<u>9.LEBENS LAUF</u>	<u>95</u>

1. Einleitung

1.1 Das Fettgewebe-Energiespeicher und endokrines Organ

Neue Fortschritte in den biomedizinischen Wissenschaften verändern kontinuierlich unsere Ansichten über die Rolle und Funktion verschiedener Gewebe und Organe im menschlichen Organismus. Das Fettgewebe stellt hierfür ein typisches Beispiel dar. Es ist sowohl ein bedeutender Energiespeicher als auch entscheidend an der Erhaltung der Energiehomöostase beteiligt: Es speichert in Zeiten des Nahrungsüberflusses Energie in Form von Triglyzeriden und setzt bei mangelnder Nahrungszufuhr Energie als freie Fettsäuren wieder frei (1;2). Weißes Fettgewebe stellt demzufolge zwar einerseits in Zeiten des Hungerns einen Überlebensvorteil dar, andererseits führt ein Übermaß an Fettgewebe, wie es heute in der westlichen Welt durch Nahrungsüberfluss häufig der Fall ist, zu Fettleibigkeit und den damit verbundenen gesundheitlichen Problemen wie Insulinresistenz, Diabetes mellitus Typ 2, Dyslipidämie, arterielle Hypertension und Arteriosklerose.

Neben dieser klassischen Rolle als Energiespeicher wurde das Fettgewebe in den letzten Jahren immer mehr auch als wichtiges endokrines Organ anerkannt, das durch multiple hormonelle Signale, nukleäre Hormonrezeptoren (3;4) und das Zentrale Nervensystem reguliert wird, und selbst sowohl den Metabolismus des Körpers als auch Entzündungs- und Immunantwort beeinflusst (2;5). Diese Prozesse werden durch eine nicht unbeträchtliche Menge an biologisch aktiven Adipokinen, wie Adipsin (6), Leptin (7), Plasminogen Aktivator Inhibitor-1(8), Resistin (9), Tumor Nekrose Faktor- α (10) und Adiponektin, die vom Fettgewebe sezerniert werden, übermittelt. Von all diesen Molekülen hat Adiponektin durch seine Effekte sowohl auf die Insulinsensitivität, den Lipidmetabolismus und den Entzündungsprozess als auch durch seine protektive Wirkung das kardiovaskuläre System betreffend besondere Aufmerksamkeit auf sich gezogen.

1.2 Adiponektin

1.2.1 Historisches - Entdeckung des multifunktionellen Proteins

Adiponektin wurde ursprünglich von vier voneinander unabhängigen Forschungsgruppen auf unterschiedliche Vorgehensweisen identifiziert. Dies führte dazu, dass heute verschiedene Namen für ein und dasselbe Protein kursieren. SCHERER ET

AL. entdeckten 1995 zum ersten Mal ein von differenzierten 3T3-L1 Mauszellen synthetisiertes und sezerniertes Protein, das sie wegen seiner Homologie zum Komplementfaktor C1q, adipocyte-complement-related-protein-of-30 kDa, ACRP30, nannten (11). Dasselbe Protein wurde hiervon unabhängig von HU ET AL. als AdipoQ identifiziert (12). Das menschliche Adiponektinhomolog wurde im Verlauf durch Sequenzierung randomisierter DNA-Klone entdeckt. MAEDA ET AL. benannten es als das häufigste Transskript in menschlichem Fettgewebe, als adipose-most-abundant-gene-transcript-1, APM1(13). Gleichzeitig und unabhängig von der Forschungsgruppe um MAEDA konnte Adiponektin von NAKANO ET AL. als ein gelatinbindendes Protein aus humanem Plasma isoliert werden. Wegen seiner hohen Affinität zu Gelatineharz, wurde das Protein von dieser Gruppe gelatin-binding-protein-of-28-kDa, GBP28 genannt (14).

1.2.2 Adiponektin- Das Protein

1.2.2.1 Die Proteinstruktur

Das von dem auf Chromosom 3q27 gelegenen Gen ADIPOQ kodierte Protein Adiponektin umfasst 244 Aminosäuren und wird von reifen Adipozyten des weißen und braunen Fettgewebes exprimiert. Adiponektin bildet ein charakteristisches Homomultimer (15) und gehört somit aus struktureller Sicht zur Komplement 1q Familie (16-18). Seine Primärsequenz besteht aus einem Signalpeptid am N-Terminus, einer variablen Region, die innerhalb verschiedener Spezies keinerlei Homologien zeigt, einer kollagenähnlichen Region, die entweder 22 Glycin-X-Prolin oder Glycin-X-Y Wiederholungen beinhaltet, sowie einer globulären Domäne am C-Terminus, deren Sequenz Homologie zu Komplementfaktor 1q, Kollagen VIII und X aufweist. Diese Sequenz ist unter Säugetieren höchst konserviert (19).

Posttranslational kommt es zu einigen Modifikationen, die für die Ausbildung von Multimeren sowie die vielfachen Funktionen von Adiponektin notwendig sind. So bilden Cysteinreste, an Position 36 in der variablen Domäne im N-Terminus im menschlichen Adiponektin beziehungsweise an Position 39 in dem der Maus, untereinander Disulfidbrücken aus. Anschließend kommt es zur Hydroxilierung und Glykosilierung von vier hochkonservierten Lysinresten in der kollagenähnlichen Domäne. Diese Modifikationen sind unabdinglich für die Ausbildung höherer Oligomerkomplexe (20-22). Einen indirekten Beweis hierfür liefert die Tatsache, dass

das von Bakterien, die keine anderen posttranslationalen Modifikationen außer der Ausbildung von Disulfidbrücken durchführen können, exprimierte Adiponektin keine hochmolekularen Komplexe bilden kann (23).

Desweiteren wurde berichtet, dass Adiponektin sialyliert wird. Die biologische Bedeutung dieser Modifikation konnte jedoch bisher nicht näher identifiziert werden (24).

Adiponektin existiert in humanem- und in Mäuseplasma in Form von verschiedenen Oligomeren. Als Trimere, dem sogenannten low-molecular-weight (LMW), den Hexameren, dem sogenannten middle-molecular-weight (MMW) und als Dodecamere oder -18-mere, dem sogenannten high-molecular-weight (HMW) (15;21;23). Desweiteren findet man einen geringen Prozentsatz an globulärem Adiponektin (25). Es wurde berichtet, dass dieses globuläre Fragment durch proteolytische Abspaltung der N-terminalen sowie der kollagenähnlichen Sequenz durch die von aktivierten Monozyten sezernierte Leukozyten-Elastase aus höheren Adiponektin-Oligomeren hervorgeht (26).

Dieses globuläre Adiponektin kann sich lediglich zu Trimeren zusammenlagern. Nichtsdestotrotz soll seine biologische Aktivität die der vollständigen Proteinformen deutlich überschreiten.

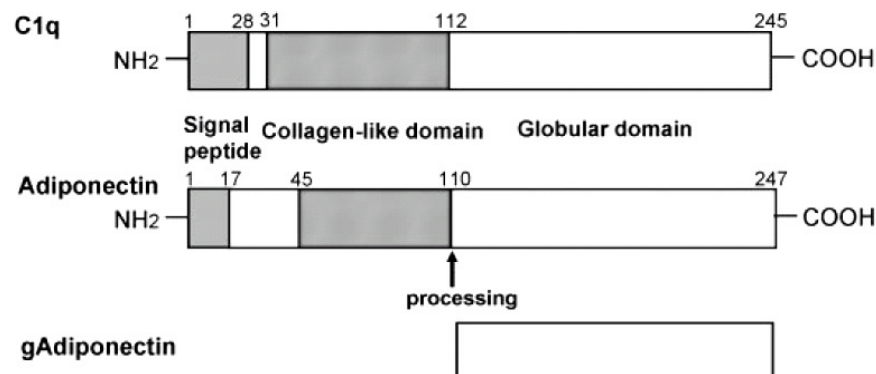


Abbildung 1: Adiponektin besteht aus einer N-Terminalen Signalsequenz, einer kollagenähnlichen Sequenz und einer globulären Region am C-Terminus. Ebenso kann eine kleine Menge globuläres Adiponektin im menschlichen Plasma gefunden werden (27).

Durch einfache SDS-PAGE ohne Hitzedenaturierung und Reduzierung, unter Zuhilfenahme eines Antiadiponektin-Antikörpers, können die verschiedenen Adiponektinmultimere eindeutig voneinander getrennt werden (22).

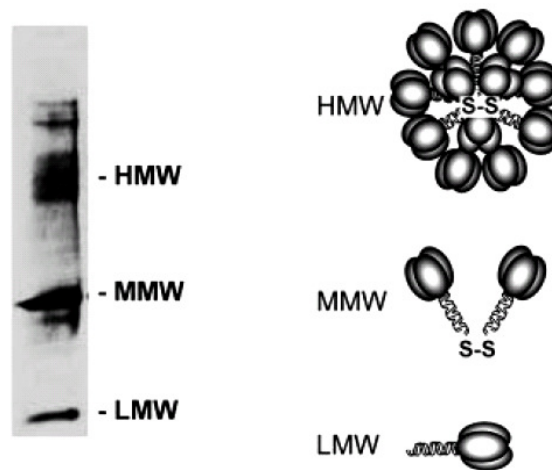


Abbildung 2: Multimerbildung von Adiponektin. LMW, low-molecular-weight; MMW, middle-molecular-weight; HMW, high-molecular-weight; S-S, Disulfidbrücke (27).

Unter allen diesen in Abbildung 2 gezeigten Oligomeren, die im menschlichen Plasma nachgewiesen werden können, wird die höchste biologische Aktivität den Komplexen höherer Ordnung, der HMW-Form, zugeschrieben.

Das von Säugetieren produzierte Protein ist somit potenter als das von Bakterien exprimierte Adiponektin, das, wie bereits erwähnt, auf Grund mangelnder posttranslationaler Modifikationen keine Komplexe höherer Ordnung bilden kann (20;21;28).

1.2.2.2 Expression und Sekretion

Adiponektin messenger RNA wird, wie bereits erwähnt, im Fettgewebe exprimiert. Seit erst kurzer Zeit ist bekannt, dass Adiponektin auch von anderen Organen, wie Knochenmark (29), Osteoblasten (30), Myozyten, Kardiomyozyten (31) und Epithelzellen der Speicheldrüsen (32) produziert werden kann. Adiponektin wurde in fetalem Gewebe mesodermalen Ursprungs, wie weißem oder braunem Fettgewebe, quergestreiften Muskelzellen, glatten Muskelzellen des Dünndarms und arterieller Gefäßwände sowie im Perineurium, der Nierenkapsel und ektodermalem Gewebe, wie der Epidermis, nachgewiesen. Mit Dauer der Schwangerschaft ging die Nachweisbarkeit von Adiponektin in Nicht-Fettgewebe deutlich zurück, was möglicherweise auch auf eine Beteiligung von Adiponektin bei der fetalen Entwicklung hinweist (33). Der größte Anteil des im Plasma adulter Menschen zirkulierenden Adiponektins aber wird von Adipozyten gebildet. Adiponektin stellt das am meisten von Fettgewebe sezernierte Protein dar. Seine Plasmakonzentrationen

sind mit einem Anteil von 0,01% der gesamten Plasmaproteine um das zwei- bis dreifache höher als die anderer Polypeptidhormone (19). Die Adiponektinkonzentrationen in menschlichem Plasma liegen zwischen 5 bis 30 µg/ml. Der Sekretionsmechanismus von Adiponektin ist noch weitgehend ungeklärt.

Dennoch ist bekannt, dass sich Adiponektin im Steady-State des Zellzykluses, in Vesikel verpackt, vor allem im Trans-Golgi-Netzwerk der Adipozyten befindet (34-36). Es wird ein bisher noch unbekannter Sekretionsweg vom Golgiapparat zur Zelloberfläche vermutet.

Zudem wurde gezeigt, dass Adiponektin ebenso, umgeben von einer Transferrin-Rezeptor-positiven Membran, über das Transferrin-Rezeptor-positive Endosomale System konstitutiv sezerniert werden kann (37). Auch wurde die regulierte Exozytose von Adiponektin in 3T3-L1 Adipozyten untersucht. Diese wird durch verschiedene Proteine koordiniert. Eines davon, dem eine wichtige Rolle zukommen zu scheint, ist GGA1, Golgi-localizing-γ-adaptin-ear-homology-domain-ARF-binding-protein. Es handelt sich hierbei um einen monomeren Clathrin-Adaptor, der sich in der Membran der Adiponektinvesikel befindet. Eine Blockierung von GGA1 inhibiert die Adiponektinsekretion (35).

Sicherlich sind noch weitere morphologische Studien über Adipozyten als sekretorische Zellen notwendig, um den genauen Sekretionsmechanismus für Adipozytokine wie Adiponektin aufzudecken.

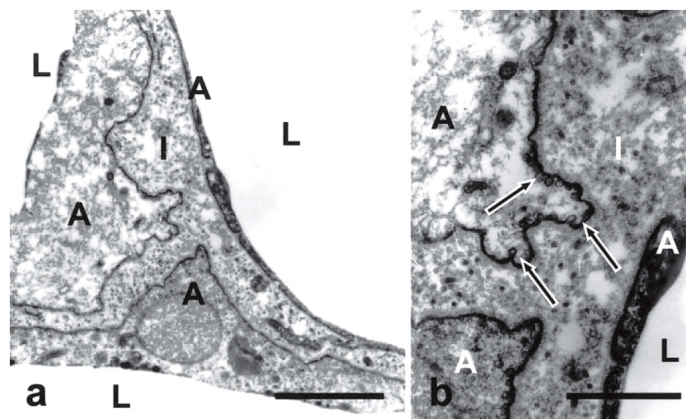


Abbildung 3: Caveolae in Adipozyten. Bild a) zeigt drei Adipozyten als sekretorisch aktive Zellen. Bild b) zeigt eine stärkere Vergrößerung. Die Pfeile weisen auf zahlreiche Caveolae auf der Zellmembran hin. A: Adipozyt. I: Interstitielles Gewebe. L: Lipidtropfen. Linien: a: 2µm, b: 1µm (38).

1.2.2.3 Regulation der Expression und Sekretion

Die Regulation der Expression und Sekretion von Adiponektin ist komplex. Alle Signalwege, die die Fettgewebsdifferenzierung, Induktion und Repression der Adiponektintranskription sowie die metabolischen Aktivitäten von Adipozyten, wie Lipogenese und Lipolyse kontrollieren, sind daran beteiligt.

So führt beispielsweise SIRT1 durch Aktivierung von FOXO 1 und durch Verstärkung der Interaktion zwischen FOXO1 und C-enhancer-binding-protein- α zu einer verstärkten Transkription von Adiponektin (39). Andererseits führt eine Aktivierung des enhancer-binding-Proteins-2 β direkt durch Verdrängung des Nuklearfaktors YA und Binden an die Promoterregion zu verminderter Adiponektin-Expression. Desweiteren scheint das enhancer-binding-Protein-2 β durch direkte Hemmung der Transkriptionsaktivität von Adiponektin dessen Expression modulieren zu können (40). In 3T3-L1 Adipozyten konnte auch eine negative Beeinflussung der Adiponektinexpression über NFATc4 nachgewiesen werden. Zelluläre Ereignisse, wie oxidativer Streß, sind ebenfalls an der Regulation der Expression von Adiponektin beteiligt (41).

Mehrere vom Fettgewebe sezernierte Faktoren, wie Interleukin-6, Interleukin-1 β (42), Tumor-Nekrose-Faktor- α und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (43) reduzieren die Adiponektinexpression. Aber auch andere Faktoren ausserhalb des Fettgewebes spielen eine Rolle. So beeinflusst Endothelin-1, ein vasokonstriktives Peptid, das in Endothelzellen produziert wird, nicht nur die Adipozytendifferenzierung und den Glukosemetabolismus, sondern ebenfalls die Adiponektinsekretion. Interessanterweise geschieht dies nicht über Beeinflussung der Transkription des Gens, sondern durch Modulation der Sekretion der Adiponektinvesikel (36;44).

Im Gegensatz zu den meisten Adipozytokinen, fällt der Plasmaadiponektinspiegel bei Gewichtszunahme ab und steigt bei Gewichtsverlust an (45;46). Hierbei kann die Adiponektinexpression relativ schnell, in einem Zeitraum von vier bis sechs Stunden durch Mechanismen, an denen die nukleären Rezeptoren C-EBP- β und der nukleäre Faktor Y beteiligt sind, verändert werden (47;48).

Im Organismus gesunder normalgewichtiger Personen wird Adiponektin ganztägig pulsatil freigesetzt. Nachts kommt es allerdings zu einem Abfall der Sekretion um bis zu 30% (49). Zudem zeigen sich tägliche Veränderungen der Höhe des Plasmaadiponektinspiegels. Diese Variabilität geht bei Individuen, die an Fettleibigkeit oder Diabetes Mellitus Typ 2 leiden, verloren; bei Gewichtsverlust kehrt diese

jedoch wieder zurück (50). Die Plasmakonzentrationen an zirkulierendem Adiponektin zeigen bei Adulten ganz im Gegensatz zu Neugeborenen eine inverse Korrelation zur Fettgewebsmasse. So sind die Adiponektinspiegel im Nabelschnurblut von reifgeborenen Kindern signifikant höher als im Blut adulter Individuen und korrelieren positiv mit Geburtsgewicht und Body-Mass-Index (51).

Im Gegensatz dazu wurde eine negative Korrelation zwischen der Adiponektin-Expression sowie dessen Sekretion und dem Body-Mass-Index bei adulten japanischen Frauen und Männern (52) sowie bei Kaukasiern und Pima Indianern festgestellt (53).

Ebenso wie sich Unterschiede in der Höhe des Adiponektinspiegels bezüglich des Alters finden lassen, zeigt sich auch ein Unterschied in Bezug auf das Geschlecht. So sind die Adiponektinplasmaspiegel bei Männern deutlich niedriger als bei Frauen; möglicherweise als Folge der Androgenwirkung (54). Ferner haben Frauen einen höheren prozentualen Anteil an HMW-Adiponektin als Männer (55).

Einen wichtigen Einfluss auf die Expression von Adiponektin nimmt auch Insulin. SCHERER ET AL. fanden in vitro nach kurzzeitiger Insulinstimulation von 3T3-L1 Zellen eine gesteigerte Expression des Adiponektingens (11), wohingegen längerfristige Insulinstimulation von 16 bis 24 Stunden zu einem Rückgang der Expression in 3T3-L1 Adipozyten (56), aber zu einem Anstieg der Adiponektin-mRNA-Konzentration in isoliertem humanem Fettgewebe führte (57).

Andere Faktoren, die die Freisetzung von Adiponektin negativ beeinflussen, sind adrenerge Aktivität, Glukokortikoide, Tumor-Nekrose-Faktor- α und Dibutyryl-cAMP (56;58-61). Thiazolidinone und Cannabiod-1-Rezeptor-Antagonisten hingegen führen zum Anstieg der Adiponektinkonzentration (62;63); Leptin, Angiotensin II, Wachstumshormon sowie Trijodthyronin scheinen keinerlei Einfluss auf die Expression von Adiponektin zu haben (19). Die Aufnahme von Soja (64), Fischöl (65) und Linolsäure (66) soll ebenfalls zur Anhebung des Plasmaadiponektinspiegels beitragen. Andererseits scheint eine kohlenhydratreiche Kost diesen zu senken (67). Expression und Sekretion von Adiponektin werden also von multiplen Faktoren wie insbesondere auch Geschlecht, Alter und Lebensstil beeinflusst.

1.2.2.4 Metabolismus und Elimination

Über die Metabolisierung und Eliminierung von Adiponektin ist noch wenig bekannt. Das bisherige Wissen wurde mit Hilfe von Studien an Mäusen gewonnen. Es scheint, dass Adiponektinoligomere, sobald sie in die Blutzirkulation gelangen, sehr stabil sind und nicht von einer Form in eine andere wechseln. HMW-Adiponektin hat mit neun Stunden eine längere Halbwertszeit als LMW-Adiponektin mit viereinhalb Stunden. Trotzdem wird HMW-Adiponektin nach einer Stoffwechselentgleisung schneller aus dem Kreislauf entfernt (20). Eine rekombinante Form von Adiponektin, C39S, die nur Trimere bilden kann, scheint noch höhere biologische Aktivität zu haben als HMW-Adiponektin und schneller eliminiert zu werden. Es besteht die Vermutung, dass HMW-Adiponektin in Antwort auf metabolische Entgleisungen durch proteolytische Spaltung in eine biologisch noch aktivere Form, die globuläre Form, umgewandelt werden kann (68).

Obwohl noch nicht viel über den Prozess der Adiponektinclearance bekannt ist, wurde Adiponektin sowohl im Urin von Typ 2 Diabetikern als auch von gesunden männlichen Individuen nachgewiesen. Die Adiponektinspiegel im Urin betragen etwa nur ein Drittel der Plasmaspiegel und sind bei Patienten mit Makroalbuminurie deutlich erhöht (69).

1.3 Die Adiponektinrezeptoren

1.3.1 Historisches - Identifikation der Adiponektinrezeptoren

Die Moleküle, die die biologischen Funktionen von Adiponektin übertragen, wurden erst rund 10 Jahre später, 2003, von YAMAUCHI ET AL. entdeckt; es gelang die Adiponektinrezeptoren 1 und 2, AdipoR1 und AdipoR2, zu klonieren. Die Struktur dieser Proteine ist von der Hefe bis zum Menschen konserviert. Interessanterweise spielt das Hefe Homolog YOL002c eine Schlüsselrolle in den Signalwegen, die den Fettstoffwechsel, wie zum Beispiel die freie Fettsäureoxidation, regulieren (70). Desweiteren ist das Hefe Homolog PHO36 ein Rezeptor für Osmotin. Osmotin hat keine Sequenzhomologie, aber strukturelle Ähnlichkeit mit Adiponektin und kann sowohl an AdipoR1 als auch an AdipoR2 binden und diese aktivieren (71).

Es besteht folglich die Möglichkeit, dass es auch bei Säugetieren einen weiteren, noch unbekannten Liganden ausser Adiponektin für diese Rezeptoren gibt.

1.3.2 Die Proteine AdipoR1 und AdipoR2

1.3.2.1 Die Proteinstruktur

AdipoR1 und AdipoR2 sind integrale Membranproteine. Der N-Terminus befindet sich an der Innenseite, der C-Terminus hingegen an der Aussenseite der Membran, ganz im Gegensatz zur Topologie von G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Die sezernierten Isoformen von AdipoR1 und AdipoR2 enthalten sieben Transmembrandomänen und werden zu einer neuen Klasse von Molekülen gezählt, die Homologie zu Progestinrezeptor-Proteinen aufweisen, der sogenannten Progestin-AdipoQ-Rezeptor-Familie, PAQR-Familie (72).

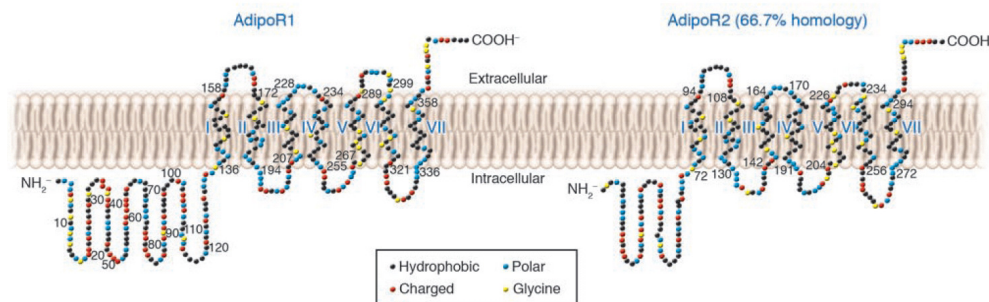


Abbildung 4: Struktur der Adiponektinrezeptoren. ADIPOR1 und ADIPOR2 beinhalten sieben Transmembrandomänen unterscheiden sich aber strukturell und topologisch von anderen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (73).

Die C-terminale extrazelluläre Domäne von AdipoR1 interagiert mit Adiponektin, während die N-terminale zytoplasmatische Domäne mit APPL1, adaptor-protein-containing-pleckstrin-homology-domain-phosphotyrosine-binding-domain-and-leucine zipper-motif-1, interagiert. Durch Binden von Adiponektin wird die Interaktion zwischen APPL1 und AdipoR1 stimuliert, was beweist, dass die Adiponektinrezeptoren direkt mit Adiponektin wechselwirken (74). AdipoR1 und AdipoR2 können sowohl Homo- als auch Heteromultimere formen. Sie dienen sowohl als Rezeptoren für das globuläre als auch die vollständigen Adiponektinformen. AdipoR1 zeigt hohe Affinität zu globulärem Adiponektin, aber nur geringe Affinität zu den vollständigen Proteinformen, wohingegen AdipoR2 mittelstarke Affinität zu allen Formen des Proteins aufweist.

1.3.2.2 Expression und Signaltransduktion

AdipoR1 wird ubiquitär exprimiert, vor allem aber in der Skelettmuskulatur, wohingegen AdipoR2 überwiegend in der Leber exprimiert wird, wenn auch diese Expressionsprofile in der Maus sehr viel deutlicher hervortreten als beim Menschen. Die unterschiedliche Organverteilung sowie die Unterschiede der Affinität können auf differente Effekte der vollständigen und globulären Adiponektinformen in der Leber beziehungsweise der Skelettmuskulatur hinweisen.

Hepatozyten binden nur die vollständigen Adiponektinformen, was zur Phosphorylierung von AMPK, ACC und gesteigerter PPAR α -Ligand Aktivität führt. In der Leber resultiert hieraus sowohl gesteigerte Fettsäureoxidation als auch verminderte Glukoneogenese (72).

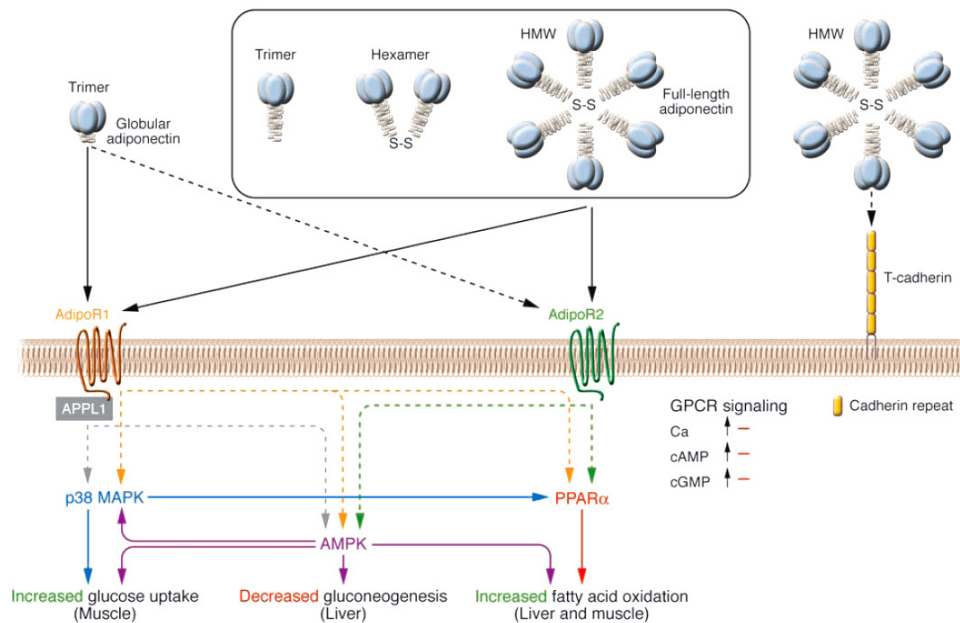


Abbildung 5: Signaltransduktion durch die Adiponektin Rezeptoren. Globuläres Adiponektin existiert nur als Trimer. Das vollständige Protein kann Trimere (LMW), Hexamere (MMW) oder höhere Multimere (HMW) bilden. Die gestrichelte Linie zwischen globulärem Adiponektin und ADIPOR2 zeigt an, dass ADIPOR2 nur eine geringe Affinität zu diesem hat. ADIPOR1 und ADIPOR2 scheinen keine G-Protein-gekoppelten Rezeptoren zu sein, da sie nur geringe Effekte auf cAMP, cGMP und die intrazellulären Kalziumspiegel haben. Diese Rezeptoren aktivieren stattdessen Signalmoleküle wie PPAR α , AMPK und p38MAPK. T-Cadherin kann Adiponektin binden; es hat aber mangels einer intrazellulären Domäne keinen Effekt auf die Signaltransduktion. Die Interaktion zwischen ADIPOR1 und APPL1 spielt eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion und der Vermittlung von Wirkungen Adiponektins wie der Lipidoxidation und der intrazellulären Glucoseaufnahme (73).

Die Expressionsrate von AdipoR1 und AdipoR2 nimmt als Antwort auf physiologischen oder pathophysiologischen Anstieg von Insulin ab. Dieser Abfall wird

durch die Phosphoinositol-3-Kinase abhängige Hemmung von FOXO1 vermittelt. Skelettmuskelzellen von ob/ob-Mäusen, Mäusen mit durch Fettleibigkeit induzierter Insulinresistenz und extremer Hyperinsuliämie, zeigten verminderte AdipoR1- und AdipoR2-Expression. Fettleibigkeit führt also zu verminderter Expression der Adiponektinrezeptoren (75). Eine kleinere Studie an nicht an Diabetes Mellitus Typ 2 leidenden Mexikanischen Amerikanern zeigte eine positive Korrelation zwischen der Insulinsensitivität und der Expressionsrate der beiden Rezeptoren in der Skelettmuskulatur (76). Es wurde des Weiteren über Expression von AdipoR1 und AdipoR2 in weißem und braunem Fettgewebe berichtet. Beide Rezeptoren werden in reifen 3T3-L1 Adipozyten exprimiert. AdipoR1 wird konstitutiv exprimiert, wohingegen die Expressionsstärke von AdipoR2 in Präadipozyten etwas geringer ist und mit Differenzierung der Zellen zunimmt. Eine Behandlung der Zellen mit Wachstumshormon führt nur zu gesteigerter Expression von AdipoR2, nicht aber von AdipoR1 (77).

Ebenso wurde über Expression der Rezeptoren in primären humanen- und Maus-Osteoblasten, die ja wie Fettgewebe mesenchymalen Ursprungs sind, berichtet (78). Auch wurden Transskripte für AdipoR1 und AdipoR2 in humanen Monozyten, Gefäßzellen, wie beispielsweise in glatten Muskelzellen der Aorta oder in mikrovaskulären endothelialen Zellen identifiziert. Des Weiteren wurde eine erhöhte Expressionsrate der Adiponektinrezeptoren in Regionen mit arteriosklerotischen Läsionen gefunden (79). Über die Expression von AdipoR1 und AdipoR2 im Hypothalamus sowie gesteigerte Expression von AdipoR2 im Bereich des Nucleus Paraventricularis, der eventuell eine Rolle bei der Energieregulation spielt, wurde außerdem berichtet (80). Ebenfalls werden beide Rezeptoren in den β -Zellen des Pankreas exprimiert.

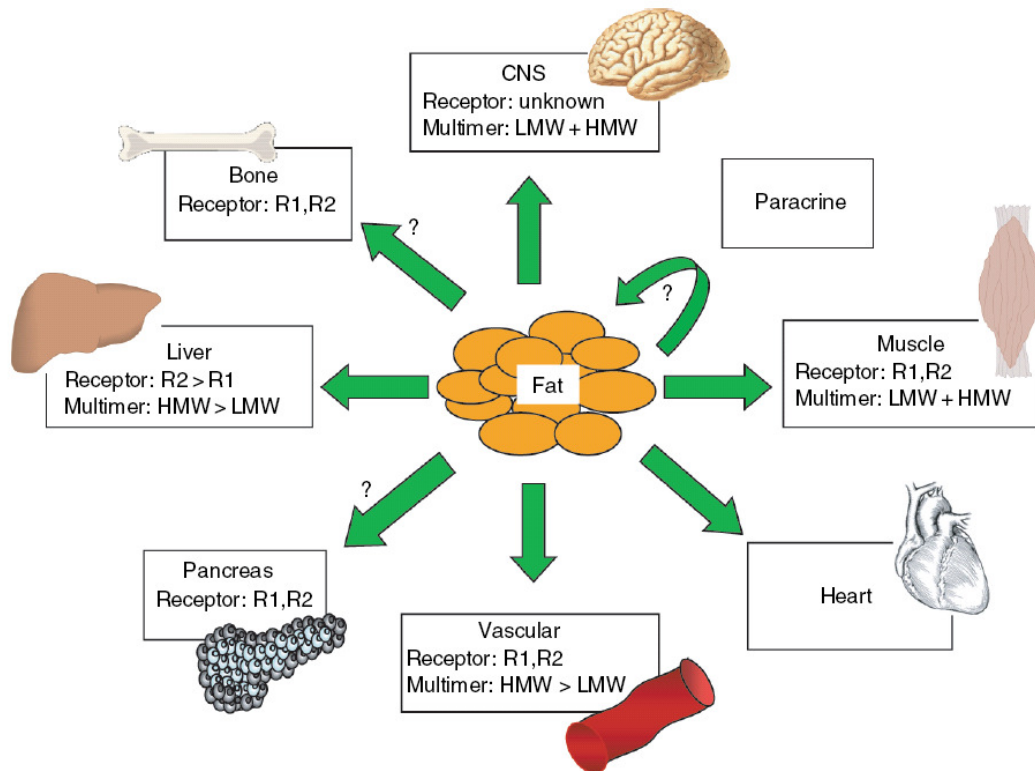


Abbildung 6: Überblick über die Organsysteme in denen Adiponektin Rezeptoren exprimiert werden sowie über die Adiponektin-Multimer-Sensibilität der einzelnen Gewebe (81).

Es zeigte sich jedoch, dass diese beiden Rezeptoren nicht die einzigen Moleküle sind, die Adiponektin binden können.

In C2C12 Myoblasten wurde entdeckt, dass T-Cadherin fähig ist Adiponektin zu binden. T-Cadherin ist ein glykosylphosphatidylinositol-verankertes extrazelluläres Protein, das sich vor allem im kardiovaskulären System, in der Skelettmuskulatur und dem Nervensystem wieder findet (82;83). Es bindet speziell die Hexamere und die HMW-Form des Adiponektins, wird jedoch weder in der Leber noch in Hepatozyten, dem Hauptzielorgan Adiponektins, exprimiert (84). Mangels einer intrazellulären Domäne, scheint T-Cadherin außerdem keinerlei Effekt auf die zelluläre Signaltransduktion zu haben. Möglicherweise stellt T-Cadherin folglich lediglich ein adiponektinbindendes Protein dar. Andererseits liegt die Vermutung nahe, dass bestimmte physiologische Funktionen von Adiponektin möglicherweise nicht über Rezeptoren, sondern über niedrigaffine makromolekulare Interaktionen, wie beispielsweise mit T-Cadherin vermittelt werden können.

1.4 Physiologische Aktivität von Adiponektin

Adiponektin zeigt autokrine und parakrine Wirkungen im Fettgewebe. Es beeinflusst die Adipozytendifferenzierung, die Genexpression im Fettgewebe sowie dessen biologische Funktionen. Die endokrine Wirkung von Adiponektin betrifft die Glukosehomöostase, die Gefäßbiologie, das Immunsystem, den Lipidmetabolismus und das Zentrale Nervensystem.

1.4.1 Adiponektin – das autokrine Adipostat

Als autokrin wirksames Adipozytokin nimmt Adiponektin Einfluss auf die Adipozytendifferenzierung. Im Verlauf der Ausreifung von Präadipozyten findet sich im Vergleich zu ausdifferenzierten Zellen eine mehr als 100-fach erhöhte Induktion von Adiponektin mRNA. Des weiteren wurde in Experimenten mit Adipozyten, die Adiponektin überexprimierten gezeigt, dass deren Differenzierung deutlich beschleunigt war, was wiederum zu gesteigerter Lipidakkumulation und Glukoseaufnahme in bereits ausdifferenzierten Zellen führte (85).

In in-vitro Studien konnte ein Rückkopplungsmechanismus, mit welchem Adiponektin seine eigene Produktion und die Expression seiner Rezeptoren AdipoR1 und AdipoR2 herunterreguliert, identifiziert werden. Darauf folgende Untersuchungen in transgenen Mäusen bestätigten diesen Regulationsmechanismus für Adiponektin und AdipoR2, die Expressionsstärke von AdipoR1 aber blieb hiervon unbeeinflusst (86). Es scheint also dieser Rückkopplungsmechanismus nur selektiv für Adiponektin selbst und AdipoR2 zu gelten.

Adiponektin wirkt folglich lokal im Fettgewebe als „Adipostat“. Es fördert zwar einerseits die Entwicklung von Präadipozyten zu Adipozyten, andererseits lässt die Beobachtung, dass mit zunehmender Größe Adipozyten immer weniger Adiponektin sezernieren, bis sie eine vorbestimmte Größe und damit einen bestimmten status quo an Sekretionsmenge erreicht haben, aber auch auf eine autostagnierende Wirkung von Adiponektin schließen.

1.4.2 Die parakrine Wirkung Adiponektins

Neben der Fähigkeit, seine eigene Produktion zu regulieren, zeigt Adiponektin auch parakrine Wirkung. Es hemmt die Sekretion von Interleukin-6, Interleukin-8,

Makrophagen-Inflammatory-Protein-1 α und - β , sowie von Monozyten-chemotaktischem-Protein-1 aus Adipozyten (87).

Die Fluktuation der Adiponektin-Sekretion, verbunden mit der Größenzu- und -abnahme von Adipozyten, mag dazu beitragen, ein gewisses Gleichgewicht, die Adipozytengröße und ihre biologische Funktion betreffend, beizubehalten.

1.4.3 Das endokrine Wirkungsspektrum Adiponektins

Das endokrine Wirkungsspektrum Adiponektins beeinflusst den Metabolismus des gesamten Körpers und nimmt somit den wichtigsten Stellenwert ein. Bis heute sind die antidiabetogenen, antiatherosklerotischen und antiinflammatorischen Aktivitäten Adiponektins sowie seine Auswirkungen auf den Lipidmetabolismus und das zentrale Nervensystem bekannt.

1.4.3.1 Antidiabetogene Aktivität

Adiponektin wirkt auf dreierlei Weise insulinsensitivierend: Zum einen bewirkt Adiponektin in der Skelettmuskulatur gesteigerte Expression von Molekülen die am Fettsäuretransport sowie am Fettsäureabbau beteiligt sind und trägt somit zu einem vermindertem Gehalt an Triglyzeriden bei (88).

Ein erhöhter Gehalt an Triglyzeriden aktiviert die von Insulin stimulierte Phosphatidylinositol-3-Kinase. Hierdurch kommt es zu einer verminderten Translokation des Glukosetransporters-4 an die Zelloberfläche und zu einer Behinderung der Glukoseaufnahme, was letztlich zu Insulinresistenz führt (89). Durch Verminderung des Gehaltes an Triglyzeriden bedingt Adiponektin eine verbesserte Insulinsignaltransduktion in der Skelettmuskelzelle und vermindert die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Insulinresistenz. YAMAUCHI ET AL. konnten dieses Phänomen in der Skelettmuskulatur von lipoathropen Mäusen, die mit Adiponektin behandelt wurden, untermauern. Durch Adiponektinsubstitution kam es in den Skelettmuskelzellen der Mäuse zu einer vermehrten insulininduzierten Phosphorylierung des Insulinrezeptors, des Insulin- Rezeptor- Substrat-1 und des Aktins.

Zum zweiten aktiviert Adiponektin PPAR α . Die Behandlung von lipoatropen oder fettleibigen Mäusen mit Adiponektin sowie die Überexprimierung von Adiponektin in ob/ob-Mäusen führte zu gesteigerter Expression von PPAR α . Adiponektin steigert

also den Fettsäureabbau via β -Oxidation in der Leber und in der Skelettmuskulatur sowie über Aktivierung von PPAR α und dessen Targetgenen wie CD36, Acyl-CoA-Oxidase und Uncoupling-Protein-2, und führt somit zu gesteigerter Insulinsensitivität (88).

Drittens stimuliert Adiponektin durch Phosphorylierung und Aktivierung der AMP-Kinase sowohl in der Skelettmuskulatur als auch in der Leber die Fettsäureoxidation und den Glukoseabbau (90;91). SCHERER ET AL. berichteten, dass gesteigerte AMPK-Phosphorylierung in der Leber von adiponektintransgenen Mäusen mit einer reduzierten Expression von Enzymen der Glukoneogenese, wie der Phosphoenolpyruvatkinase und der Glukose-6-Phosphatase verbunden seien (92). Unterstützt wird die antidiabetogene Wirkung von Adiponektin durch Ergebnisse von Studien an Adiponektin-Knockout-Mäusen. Unter normaler Diät zeigten diese Mäuse keinen spezifischen Phänotyp. Die Gabe einer sehr fett- und zuckerhaltigen Diät aber führte zum Anstieg von Glukose- und Insulinspiegeln, ja sogar zur Entwicklung einer Insulinresistenz. Durch Substitution von Adiponektin reduzierte sich die entwickelte Insulinresistenz deutlich (93).

Was die Adiponektinrezeptoren betrifft, so zeigten diabetische Mäuse eine Überexpression beider Rezeptoren in der Leber, was wiederum eine vermehrte Aktivierung von AMPK und PPAR α zur Folge hatte. AdipoR1- und AdipoR2-defiziente Mäuse hingegen litten an Insulinresistenz (94). Diese Tatsachen lassen vermuten, dass nicht nur Adiponektin sondern auch seine Rezeptoren an der insulin-sensitivierenden Wirkung sowie an der Entwicklung einer Insulinresistenz in vivo beteiligt sind.

1.4.3.2 Antiatherosklerotische Wirkung

Neben seiner insulinsensitivierenden Wirkung zeichnet sich Adiponektin insbesondere durch seine vasoprotektiven Eigenschaften aus. Es wirkt direkt und auf vielseitige Art und Weise auf das Gefäßsystem; auf Endothelzellen, Monozyten und Makrophagen, Leukozyten, Thrombozyten und glatte Muskelzellen.

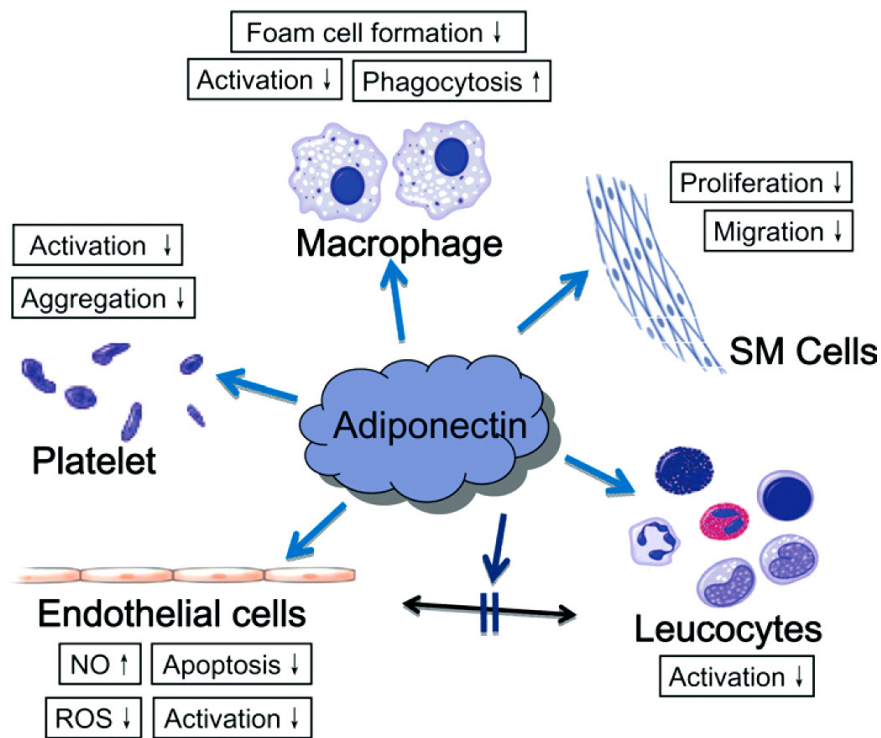


Abbildung 7: Adiponektin übt seine vaskuloprotektiven Eigenschaften über multiple Mechanismen aus (95).

Zunächst einmal bewirkt Adiponektin eine vermehrte NO-Produktion im Endothel. Wie bekannt ist, schützt endothelialproduziertes NO das Gefäßsystem, indem es einerseits die Vasodilatation fördert, gleichzeitig aber auch die Thrombozytenaggregation, die Monozytenadhäsion und die Proliferation glatter Muskelzellen unterdrückt (82). Verminderte Bioverfügbarkeit von NO führt zu endothelialer Dysfunktion, einer der frühesten Veränderungen in der Entstehung der Arteriosklerose. Sowohl die vollständigen Adiponektinformen als auch die globuläre Form können durch Aktivierung der endothelialen NO-Synthase, eNOS, die endotheliale NO Produktion steigern (96-98). Adiponektin stimuliert die Phosphorylierung der eNOS, die anschließend mit dem Heat-Shock-Protein-90 einen Komplex bildet. Diese Komplexbildung ist für die maximale Aktivierung der eNOS notwendig. Es gibt drei verschiedene Wege, mit Hilfe welcher die Adiponektin induzierte NO-Produktion übermittelt werden kann: 1. über Binden von Adiponektin an AdipoR1 oder AdipoR2 und deren Interaktion mit APPL1 und anschließend AMPK; 2. über eine direkte Stimulierung von AMPK durch die beiden Rezeptoren was zur

Phosphorylierung der eNOS führt (99) und 3. über die Phosphatidylinositol-3-Kinase (97;98;100).

Zusätzliche vasoprotektive Wirkung erreicht Adiponektin durch seine antioxidativen Effekte auf das Endothel. Adiponektin hemmt höchstwahrscheinlich über Unterdrückung der Funktion der NADPH-Oxidase sowohl die Freisetzung der von basalem LDL als auch der von oxidiertem LDL induzierten reactive-oxygen-species, ROS (101). Es hat sich gezeigt, dass die Freisetzung einer durch hohe Glukosespiegel induzierten ROS-Generation aus kultivierten Endothelzellen der menschlichen Umbilikalvene durch Adiponektin gehemmt werden kann (102). Die antioxidativen Eigenschaften von Adiponektin werden mehreren Untersuchungen zufolge über den cAMP/PKA-Signalweg übermittelt. Ob auch hier die Adiponektinrezeptoren im Rahmen der Signalübertragung involviert sind, ist noch unklar.

Aktivierung von Endothelzellen und damit verbundene Expression von Adhäsionsmolekülen, wie dem Intracellular-adhesion-molecule-1, ICAM-1, und dem vascular-cell-adhesion-molecule-1, VCAM-1, oder E-Selectin, tritt im Rahmen der Arteriogenese sehr früh auf. Durch Unterdrückung der von TNF- α und Resistin induzierten Expression von Adhäsionsmolekülen und Interleukin-8, verzögert Adiponektin das Binden von Monozyten an die Endothelwand und schützt somit das Endothel vor Inflammation (103).

Diese Behauptung wird durch die Tatsache, dass Adenovirus-vermittelte Expression von Adiponektin im Endothel der Aorta von Apolipoprotein E defizienten Mäusen (104) sowie in einem Modell von an Atherosklerose leidenden Kanninchen (98) zu verminderter Expression von Adhäsionsmolekülen führt, experimentell gestützt. Diese antiinflammatorischen Eigenschaften Adiponektins scheinen über eine PKA-abhängige Unterdrückung der Aktivierung von NF- κ B vermittelt zu werden (105).

Es darf aber auch nicht unerwähnt bleiben, dass neuere Untersuchungen gezeigt haben, dass kurzfristiges Einwirken von globulärem Adiponektin NF- κ B aktiviert und über die Sphingosin-Kinase die Expression von Adhäsionsmolekülen in Endothelzellen verstärken kann (106). Möglicherweise beruhen die Ursachen dieser Diskrepanz auf unterschiedlichen Effekten der verschiedenen Adiponektinformen.

Ein weiterer Mechanismus mit Hilfe dessen Adiponektin protektiv im Gefäßsystem eingreifen kann liegt in der Unterdrückung der Interaktion von Leukozyten und Endothelzellen. Durch die pathologische Interaktion von Leukozyten und Endothelzellen, werden Leukozyten aktiviert und führen zu Schäden in der Gefäßwand. In

Adiponektin-Knockout-Mäusen bedingte die Adiponektin Abwesenheit einen zweifachen Anstieg des Leukozytenrollings und einen fünffachen Anstieg der Leukozyten-adhäsion in der Mikrozirkulation. Diese Veränderungen gingen einher mit einem signifikant erniedrigten NO-Spiegel, sowie gesteigerter Expression von E-Selectin und VCAM-1 im Endothel. Eine Vorbehandlung von Wild-Typ Mäusen mit Adiponektin schützte diese jedoch vor der durch TNF- α induzierten Leukozyten-Endothel-Interaktion (107).

Des Weiteren schützt Adiponektin das Endothel vor Apoptose. Die HMW-Adiponektinform, nicht aber die trimere oder hexamere Form hemmen über Aktivierung der AMPK in Endothelzellen der menschlichen Umbilikalvene sowohl die Apoptose als auch die Caspase-3-Aktivität (108). Die globuläre Adiponektin-komponente hingegen hemmt die Angiotensin II induzierte Apoptose von Endothelzellen in der menschlichen Umbilikalvene, höchstwahrscheinlich durch Steigerung der eNOS Aktivität (109).

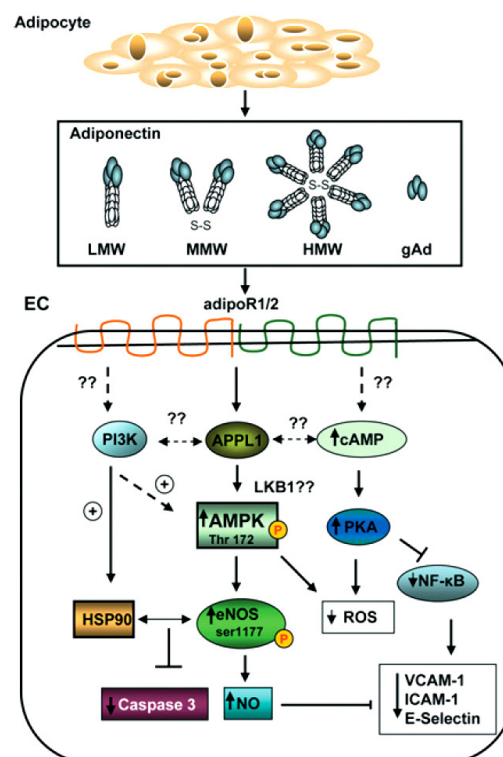


Abbildung 8: Übersicht über die intrazellulären Signalwege, die die Wirkung von Adiponektin in Endothelzellen vermitteln (95).

Aktivierte Makrophagen exprimieren Scavenger-Rezeptoren und internalisieren modifizierte Lipoproteine. Dadurch transformieren sie sich selbst in sogenannte

Schaumzellen. Die von aktivierten Makrophagen produzierten proinflammatorischen Faktoren tragen zum Großteil zur Aktivierung von Endothelzellen und zur Ausbildung von arteriosklerotischen Läsionen bei. Adiponektin kann sowohl die Aktivierung von Makrophagen als auch deren Transformation in Schaumzellen unterdrücken und somit auf einem weiteren Weg die Entwicklung von arteriosklerotischen Läsionen im Gefäßbett behindern.

Sowohl AdipoR1 als auch AdipoR2 werden in Monozyten und Makrophagen exprimiert (79). Es zeigte sich, dass Adiponektin die frühe Antwort von Makrophagen auf Entzündungsreize im Gefäßbett dämpft indem es einerseits das Wachstum von myelomonozytischen Vorläuferzellen hemmt und andererseits reife Makrophagen daran hindert, auf verschiedene Aktivierungsreize zu reagieren (110;111). So hindert Adiponektin Makrophagen an von Leptin und Lipopolysaccharid induzierter Produktion proinflammatorischer Zytokine, wie $\text{TNF}\alpha$, Interleukin-1, Interleukin-6 und Interleukin-8 (112-115).

Des Weiteren bindet Adiponektin in-vitro an Lipopolysaccharid und andere Chemokine wie das Makrophagen-Inflammatory-Protein-1 und MCP-1, was eine verminderte Bioverfügbarkeit dieser proinflammatorischen Faktoren zur Folge haben kann (116;117).

Längerfristige Behandlung von Makrophagen mit Adiponektin über sechs bis 24 Stunden führte zur Desensibilisierung der von LPS stimulierten Aktivierung von NF- κ B und der durch extrazelluläre Signale regulierten Kinase 1/2, ERK 1/2 (110;111;118). Eine weniger als 30 minütige Behandlung mit Adiponektin aber aktivierte die NF- κ B und ERK 1/2 Signalwege und induzierte die Produktion von $\text{TNF-}\alpha$ und Interleukin-6 in verschiedenen Typen von Makrophagen (112;119).

Erklären lässt sich dieses Phänomen durch die Fähigkeit von Adiponektin, in Makrophagen Toleranz zu induzieren. Transiente Aktivierung von NF- κ B und ERK 1/2 steigert die Expression von Erg-1, early-growth-response-Protein-1, welches wiederum zu gesteigerter Transkription des $\text{TNF-}\alpha$ Gens führt. Der folgende vorübergehende Anstieg von $\text{TNF-}\alpha$ ist für die Induktion von Interleukin-10, einem antiinflammatorischen Zytokin, das Makrophagen tolerant gegenüber LPS und proinflammatorischen Stimuli macht, obligat (112). Die durch Adiponektin ausgelöste Induktion von Interleukin-10 zieht einen Anstieg von TIMP-1, tissue-inhibitor-of-metalloproteinases-1, nach sich. TIMP-1 ist ein physiologischer Inhibitor von MMPs,

Matrix-Metalloproteasen, die an der Ruptur von arteriosklerotischen Plaques beteiligt sind (120).

Übereinstimmend mit diesen unter in-vitro Bedingungen gefundenen Ergebnissen wurde auch in einer klinischen Studie eine positive Korrelation zwischen der Höhe des Plasmaadiponektinspiegels und der Höhe der Interleukin-10-Expression beobachtet (121).

Die hemmenden Effekte von Adiponektin auf die Makrophagentransformation in Schaumzellen werden möglicherweise durch seine Fähigkeit, die Expression des Scavenger-Rezeptor-A zu unterdrücken, vermittelt. Ein Fehlen dieses Rezeptors hindert die Makrophagen letztlich daran, acetylierte LDL Partikel, die zur Umwandlung in Schaumzellen beitragen, aufzunehmen (122). Zudem mindert Adiponektin die Aktivität der Acyl-CoA-Cholesterol-Transferase, des Enzyms, das die Bildung von Cholesterolestern katalysiert und die Transformation von Makrophagen in Schaumzellen beschleunigt (123).

Defekte in der phagozytotischen Funktion von Makrophagen tragen aber ebeno wie die Umwandlung in Schaumzellen zur Entwicklung der Arteriosklerose bei (124;125).

In-vitro sowie in-vivo Studien gelangten beiderseits zu der Ansicht, dass Adiponektin die Phagozytenaktivität von Makrophagen verbessert (115). Die die Phagozytose stimulierenden Effekte Adiponektins werden der Fähigkeit dieses Adipokins Zelldebris zu opsonieren und dessen Bindung an die Makrophagenzelloberfläche durch die Interaktion von Calretikulin und CD91 zu erleichtern, zugeschrieben. Bemerkenswert ist, dass keiner der bekannten Adiponektinrezeptoren, AdipoR1, AdipoR2 oder T-Cadherin, im Rahmen der phagozytotischen Aktivität von Adiponektin benötigt wird (126).

Zusammengefasst weist dies daraufhin, dass Adiponektin den Organismus vor systemischer Entzündung schützt, indem es unter anderem die Beseitigung apoptotischer Zellen durch Makrophagen fördert.

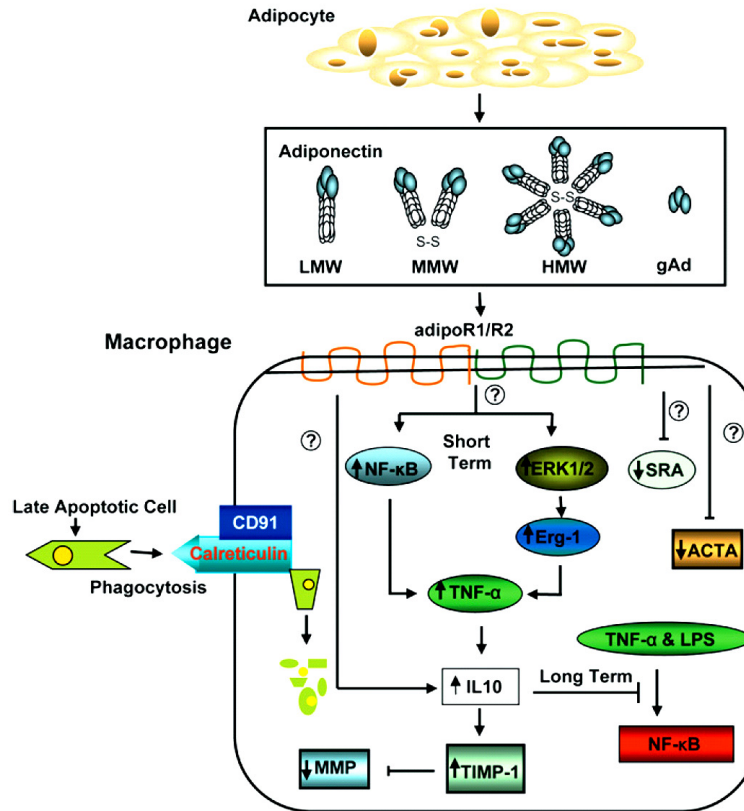


Abbildung 9: Darstellung der molekularen Mechanismen denen die multiplen Wirkungen Adiponektins auf Makrophagen unterliegen (95).

Es ist weiterhin gut bekannt, dass die Thrombozytenaggregation eine entscheidende Rolle in der Progression der Arteriosklerose spielt. Eine klinische Studie hat gezeigt, dass die Höhe des Plasmaadiponektinspiegels unabhängig von anderen Risikofaktoren negativ mit der Aktivierung von Thrombozyten assoziiert ist (127). Des Weiteren kam es bei adiponektindefizienten Mäusen nach einer laser-induzierten Verletzung der Gefäßwand der Arteria carotis zu einer beschleunigten Thrombusentwicklung. Eine anschließende über Adenoviren vermittelte Expression von Adiponektin reduzierte die Größe der in diesen Mäusen induzierten Thrombi (128). Die Tatsache, dass endothelial gebildetes NO die Thrombozytenaktivierung und folglich deren Adhäsion und Aggregation hemmt, ist wohl bekannt (129). Die antithrombotischen Effekte Adiponektins sind sicherlich nicht zuletzt auch zum Teil auf seine stimulierende Wirkung auf die NO-Produktion zurückzuführen.

Die hemmende Wirkung des Adiponektins auf die Proliferation und Migration glatter Gefäßmuskelzellen stellt den letzten der hier beschriebenen Mechanismen dar, mit deren Hilfe Adiponektin das Gefäßsystem schützt. Die Proliferation und Migration glatter Muskelzellen in Richtung Intima tragen im Verlauf der Entwicklung und dem

Fortschreiten von Gefäßläsionen zur Verdickung der Intima bei. In-vitro hemmt Adiponektin sowohl die von verschiedenen arteriogenen Wachstumsfaktoren, wie heparin-binding-epidermal-growth-factor-like-growth-factor, platelet-derived-growth-factor-B, basic-fibroblast-growth-factor-epidermal-growth-factor, induzierte Proliferation als auch die Migration humaner glatter Aortamuskelzellen (130). Adiponektin bildet Oligomere mit diesen Wachstumsfaktoren und blockiert deren Bindung an die entsprechenden Rezeptoren der Zellmembran (131). Diese in in-vitro Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse unterstützend, zeigte sich in adiponektin-defizienten Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Kontrollen nach mechanischer Verletzung der Gefäßwand gesteigerte Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen (132).

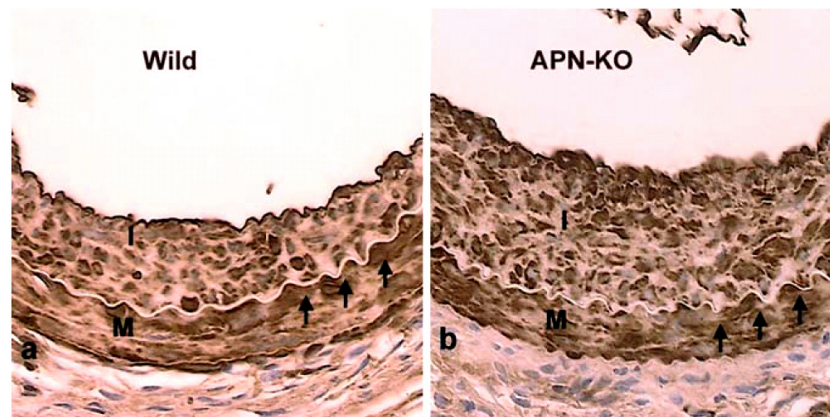


Abbildung 10: Nach mechanischer Verletzung zeigen Adiponektin defiziente Mäuse, APN-KO (b) Neointimaveränderungen in der Femoralarterie; es finden sich vermehrte glatte Muskelzellen in der Femoralarterie. Der Wildtyp (a) zeigt geringere Intimaverdickung. Pfeile: Lamina elastica interna. I: Intima. M: Media (38).

Es darf zuletzt nicht unerwähnt bleiben, dass Adiponektin auch direkte vor kardialer Ischämie schützende Eigenschaften zu besitzen scheint. Adiponektin-Knockout-Mäuse, bei denen durch einen chirurgischen Eingriff zunächst Ischämie und anschließend Reperfusion am Herzen induziert wurde, wiesen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen, die denselben Eingriff durchlaufen hatten, größere Herzinfarkt-areale, verstärkte myokardiale Apoptose und erhöhte TNF- α Produktion auf. Gabe von Adiponektin verminderte das Ausmaß der Infarktgröße, der Apoptose und der TNF- α Produktion in beiden Mäusepopulationen (133).

1.4.3.3 Antiinflammatorische Aktivität

Sobald bekannt wurde, dass Adiponektin Homologie zur Struktur von immunologisch wirksamen Proteinen, wie dem Komplement-Faktor-1q und TNF- α hat, lag die Vermutung nahe, dass auch Adiponektin eine Rolle im Entzündungsmechanismus spielen könnte. Wie bereits beschrieben, zeigen sich diese antiinflammatorischen Eigenschaften Adiponektins einerseits im Gefäßbett über Beeinflussung des Endothels und der Monozyten, andererseits betreffen sie aber noch sehr viel mehr Kompartimente des Organismus. Es wurde gezeigt, dass Adiponektin eine wichtige Rolle im Rahmen von Hepatitis und Hepatosteatose spielt. Verschiedene epidemiologische Studien bestätigen zudem eine inverse Korrelation zwischen der Plasmaadiponektinkonzentration und Entzündungsmarkern wie C-reaktivem-Protein und Fibrinogen (134-136).

Zusammenfassend schützt demnach Adiponektin den Organismus nicht nur im kardiovaskulären System vor Entzündung, sondern unter anderem auch im Bereich der Skelettmuskulatur, der Leber, dem Darm und den Bronchien.

1.4.3.4 Einfluss auf den Lipidmetabolismus

Adiponektin beeinflusst die Höhe der Lipoproteinspiegel im Plasma durch Veränderung des Spiegels und der Aktivität von Schlüsselenzymen des Lipidstoffwechsels, wie der Lipoprotein-Lipase und der hepatischen Lipase. Diese sind verantwortlich für den Katabolismus der triglyzeridreichen Lipoproteine und HDL-Cholesterin. Niedrige Plasmaadiponektinspiegel sind häufig mit Dyslipidämie, charakterisiert durch den Anstieg der Plasmatriglyzeridkonzentration und des Plasmagehalts an Small-dense-LDL sowie einem Abfall von HDL-Cholesterin, assoziiert. Dieser Zusammenhang besteht unabhängig von Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index und dem Vorliegen eines Diabetes Mellitus Typ 2 (137-140). Die Korrelation zwischen Adiponektin und dem Plasmatriglyzeridspiegel sowie dem HDL-Cholesterin-Spiegel besteht außerdem unabhängig von der Insulinsensitivität (141).

Zwar lassen diese Tatsachen vermuten, dass es eine direkte Beeinflussung der Plasmalipide durch Adiponektin gibt, jedoch konnte diese Vermutung weder in Mäusemodellen mit Adiponektin-Überexpression noch in Modellen mit Adiponektin-Deletion bestätigt werden (142). Nichtsdestotrotz haben neuere Untersuchungen mehrere Mechanismen aufgedeckt, über welche es Adiponektin gelingt, den Plasmalipidmetabolismus zu beeinflussen.

Das Ausmaß der Produktion triglyzeridreicher Lipoproteine und das Ausmaß ihrer Ausscheidung bestimmen die Höhe des Plasmatriglyzeridspiegels. Es wurde gezeigt, dass im menschlichen Organismus ein erhöhter Leberfettanteil mit einer erhöhten Produktion von triglyzeridreichen, großen VLDL-Partikeln einhergeht (143). Erniedrigte Adiponektinspiegel sind mit einem erhöhten Leberfettgehalt assoziiert, wohingegen Gabe von Adiponektin diesen verringert (88).

Diese Beobachtungen legen nahe, dass Adiponektin modulierend in den hepatischen Lipidmetabolismus eingreift. Kinetische Untersuchungen ergaben, dass der Adiponektinspiegel nur direkt den Katabolismus von VLDL-Apolipoprotein B, nicht aber dessen Produktion oder die von Triglyzeriden, beeinflusst (144).

Adiponektin reguliert also vielmehr den Triglyzeridkatabolismus als deren Synthese. Ebenso besteht ein inverser Zusammenhang zwischen den Plasmaadiponektin- und den Plasmaspiegeln von Apolipoprotein B-48, Apolipoprotein C-III und dem Plasmaspiegel von Chylomikronen (145).

Es wurde zum einen beobachtet, dass ein Adiponektinanstieg in transgenen Mäusen, die eine Deletion in der kollagenähnlichen Domäne von Adiponektin aufwiesen, zu einem Anstieg der Lipoprotein-Lipase Aktivität und damit verbunden zu einer erhöhten Ausscheidung von Triglyzeriden führte (92). Zum anderen ging in kultivierten Adipozyten, ein erhöhter Adiponektingehalt mit einer erhöhten Konzentration an Apolipoprotein E mRNA einher (146).

Wie bekannt ist, stellt die Lipoprotein-Lipase, die vor allem in Adipozyten und der Skelettmuskulatur produziert wird, ein wichtiges Element im Katabolismus, vor allem der Ausscheidung, von triglyzeridreichen Lipoproteinen dar. Apolipoprotein E wird von Adipozyten sezerniert und ist an der Ausscheidung von triglyzeridreichen Lipoproteinen beteiligt. Es dient in der Leber und anderen Geweben als Ligand für Lipoproteinrezeptoren (147). Den obigen Beobachtungen zufolge fördert Adiponektin also durch koordinierte Zunahme der Aktivität der Lipoprotein-Lipase und durch Zunahme der Apolipoprotein E-Produktion die Ausscheidung von triglyzeridreichen Lipoproteinen, und senkt somit deren Plasmagehalt.

1.4.3.5 Adiponektin und das ZNS

Weiterhin scheint Adiponektin zentrale Wirkung zu besitzen. Intrazerebroventrikuläre Gabe von sowohl globulärem, rekombinatem als auch den vollständigen Formen von Adiponektin scheint zu einer Steigerung der Thermogenese und damit zu

vermehrtem Energieverbrauch und damit verbundener Abnahme des Körpergewichts sowie zu erhöhter Insulinsensitivität zu führen (148).

1.5 Die pathophysiologische Rolle Adiponektins

1.5.1 Adiponektin und das metabolische Syndrom

Fettleibigkeit ist assoziiert mit dem sogenannten Metabolischen Syndrom. Im Rahmen dieser Erkrankung kommt es zu Hyperinsulinämie und peripherer Insulinresistenz, zu Glukoseintoleranz oder zur Ausbildung eines Diabetes mellitus Typ 2; zu Hypertriglyzeridämie, zu erniedrigten HDL-Cholesterinspiegeln sowie zu arterieller Hypertension und kardiovaskulären Veränderungen wie Arteriosklerose und deren Folgen wie insbesondere dem Herzinfarkt (149-151). Die Rolle und die molekularen Wirkungsmechanismen von Adiponektin in diesen einzelnen Stoffwechselveränderungen wurden bereits ausführlich erläutert. Wie bereits erwähnt, entwickeln Adiponektin-Knockout-Mäuse häufiger Diät-induzierte Insulinresistenz. Nach Gefäßverletzungen bilden sie schneller arterielle Stenosen aus und zeigen verstärkte Intimaverdickung im Vergleich zu gleich behandelten Wildtypmäusen (132;152). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus Tiermodellen, haben einige Querschnittsstudien eine Assoziation zwischen Adiponektinspiegeln und dem Auftreten von Insulinresistenz, Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskulären Erkrankungen beobachtet (53;153-155).

Bis heute scheint festzustehen, dass Fettleibigkeit und das mit ihr oben beschriebenen metabolische Syndrom und dessen kardiovaskuläre Folgeerkrankungen im Gegensatz zu allen anderen Adipokinen mit einem erniedrigten Plasmaadiponektinspiegel einhergehen.

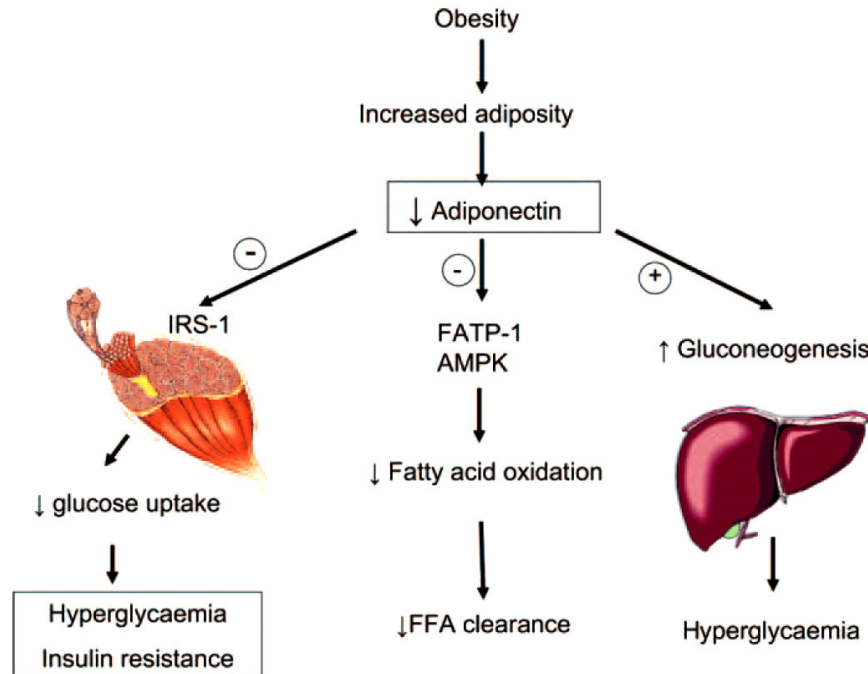


Abbildung 11: Fettleibigkeit bedingt erniedrigte Adiponektinspiegel, was zu verminderter Aktivierung des Fettsäuretransportproteins 1, FATP-1, und der AMPK und damit zu verminderter Fettsäureoxidation führt. Ebenso wird das periphere Gewebe wie die Skelettmuskulatur resistent gegen die über Insulin-Rezeptor-Protein-1vermittelte Insulinwirkung und die Glukoseaufnahme in die Zelle wird verhindert. Erniedrigte Adiponektinspiegel führen außerdem zur Aktivierung der Phosphoenolpyruvatkinase, einem Schüsselenzym in der Glukoneogenese, und damit zu Hyperglykämie (156).

1.5.2 Adiponektin und koronare Herzerkrankung

Wie bereits erwähnt zeigten zahlreiche Studien, dass Plasmaadiponektinspiegel auch bei Patienten, die an Folgen des metabolischen Syndroms, wie koronarer Herzkrankheit, KHK, leiden, niedriger sind, als bei Kontrollpersonen. Beispielsweise zeigte sich eine Hypoadiponektinämie, definiert durch die 25. Perzentile, assoziiert mit einer zweifach erhöhten Prävalenz von KHK bei Männern. Männer, die sowohl an Diabetes mellitus Typ 2 als auch an KHK litten, zeigten zudem niedrigere Adiponektinspiegel als diejenigen, die nur an KHK litten (155).

Auch bei Patienten mit renalen Erkrankungen im Endstadium und bei Diabetes mellitus Typ 1 Patienten erwies sich das Vorliegen einer Hypoadiponektinämie als unabhängiger Prädiktor für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse (157). In einer prospektiven Studie zeigte sich, dass Männer mit höheren Plasmaadiponektinspiegeln ohne bestehende KHK ein geringeres Risiko für das Auftreten eines Herzinfarktes hatten, als Männer mit mittleren oder niedrigen Plasmaadiponektinspiegeln (158).

1.6 Die Adiponektin Hypothese

Diese Untersuchungsergebnisse, führten zu der Entwicklung der sogenannten Adiponektin-Hypothese. Dieser Behauptung zufolge führen genetische Veränderungen wie Polymorphismen einerseits und Umwelteinflüsse, wie bewegungsarme Lebensweise, die zur Entwicklung von Fettleibigkeit beitragen andererseits über ihr Zusammenwirken zu Hypoadiponektinämie, welche ihrerseits die Entwicklung von Insulinresistenz, Diabetes mellitus Typ 2 und dem metabolischen Syndrom mit all seinen Folgen, wie insbesondere dem Auftreten von Arteriosklerose und KHK, die als Extremvariante in einem Herzinfarkt gipfeln kann, bedingt (27).

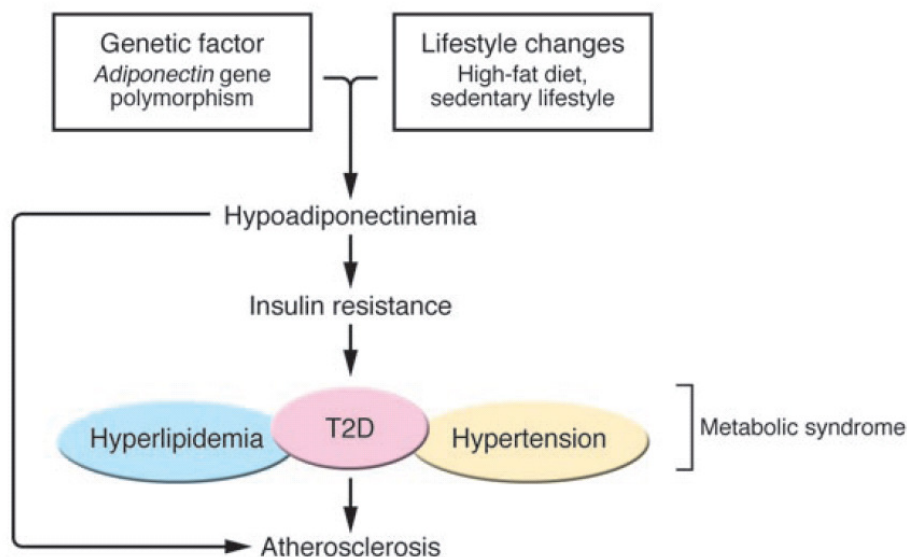


Abbildung 12: Verminderte Adiponektinspiegel können durch Interaktionen von genetischen Faktoren, wie Single-Nucleotide-Polymorphismen im Adiponektinogen und Umwelteinflüssen, wie dem Lebensstil, der durch fetthaltige Ernährung und Bewegungsarmut, zu Fettleibigkeit führt, verursacht werden. Diese Veränderung im Adiponektinspiegel scheint eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Insulinresistenz, Diabetes mellitus Typ 2 sowie anderen metabolischen Erkrankungen und damit auch indirekt bei der Entstehung von Arteriosklerose, zu spielen (73).

Es gibt jedoch auch konträre Sichtweisen. So traten Studienergebnisse auf, die die Gültigkeit dieser Hypothese eindeutig in Frage gestellt haben. In einer prospektiven Fall-Kontroll-Studie bei Frauen konnte zwar ein Zusammenhang zwischen dem Adiponektinspiegel und dem Auftreten von Insulinresistenz, aber keinerlei Zusammenhang zu dem Auftreten von KHK hergestellt werden (159). Ebenso konnte

eine große prospektive Studie, die an Männern durchgeführt wurde, die früher berichteten Assoziationen zwischen der Höhe des Adiponektinspiegels und dem Auftreten von KHK nicht bestätigen.

Eine Meta-Analyse von sieben Studien konnte lediglich eine moderate Assoziation beider Merkmale konstatieren (160). In einer weiteren Studie an Männern die an KHK erkrankt sind wurde gezeigt, dass hohe Adiponektinspiegel nicht etwa, wie bisher angenommen, als kardioprotektiv, sondern als unabhängiger Prädiktor von Gesamtmortalität, dem Auftreten von Herzinfarkt und kardialer Mortalität fungieren (161). Es stellt sich also die Frage, ob Adiponektin tatsächlich kardioprotektive Wirkung besitzt. Hinzu kommt die Tatsache, dass Adiponektin in Form verschiedener Multimere im Plasma zirkuliert. Die biologische Bedeutung der einzelnen Oligomere ist bei weitem nicht geklärt, doch durch die Entwicklung eines ELISAs, der die selektive Messung von LMW-, MMW- und HMW-Adiponektin erlaubt (162) ist es nun möglich, Untersuchungen durchzuführen, die die unterschiedlichen Rollen der Oligomere im Organismus aufdecken könnten.

Mit dem Ziel die kontroversen Studienergebnissen in Bezug auf Adiponektins kardioprotektive Eigenschaften unter Berücksichtigung möglicher unterschiedlicher biologischer Funktionen der verschiedenen Adiponektin-Multimere näher zu überprüfen, wurden in dieser Arbeit mit Hilfe des oben erwähnten ELISAs die Höhe von Gesamtadiponektin, LMW-, MMW- und HMW-Adiponektin bei fettleibigen und normalgewichtigen männlichen Nichtdiabetikern mit und ohne Herzinfarkt in der Krankengeschichte bestimmt. Anschließend wurde eine prospektive Fall-Kontroll Studie an gesunden männlichen Nicht-Diabetikern durchgeführt, um die Vorhersagekraft der einzelnen Adiponektin-Multimere in Bezug auf das Auftreten fataler und nicht fataler Herzinfarkte zu untersuchen.

2.Methoden

2.1. Studienpopulation

2.1.1 Die Herzinfarkt Familienstudie

Die Individuen für die vorliegenden Untersuchungen sind Teilnehmer der Deutschen Herzinfarkt Familienstudie (HIFAM). Im Rahmen der Deutschen Herzinfarkt Familienstudie wurde retrospektiv untersucht, in welchem Ausmaß verschiedene Merkmale der Koronaren Herzkrankheit, wie zum Beispiel Manifestation und Verteilung arteriosklerotischer Läsionen, Ausprägung von Koronarverkalkungen, Schwere der Erkrankung, Morphologie der Stenosen und anatomische Charakteristika genetisch kontrolliert werden.

Hierzu wurde eine große angiographische Datenbank für Patienten mit familiär gehäuft auftretenden Herzinfarkten errichtet. Die in die Studien eingeschlossenen Familien wurden in 15 Herzkreislauf-Rehabilitationszentren anhand von Index-Patienten ermittelt. Alle dort registrierten Patienten hatten bereits vor dem sechzigsten Lebensjahr einen Herzinfarkt erlitten. Wenn wenigstens ein Geschwisterteil der Patienten vor dem siebzigsten Lebensjahr von einem Herzinfarkt oder einer ernsthaften koronaren Herzerkrankung, definiert als stattgehabte Perkutane Koronare Intervention (PCI) oder Koronare Bypass Operation (CABG), betroffen war, so wurde die gesamte Kernfamilie mit allen noch lebenden Eltern und allen betroffenen und nicht betroffenen Geschwistern kontaktiert und zur Studienteilnahme eingeladen.

2.1.2 Retrospektive Fall-Kontroll-Studie

Für die primär im Rahmen einer retrospektiven Studie durchgeführten Quantifizierung der Adiponektin-Multimere wurden ausschließlich männliche Teilnehmer der deutschen Herzinfarkt-Familienstudie, die nicht an Diabetes Mellitus Typ 2 leiden analysiert (Population 1). Die Population wurde entsprechend dem Body Mass Index (BMI) und dem kardiovaskulären Profil der einzelnen Probanden in vier Gruppen, n=45 Teilnehmer je Gruppe, eingeteilt.

Es wurden die Adiponektin-Multimere bei vier Gruppen bestimmt: 1. bei adipösen Männern ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) mit validiertem, dokumentiertem Herzinfarkt; 2. bei adipösen Männern, ohne koronare Herzerkrankung (ohne Hinweise auf Angina

Pectoris oder Herzinfarkt in ihrer Krankheitsgeschichte); 3. bei normalgewichtigen Männern ($18 \text{ kg/m}^2 \leq \text{BMI} \leq 25 \text{ kg/m}^2$) mit nachgewiesenem Herzinfarkt und 4. bei normalgewichtigen Männern ohne jegliche Hinweise auf das Leiden an einer koronaren Herzerkrankung.

Ausschlusskriterium war das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2, definiert als anamnestischer Hinweis auf das Vorliegen einer antidiabetischen Therapie sowie einem glykolysiertem Hämoglobinwert $\geq 6,0\%$. Weitere klinische Charakteristika, wie mittlerer arterieller Blutdruck, Nikotinkonsum oder LDL-Cholesterin der ausgewählten Teilnehmer waren bereits durch die Aufnahme in die Herzinfarkt-Familienstudie bekannt.

2.1.3 Prospektive genestete Fall-Kontroll-Studie

Für die anschließend durchgeführte prospektive genestete Fall-Kontroll Studie wurde eine weitere Studienpopulation aus 1236 Teilnehmern der Herzinfarkt-Familienstudie zusammengestellt (Population 2). Die Individuen waren männliche Geschwister, die bei ihrer Aufnahme in die Herzinfarkt Familienstudie asymptomatisch, also frei von einem Herzinfarkt ereignis waren. Wie alle Teilnehmer der Herzinfarkt Familienstudie wurden auch diese 1236 Patienten über einen Zeitraum von acht Jahren beobachtet und untersucht. N=56 von diesen erlitten innerhalb dieses Beobachtungszeitraumes von acht Jahren einen fatalen oder nicht-fatalen Herzinfarkt. Diese 56 Patienten wurden als Fälle für die Studienpopulation 2 ausgewählt, wobei Wert darauf gelegt wurde, dass jeweils nur ein Teilnehmer aus einer Familie stammte. Die restlichen 1180 Studienteilnehmer blieben asymptomatisch. Davon wurden 112 zufällig und 1:2 gematcht nach Alter und BMI ausgewählt.

Somit ergab sich ein Verhältnis von Fällen zu Kontrollen von 1:2, n=56 Fälle und n=112 Kontrollen. Das Ausschlusskriterium des Vorliegens eines Diabetes Mellitus Typ 2 wurde hier ebenso wie bei der Zusammenstellung der Population 1 definiert.

2.2 Studiendesign

2.2.1 Retrospektive Fall-Kontroll-Studie

Wie bereits erwähnt, wurden zunächst bei jedem der Teilnehmer der Population 1 im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie retrospektiv die Adiponektin-Multimere quantifi-

ziert. Als Fälle wurden die Gruppen 1 und 2 (Adipöse mit Herzinfarkt und Normalgewichtige mit Herzinfarkt) als Kontrollen die Gruppen 3 und 4 (Adipöse ohne koronare Herzerkrankung und Normalgewichtige ohne koronare Herzerkrankung) angesehen.

Im Rahmen der HIFAM wurde von allen Teilnehmern zu drei Zeitpunkten, die insgesamt acht Jahre auseinander lagen Plasma gewonnen. Diese drei Zeitpunkte werden im Folgenden als Erst-, Zweit- und Drittinterview bezeichnet.

Die retrospektive Quantifizierung der Adiponektin-Multimere wurde mittels eines Sandwich-ELISAs der Firma ALPCO Diagnostics durchgeführt und hierzu das Plasma aus dem Erstinterview verwandt. Die genaue Durchführung des ELISAs wird im Folgenden noch beschrieben werden.

2.2.2 Prospektive genestete Fall-Kontroll-Studie

Es schloss sich die Durchführung einer prospektiven genesteten Fall-Kontroll-Studie mit den Teilnehmern der Population 2 an. Hierbei wurden primär die Adiponektin-Multimere im Plasma des Erstinterviews der Fallgruppe und der Kontrollgruppe, anschließend, die Adiponektin-Multimere im Plasma des Drittinterviews beider Gruppen quantifiziert. Die Quantifizierung erfolgte wiederum mit Hilfe des Sandwich-ELISAs der Firma ALPCO Diagnostics.

2.3 Durchführung des Adiponektin-Multimer-Elisas

Für die quantitative Bestimmung der Adiponektin-Multimere in den Erst- und Drittinterviewplasmen wurde ein Sandwich-ELISA der Firma ALPCO Diagnostics verwendet. Diese Untersuchung ist für die quantitative, selektive Bestimmung von Adiponektin-Multimeren, das heißt HMW- und MMW- sowie Gesamt-Adiponektin in humanem Plasma vorgesehen. Das hier verwendete Packet arbeitet auf der Basis eines enzyme-linked-immunosorbent-assays vom Sandwichtyp. Die hierin verwendeten spezifischen Antikörper, sind gegen zwei unabhängige Epitope gerichtete monoklonale Anti-Humane-Adiponektin-Antikörper. Mit Hilfe dieses Packets können die Adiponektin-Multimere in vier Anteile klassifiziert werden. Die Gesamt-Adiponektin-Fraktion, Total-Ad, und die HMW-Adiponektin-Fraktion, HMW-Ad, werden direkt auf der ELISA Platte bestimmt. Die MMW-Adiponektin (MMW-Ad)

sowie die LMW-Adiponektin (LMW-Ad) Fraktionen können indirekt durch Berechnung gewonnen werden.

Bevor mit der praktischen Durchführung des ELISAs begonnen wurde, musste zunächst die Plattenbelegung geplant werden. Die beiden ersten Reihen wurden jeweils reserviert für den Standard. So blieben pro Platte 96 Wells zur Adiponektin-Bestimmung in Plasmaproben übrig. Pro Plasmaprobe, das heißt pro Patient sind je drei Wells zur Bestimmung von Total-Ad, MMW- + HMW- Ad und HMW-Ad nötig. Des Weiteren erfolgten pro Platte von zwei Probanden Doppelbestimmungen, das heißt insgesamt 6 Doppelbestimmungen, zur Qualitätskontrolle. Folglich gelang es je Platte maximal 24 verschiedene Plasmaproben auf ihren Gehalt an unterschiedlichen Adiponektin-Multimeren zu untersuchen.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
STD 4.6	STD 4.6	Pat 1 Total	Pat 1 MMW+HMW	Pat 1 HMW	Pat 2 Total	Pat 2 MMW+HMW	Pat 2 HMW	Pat 3 Total	Pat 3 MMW+HMW	Pat 3 HMW	Pat 4 Total
STD 2.3	STD 2.3	Pat 4 MMW+HMW	Pat 4 HMW	Pat 5 Total	Pat 5 MMW+HMW	Pat 5 HMW	Pat 6 Total	Pat 6 MMW+HMW	Pat 6 HMW	Pat 7 Total	Pat 7 MMW+HMW
STD 1.15	STD 1.15	Pat 7 HMW	Pat 8 Total	Pat 8 MMW+HMW	Pat 8 HMW	Pat 9 Total	Pat 9 MMW+HMW	Pat 9 HMW	Pat 10 Total	Pat 10 MMW+HMW	Pat 10 HMW
STD 0.575	STD 0.575	Pat 11 Total	Pat 11 MMW+HMW	Pat 11 HMW	Pat 12 Total	Pat 12 MMW+HMW	Pat 12 HMW	Pat 13 Total	Pat 13 MMW+HMW	Pat 13 HMW	Pat 14 Total
STD 0.288	STD 0.288	Pat 14 MMW+HMW	Pat 14 HMW	Pat 15 Total	Pat 15 MMW+HMW	Pat 15 HMW	Pat 16 Total	Pat 16 MMW+HMW	Pat 16 HMW	Pat 17 Total	Pat 17 MMW+HMW
STD 0.144	STD 0.144	Pat 17 HMW	Pat 18 Total	Pat 18 MMW+HMW	Pat 18 HMW	Pat 19 Total	Pat 19 MMW+HMW	Pat 19 HMW	Pat 20 Total	Pat 20 MMW+HMW	Pat 20 HMW
STD 0.072	STD 0.072	Pat 21 Total	Pat 21 MMW+HMW	Pat 21 HMW	Pat 22 Total	Pat 22 MMW+HMW	Pat 22 HMW	Pat 23 Total	Pat 23 MMW+HMW	Pat 23 HMW	Pat 24 Total
STD 0	STD 0	Pat 24 MMW+HMW	Pat 24 HMW	Pat 10 Doppel Total	Pat 10 Doppel MMW+HMW	Pat 10 Doppel HMW	Pat 20 Doppel Total	Pat 20 Doppel MMW+HMW	Pat 20 Doppel HMW		

Abbildung 13: Beispiel der Planung der Plattenbelegung.

Wichtig ist, dass alle Reaktionskomponenten des bei 4°C aufbewahrten ELISA-Packets sowie die Plasmaproben, Raumtemperatur besitzen um optimale Funktion der Proteasen zu ermöglichen.

Die verwendeten Plasmaproben waren in der Zeit vor der Durchführungen der ELISAs bei -20°C eingefroren. Sie mussten also langsam aufgetaut werden, bis sie Raumtemperatur erreicht hatten und das Plasma sich verflüssigt hatte.

Im Folgenden wird der Ablauf des ELISAs exemplarisch für eine Plasmaprobe beschrieben.

Zunächst werden die Protease Lösungen I und II hergestellt. Hierzu werden den lyophilisierten Proteasen I und II je 10ml Protease-Puffer hinzugefügt und dann unter gelegentlichem Mischen bei Raumtemperatur innerhalb von 15 bis 30 Minuten komplett aufgelöst. Einstweilen werden sechs Eppendorf Cups wie folgt beschriftet:

Tabelle 1: Beschriftungsschema Adiponektin-ELISA

Cup 1 und Cup 4	Total-Ad
Cup 2 und Cup 5	MMW + HMW-Ad
Cup 3 und Cup 6	HMW-Ad

Anschließend werden in die ersten drei dieser Cups je 10µl der Plasmaprobe pipettiert. Sobald die lyophilisierten Proteasen vollständig in Lösung gegangen sind, werden 100µl der Protease Lösung I in Cup 2 und 100µl der Protease Lösung 2 in Cup 3 pipettiert. Die Cups werden anschließend kurz geschwenkt um ein Vermischen der Proteasen und des Plasmas zu ermöglichen und dann 20 Minuten bei 37°C inkubiert. Protease I verdaut selektiv nur das in dem Plasma befindliche LMW-Ad, die MMW-sowie die HMW-Ad Fraktion bleiben unverdaut. Protease II hingegen verdaut selektiv LMW-Ad und MMW-Ad, das heißt nur die HMW-Ad Fraktion bleibt im Plasma zurück.

Zwischenzeitlich werden 100µl Protease Puffer und 400µl Sample-Pretreatment-Puffer in Cup 1 überführt und anschließend gut durchmischt. Der Sample-Pretreatment-Puffer ist ein saurer SDS enthaltender Puffer, der das im Plasma befindliche multimere Adiponektin in eine dimere Form umwandelt. Nach Entnahme der Cups 2 und 3 aus dem Inkubator werden auch ihnen sofort 400µl Sample Pretreatment Puffer zugeführt und der Inhalt kräftig gemischt. Durch die Zugabe des SDS-Puffers wird die Verdauungsreaktion der Proteasen gestoppt sowie die in Cup 2 unverdaut verbliebene MMW- und HMW-Ad Fraktion und die in Cup 3 unverdaute HMW-Ad Fraktion in dimere Formen umgewandelt.

Nach diesem ersten Verdünnungsschritt, liegt die Plasmaprobe nun in jedem Cup im Verhältnis 1:51 verdünnt vor. Nach erneutem gutem Mischen werden je 5µl aus den drei Cups wie folgt auf drei weitere, mit je 500µl Verdünnungspuffer gefüllte Cups verteilt:

Tabelle 2: Pipettierschema Adiponektin-ELISA

Von		Zu	Bestimmung von
Cup 1	5µl	Cup 4	Total-Ad
Cup 2	5µ	Cup 5	MMW+HMW -Ad
Cup 3	5µl	Cup 6	HMW-Ad

In den Cups befindet sich nun das endgültige Verdünnungsverhältnis von 1:5151. Bevor aber mit dem Pipettieren der verdünnten Plasmaproben auf die ELISA-Platte begonnen werden kann, muss noch ein Standard geschaffen werden. Dazu wird primär eine Stammlösung erzeugt. Der Kalibrator wird hierfür nach gutem Mischen 1:101 mit Verdünnungspuffer verdünnt (3µl Kalibrator + 300µl Verdünnungspuffer) und anschließend folgende Verdünnungsreihe erstellt.

Tabelle 3: Verdünnungsreihe zur Standarderstellung

Standardnummer	Hinzuzufügender Kalibrator	Hinzuzufügender Verdünnungspuffer
1	150 µl Stammlösung	0 µl
2	150 µl Standard 1	150µl
3	150µl Standard 2	150µl
4	150µl Standard 3	150µl
5	150µl Standard 4	150µl
6	150µl Standard 5	150µl
7	150µl Standard 6	150µl
8	0 µl	150µl

Nachdem dies alles erfolgt ist, werden 50µl jeder Standardlösung sowie je 50µl aus Cup 4, 5 und 6 entsprechend dem erstellten Belegungsplan auf die ELISA-Platte pipettiert. Die Platte wird mit einer Versiegelungsfolie bedeckt und eine Stunde lang bei Raumtemperatur (20-30 °C) inkubiert. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte sind mit monoklonalen Anti-Humanen-Adiponektin-Antikörpern beschichtet. Während dieser ersten Inkubationsphase wird das Adiponektin in den Standards und den vorbehandelten Plasmaproben von den Antikörpern gebunden.

Sobald die erste Inkubationsphase abgeschlossen ist, wird die restliche sich in den Vertiefungen befindende Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und die Platte mehrmals auf einem Papierhandtuch ausgeklopft, um jegliche überschüssige Flüssigkeit zu

entfernen. Anschließend wird das Waschpufferkonzentrat mit 900 ml aufbereitetem Wasser verdünnt. Danach wird jede Vertiefung durch die Zugabe von 350-400µl verdünntem Waschpuffer gewaschen. Daraufhin wird der Waschpuffer wieder vorsichtig abgegossen und die Platte erneut ausgeklopft. Dieses Procedere wird noch zweimal wiederholt und dient dazu, alles ungebundene Material zu entfernen. Dann werden in jede Vertiefung 50µl biotingegebundene monoklonale Antikörper pipettiert und die Platte wiederum, nach Verschluss mit einer Versiegelungsfolie, eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert.

In dieser Zeit soll der Anti-Humane-Adiponektin-Antikörper, an den Biotin gekoppelt wurde, an das in den Vertiefungen verbliebene Adiponektin binden. Nach dieser zweiten Inkubation wird der Waschschrift wie oben beschrieben wiederholt.

Anschließend werden jeweils 50µl Enzym-gekoppeltes Streptavidin in jede der Vertiefungen gegeben, die Mikrotiterplatte durch das Applizieren einer Folie bedeckt und 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach dem dritten Inkubationsschritt wird erneut wie oben beschrieben gewaschen.

Durch Zugabe von 6ml Substratpuffer wird das lyophilisierte Substrat in seinem Fläschchen aufgelöst und sofort darauf je 50µl Substratlösung in jede Vertiefung der Platte übertragen. Die Platte muss nun vor Licht geschützt noch 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert werden. Nachdem sich in diesem 10 Minuten die Farbe ausgeprägt hat, wird durch das Hinzufügen von je 50µl Stopreagenz, die Farbentwicklung beendet. Die Intensität der Farbentwicklung wird mit Hilfe eines Mikrotiterplatten-Lesegerätes bestimmt.

Es erfolgt eine Zweipunktmessung der Absorption jeder Vertiefung bei 490 und 650 nm. Durch Subtraktion des Absorptionswertes des Standards 8 (enthält keinen Kalibrator) von den Absorptionswerten der restlichen Standarde sowie der verdünnten Plasmaproben, errechnet das Programm Softmax dann Delta-Absorption. Anschließend wird der Logarithmus von Delta-Absorption der einzelnen Standarde gegen den Logarithmus der Konzentrationswerte in ng/ml der acht Standarde in Form einer Eichgerade graphisch dargestellt.

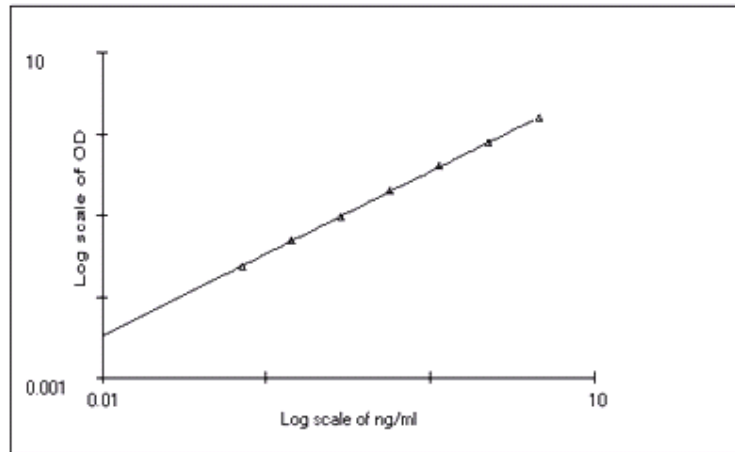


Abbildung 14: Eichgerade eines Adiponektin ELISAs aus der prospektiv-genesteten Fall-Kontroll-Studie; Platte 5. $\text{Log}(y) = A + B \cdot \text{log}(x)$. $A = 0.455$; $B = 1,01$.

Anhand dieser Eichgerade errechnet das Programm Softmax die Konzentration der jeweiligen Adiponektinfraktionen in den verdünnten Plasmaproben. Durch Multiplikation dieser Werte mit dem Verdünnungsfaktor 5151, erhält man die tatsächlichen Konzentrationen von Totalem-Adiponektin, HMW-Adiponektin und der Summe aus HMW- und MMW-Adiponektin in der Plasmaprobe.

Die in der Plasmaprobe enthaltenen Konzentrationen an Mittelmolekularem ($c(\text{MMW-Ad})$) und Niedrigmolekularem Adiponektin ($c(\text{LMW-Ad})$) müssen nun noch errechnet werden. Dies geschieht nach folgenden Formeln:

$$\text{MMW-Ad} = (c(\text{HMW-Ad}) + c(\text{MMW-Ad})) - c(\text{HMW-Ad})$$

$$\text{LMW-Ad} = c(\text{Total-Ad}) - (c(\text{HMW-Ad}) + c(\text{MMW-Ad}))$$

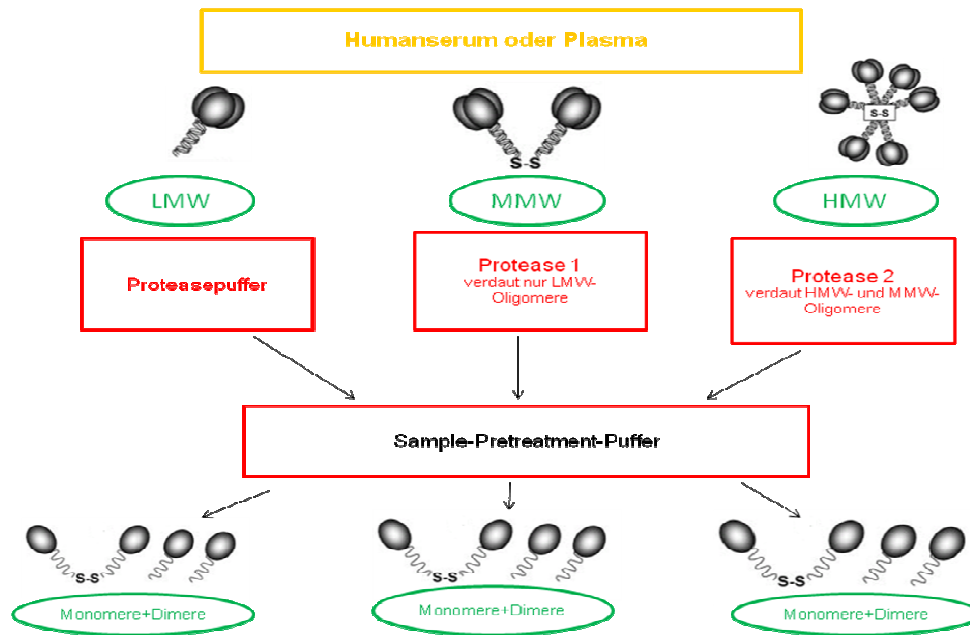


Abbildung 15: Überblick über den Ablauf des ELISAs zur Quantifizierung der Adiponektin-Multimere in humanem Plasma.

2.4 Statistische Methoden

Die Mittelwerte der klinischen Baseline-Charakteristika und Proportionen der Risikofaktoren wurden sowohl für die Fälle als auch für die randomisiert zugeteilten Kontrollen berechnet.

Um die Unterschiede der Mittelwerte auf statistische Signifikanz zu prüfen, wurde der Student's t-Test benutzt. Hierfür werden logarithmische Transformationen für diejenigen Parameter durchgeführt, die von der Normalverteilung abweichen. Mittels der χ^2 -Statistik wurden die Proportionen diskreter Variablen verglichen.

In Rahmen der genesteten Fall-Kontroll-Studie wurden Fälle und Kontrollen nach Alter und Body-Mass-Index gematched und die Abschätzungen des relativen Risikos erfolgte mit Hilfe konditionaler logistischer Regressionsmodelle, die für kardiovaskuläre Risikofaktoren, wie zum Beispiel den systolischen Blutdruck, den Nikotinkonsum und den Plasmalipidspiegel adjustiert wurden.

Alle P-Werte wurden zweiseitig bestimmt und Werte unter 0.05 wurden als statistisch signifikant definiert. Alle Konfidenzintervalle wurden im 95% Bereich ermittelt.

Für die statistischen Berechnungen wurden die Programme STATA, Version 8.0 (StataCorp, College Station, TX, USA), und JMP, Version 7.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA) verwendet.

3. Ergebnisse

3.1 Baseline-Charakteristika

3.1.1 Baseline-Charakteristika der Population 1

Tabelle 4 zeigt einen Überblick über die Baseline-Charakteristika der Population 1 der retrospektiven Fall-Kontroll-Studie, gegliedert in vier Gruppen je 45 Teilnehmer. Es wurden ausschließlich männliche Personen in die Studie eingeschlossen. Als Ausschlusskriterium galt das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2, definiert als anamnestisch erhobener Hinweis auf die Einnahme von Antidiabetika oder als das Vorliegen eines glykosylierten Hämoglobinwertes von über 6%. Die Patienten mit stattgehabtem Herzinfarkt waren durchschnittlich etwa fünf Jahre älter als jene ohne Herzinfarkt oder KHK. Der BMI unterschied sich den Aufnahmekriterien in die einzelnen Gruppen entsprechend. So war der BMI der Normalgewichtigen $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ jedoch $\geq 18 \text{ kg/m}^2$. Jener der Adipösen lag per definitionem $\geq 30 \text{ kg/m}^2$. Der durchschnittliche HbA1c-Wert lag bei den Patienten ohne KHK bei 5,1%, jener der Patienten mit stattgehabtem Herzinfarkt bei 5,4%. Die durchschnittlichen LDL-Werte der einzelnen Gruppen differierten ebenso wie der mittlere arterielle Blutdruck nur gering. In den Gruppen der Patienten mit Herzinfarkt fanden sich mit etwa 80% deutlich mehr Ex-Raucher als in den Vergleichsgruppen. Ebenso fand man bei diesen Patienten einen deutlich höheren Anteil mit Antihypertensiva beziehungsweise mit Statinen therapiert.

Tabelle 4: Baseline-Charakteristika der Population 1.

	Keine KHK		Herzinfarkt	
	Normal-gewichtige	Adipositas	Normal-gewichtige	Adipositas
N	45	45	45	45
Geschlecht (%m)	100	100	100	100
Diabetes(%)	0	0	0	0
Alter (Jahre)	50±10	46±6	55±7	58±9
BMI (kg/m²)	23.2±1.3	32.3±2.4	23.7±1.7	32.3±2.2
HbA1c (%)	5.1±0.4	5.1±0.4	5.4±0.4	5.4±0.4
MAP (mmHG)	96±11	105±17	97±11	104±14
LDL (mg/dl)	140±45	152±38	158±45	163±42
Ex-Raucher (%)	51.1	51.1	84.4	80.0
Raucher (%)	46.7	35.6	15.6	6.7
Statine (%)	3.6	12.5	60.0	55.6
RR-Therapie (%)	11.1	24.4	84.4	93.3

%m, Prozent männlicher Teilnehmer; BMI, Body Maß Index; MAP, mittlerer arterieller Blutdruck; LDL, LDL-Cholesterin; RR-Therapie, antihypertensive Therapie.

3.1.2 Baseline-Charakteristika der Population 2

Für die im Anschluss durchgeführte prospektive genestete Fall-Kontroll-Studie wurden die Population 2 bestehend aus n=56 Fällen und n=112 nach Alter und BMI gematchte Kontrollen gewonnen. Auch wurden hier ebenso wie in die Population 1 lediglich männliche Patienten eingeschlossen. Das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2, Definition siehe 3.1.1, stellte auch hier wiederum ein Ausschlusskriterium dar. Die Fälle und die Kontrollen wurden nach Alter und BMI gematched. Das durchschnittliche Alter lag bei etwa 60 Jahren, der durchschnittliche BMI bei etwa 27 kg/m². Bezüglich der restlichen Baseline-Charakteristika, wie beispielsweise dem Anteil der aktuellen Raucher, dem mittleren arteriellen Blutdruckwert, dem Lipidprofil, dem HbA1c-Wert sowie der aktuellen Therapie mit Antihypertensiva oder Statinen zeigte sich zwischen Fällen und Kontrollen kein signifikanter Unterschied (Tabelle 5).

Tabelle 5: Überblick über die Baseline-Charakteristika der Population 2.

	Fälle (fatale/ nicht- fatale MI)	Kontrollen (asymptotisch/ ereignisfrei)	p-Wert
N	56	112	-
Geschlecht (%m)	100	100	-
Diabetes (%)	0	0	-
Alter (Jahre)	61 ± 11	59 ± 12	Matched
BMI (kg/m²)	27.8 ± 4.3	27.5 ± 3.7	Matched
Raucher (%)	37.5	33.0	0.568
Ex-Raucher (%)	80.4	75.2	0.455
MAP (mmHg)	105 ± 12	103 ± 13	0.242
Cholesterin (mg/dl)	252 ± 50	245 ± 48	0.361
LDL (mg/dl)	174 ± 54	161 ± 39	0.080
HDL (mg/dl)	49 ± 12	53 ± 14	0.075
HbA1c (%)	5.5 ± 0.4	5.4 ± 0.5	0.169
RR-Therapie (%)	41.1	33.9	0.367
Statine	7.1	10.1	0.533

%m, Prozent männlicher Teilnehmer; MAP, mittlerer arterieller Blutdruck; Cholesterin, Gesamt-Cholesterin; LDL, LDL-Cholesterin; HDL, HDL-Cholesterin; RR-Therapie, antihypertensive Therapie.

3.2 Ergebnisse der retrospektiven Fall-Kontroll-Studie

Im Rahmen dieser Studie wurden sowohl das Gesamtadiponektin als auch die Adiponektin-Multimere HMW-, MMW- und LMW-Adiponektin im Plasma der Teilnehmer der Population 1 bestimmt; stratifiziert für Adipöse mit Herzinfarkt, Adipöse ohne KHK, Normalgewichtige mit Herzinfarkt, Normalgewichtige ohne KHK, jede Gruppe à 45 Individuen. Ziel dieser Untersuchung war es einerseits, diese Werte im Plasma von adipösen Individuen mit den Plasmawerten normalgewichtiger Individuen zu vergleichen. Andererseits werden die Plasmaadiponektinwerte jener Individuen, die einen dokumentierten Herzinfarkt erlitten hatten, denen jener Studienteilnehmer gegenübergestellt, die nicht an einer koronaren Herzkrankheit leiden.

3.2.1 Verteilung der Adiponektin-Multimere in den vier Gruppen der Population

1

Zunächst wurde die Verteilung der Adiponektin-Multimere in den vier Untersuchungsgruppen bestimmt. Hierbei zeigt sich, sowohl in der Gruppe der normalgewichtigen

als auch der adipösen Individuen, die einen Herzinfarkt erlitten hatten, ein geringerer Anteil an HMW-Adiponektin im Plasma, als in den Gruppen der Normalgewichtigen und Adipösen ohne KHK. Wie in Abbildung 16 dargestellt, fällt zusätzlich auf, dass der Anteil an MMW-Adiponektin im Plasma der Normalgewichtigen und Adipösen, die einen Herzinfarkt erlitten hatten, größer ist, als der im Plasma der Kontrollen.

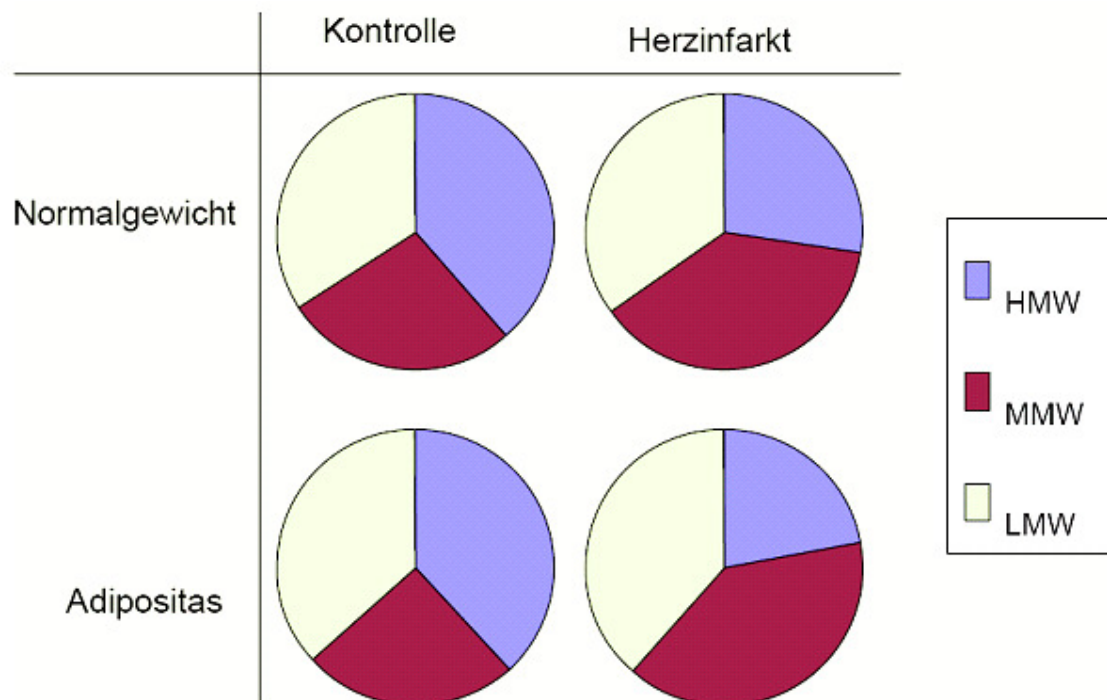


Abbildung 16: Verteilung der Adiponektin-Multimere in den vier untersuchten Gruppen.

3.2.2 Bestimmung des Gesamtadiponektins und der Adiponektin-Multimere in Abhängigkeit von Adipositas

Im nächsten Schritt wurden die Werte des Gesamtadiponektins und der einzelnen Adiponektin-Multimere im Plasma aller normalgewichtigen Studienteilnehmer mit denen aller adipösen Studienteilnehmer verglichen. Hierbei zeigten sich im Plasma der Normalgewichtigen, sowohl für Gesamtadiponektin, als auch für HMW-, MMW- und LMW-Adiponektin durchwegs höhere Werte als im Plasma der Adipösen (Abb. 17).

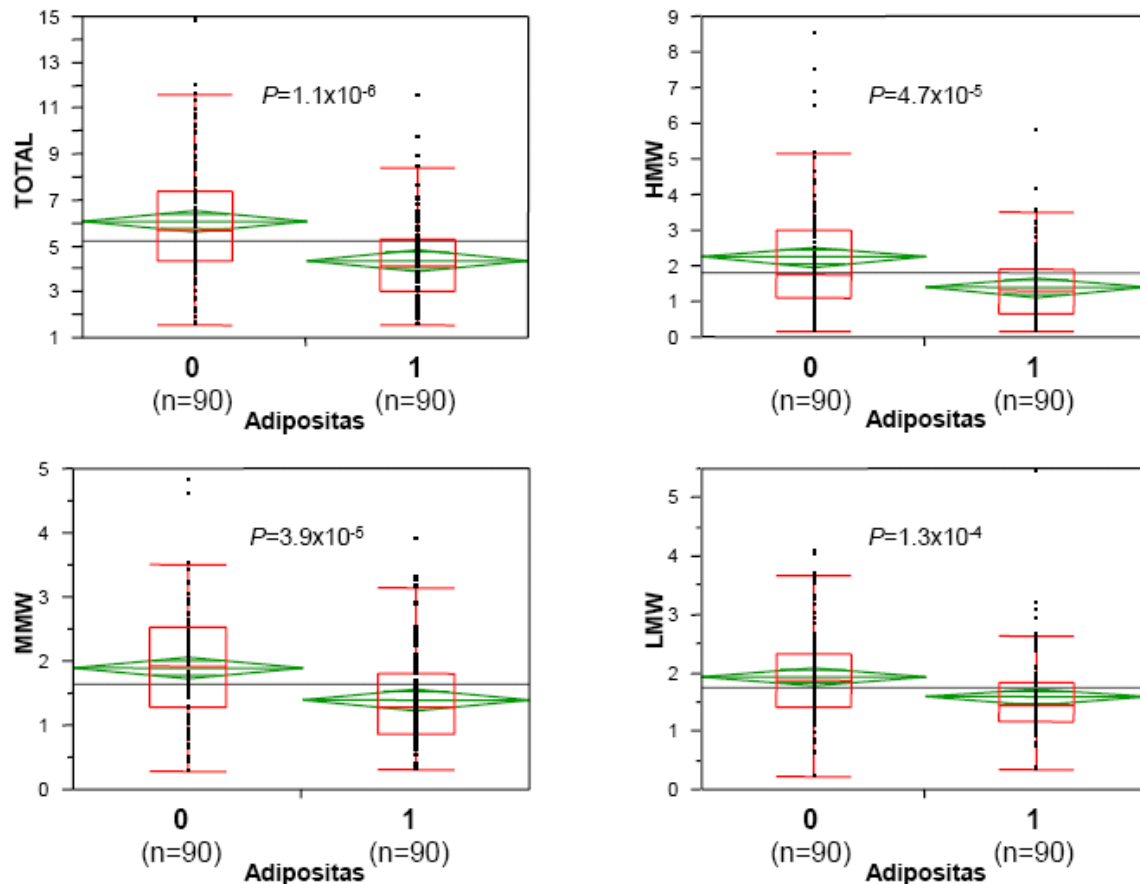


Abbildung 17: Darstellung des Gesamtadiponektins und der Adiponektin-Multimere bei normalgewichtigen und adipösen Individuen; 0= normalgewichtig; 1= adipös.

3.2.3 Untersuchung des Verhaltens von Gesamtadiponektin und Adiponektin-Multimeren in Abhängigkeit von Adipositas und Herzinfarkt

Im Folgenden wurden die Plasmawerte von Gesamtadiponektin, HMW-, MMW- und LMW-Adiponektin in Abhängigkeit von Adipositas und Herzinfarkt untersucht. Dabei fiel auf, dass in der Gruppe der Patienten, die an Adipositas litten, nicht aber an KHK, alle diese Werte deutlich niedriger waren als in der Gruppe der Patienten, die weder an Adipositas noch an KHK litten (Abb. 18).

Des Weiteren zeigten sich in der Gruppe der Patienten die sowohl an Adipositas litten als auch einen Herzinfarkt erlitten hatten, durchwegs niedrigere Werte für Gesamtadiponektin, HMW-, MMW- und LMW-Adiponektin als in der Gruppe Patienten, die zwar nicht an Adipositas litten, aber trotzdem einen Herzinfarkt erlitten hatten (Abb. 18).

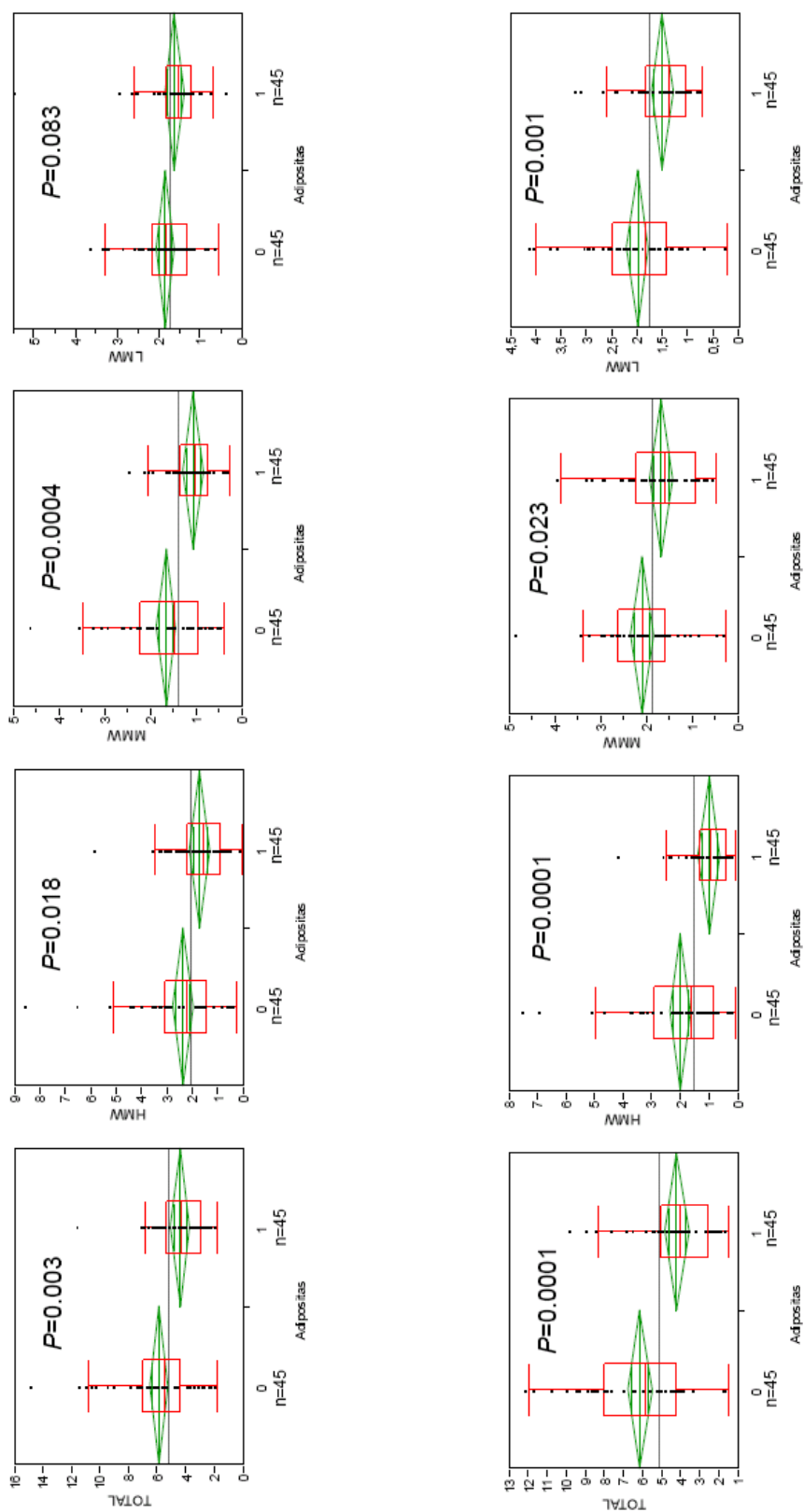


Abbildung 18: Darstellung der Adiponektinwerte in Abhängigkeit von Adipositas und Herzinfarkt. Oben: Kontrollen. Unten: Herzinfarktpatienten.
0= keine Adipositas; 1= Adipositas.

3.2.4 Untersuchung des Verhaltens von Gesamtadiponektin in Abhängigkeit des Herzinfarktes

Im Rahmen dieser Analyse wurden zunächst die Gesamtadiponektinwerte aller Individuen der Population 1 mit und ohne Herzinfarkt unabhängig von dem BMI-Wert, verglichen. Wie Abbildung 19 zeigt, ergab sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

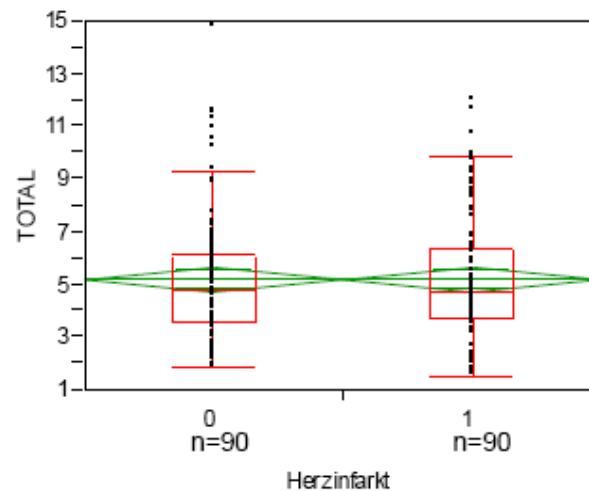


Abbildung 19: Darstellung der Gesamtadiponektinwerte in Abhängigkeit eines Myokardinfarktes. O= kein Myokardinfarkt. 1= Myokardinfarkt.

Im nächsten Schritt wurde das Gesamtadiponektin der ursprünglichen vier Gruppen der Population 1, das heißt, Normalgewichtige mit Herzinfarkt versus Normalgewichtige ohne KHK und Adipöse mit Herzinfarkt versus Adipöse ohne KHK, verglichen.

Hier zeigte sich bei Normalgewichtigen ein insgesamt höheres Gesamtadiponektin als bei Adipösen. Des Weiteren fiel auf, dass die Gesamtadiponektinwerte bei Adipösen mit Herzinfarkt etwas niedriger lagen als bei Adipösen ohne KHK. Die Gesamtadiponektinwerte der normalgewichtigen Fall- und Kontrollgruppe hingegen unterschieden sich nicht (Abb. 20). Es gilt folglich zu betonen, dass sich die Werte für Gesamtadiponektin derjenigen Patienten, die einen Herzinfarkt erlitten hatten, und jener ohne Herzinfarkt sowohl bei Normalgewichtigen als auch bei Adipösen nicht unterscheiden.

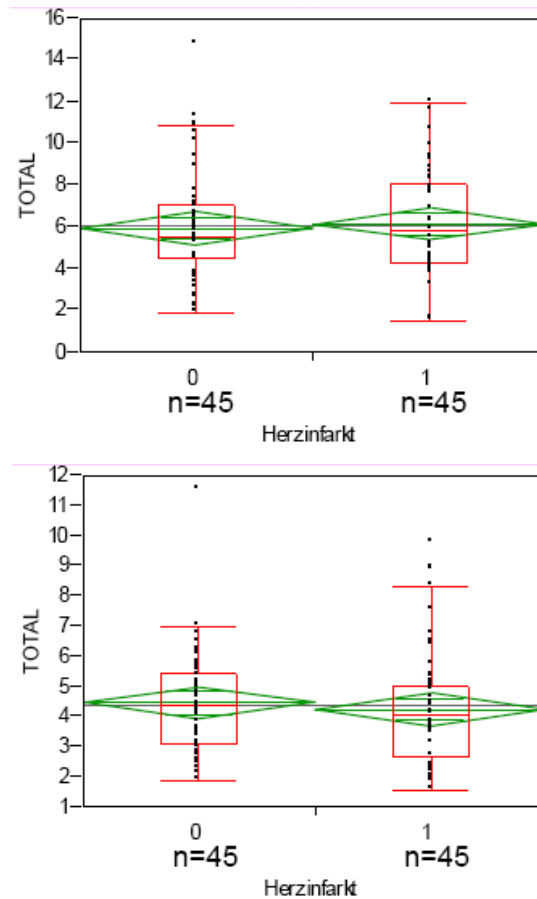


Abbildung 20: Darstellung der Gesamtadiponektinwerte in Abhängigkeit eines Myokardinfarktes und des BMI. 0= kein Myokardinfarkt. 1= Myokardinfarkt.

3.2.5 Untersuchung der Adiponektin-Multimere sowie ihr Verhalten zu Gesamtadiponektin in Abhängigkeit eines Herzinfarkt ereignisses

Nachdem die Werte für Gesamtadiponektin verglichen worden waren, wurden die Werte der verschiedenen Multimere im Plasma von herzinfarktpositiven und herzinfarktnegativen Individuen einander gegenübergestellt, zunächst ohne Berücksichtigung des BMI. Hierbei zeigten sich deutlich erniedrigte Werte für HMW-Adiponektin sowie deutlich erhöhte Werte für MMW-Adiponektin im Plasma derjenigen Patienten, die bereits einen Herzinfarkt erlitten hatten. Die LMW-Adiponektinwerte unterschieden sich nicht (Abb.21).

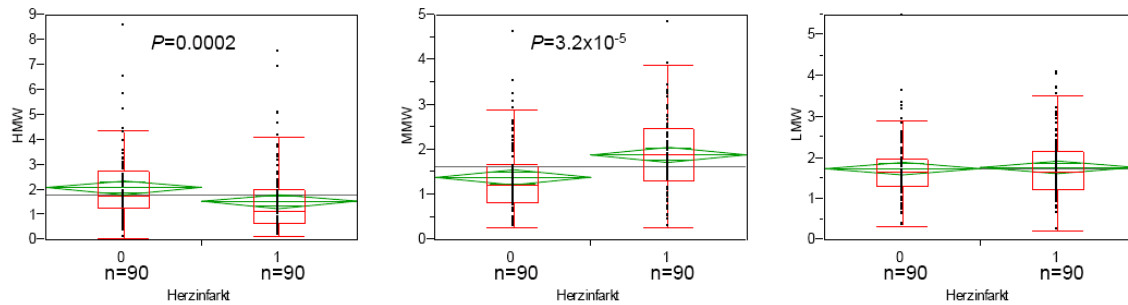


Abbildung 21: Darstellung der Adiponektin-Multimer-Werte im Plasma von Patienten mit und ohne Herzinfarkt. 0= kein Myokardinfarkt. 1= Myokardinfarkt.

Des Weiteren wurden nun auch die Verhältnisse der Multimere zu Gesamtadiponektin im Plasma der beiden zu untersuchenden Gruppen bestimmt. Im Plasma der Patienten die bereits einen Herzinfarkt erlitten hatten, zeigte sich im Vergleich zu der Kontrollgruppe eine signifikant erniedrigte HMW- zu Gesamtadiponektin-Ratio sowie eine signifikant erhöhte MMW- zu Gesamtadiponektin und MMW-HMW-Adiponektin-Ratio.

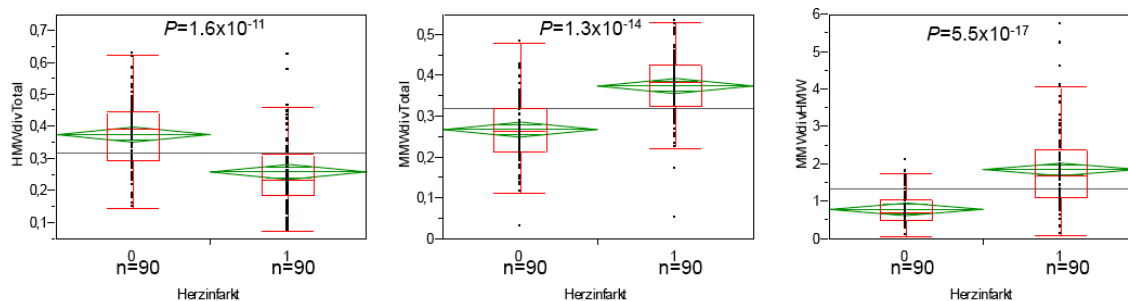


Abbildung 22: Darstellung des Verhaltens der Adiponektin-Multimere zu Gesamtadiponektin in Abhängigkeit eines Myokardinfarktes. 0= kein Myokardinfarkt. 1= Myokardinfarkt.

3.2.6 Untersuchung der Verhältnisse HMW-Gesamt-Adiponektin, MMW-Gesamt-Adiponektin und MMW-HMW-Adiponektin in Abhängigkeit eines Myokardinfarktes und des BMI

Da in der vorangehenden Untersuchung ohne Berücksichtigung des BMI signifikante Unterschiede der HMW-Gesamtadiponektin-Ratio, der MMW-Gesamtadiponektin-Ratio sowie der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio auffielen, wurden diese Verhältnisse anschließend wiederum an den vier ursprünglich definierten Gruppen der Population 1 untersucht. Normalgewichtige Patienten, die bereits einen Herzinfarkt erlitten hatten zeigten im Vergleich zu normalgewichtigen Patienten ohne KHK eine signifikant erniedrigte HMW-Gesamtadiponektin-Ratio, eine signifikant erhöhte MMW-Gesamtadiponektin-Ratio sowie eine signifikant erhöhte MMW-HMW-

Adiponektin-Ratio. Ebenso zeigten adipöse Patienten, die bereits einen Herzinfarkt erlitten hatten im Vergleich zu adipösen Patienten ohne KHK eine signifikant erniedrigte HMW-Gesamtadiponektin-Ratio, eine signifikant erhöhte MMW-Gesamtadiponektin-Ratio sowie eine signifikant erhöhte MMW-HMW-Adiponektin-Ratio.

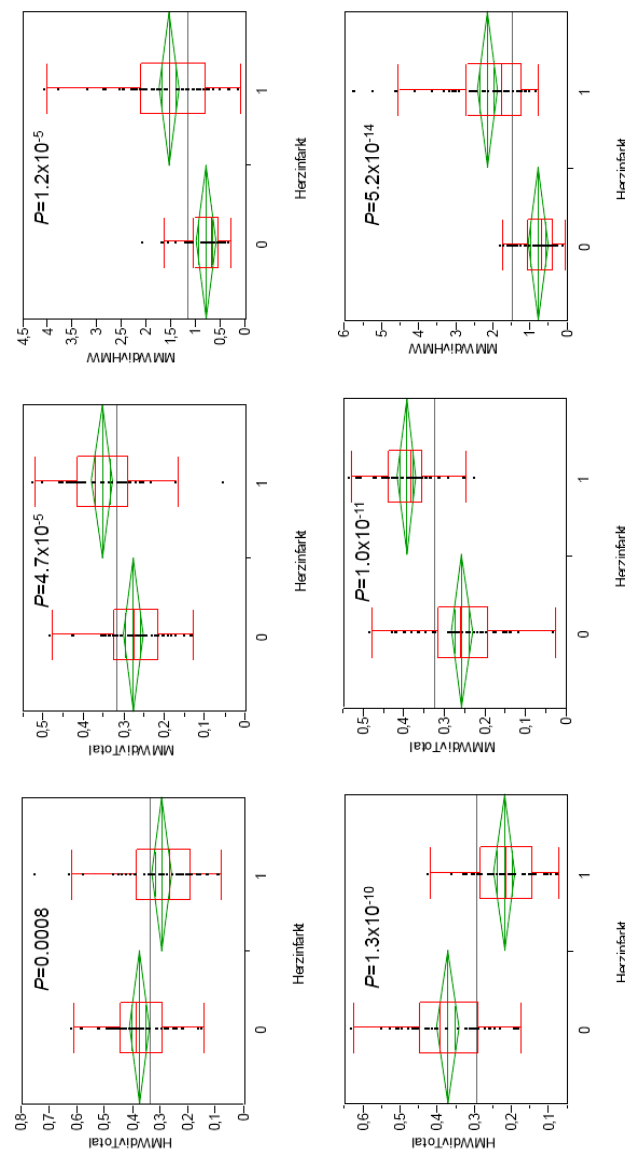


Abbildung 23: Darstellung der Verhältnisse von HMW-Adiponektin zu Gesamtadiponektin und MMW- und HMW-Adiponektin in Abhängigkeit von Adipositas und einem Myokardinfarkt. 0 = kein Myokardinfarkt. 1 = Myokardinfarkt. Oben: Normalgewichtige. Unten: Adipöse.

3.2.7 Untersuchung der Verteilung der Werte der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio

Wie bereits beschrieben wurde, hatte sich in den bisherigen Untersuchungen gezeigt, dass Herzinfarktpatienten eine deutlich höhere MMW-HMW-Adiponektin-Ratio im Plasma aufweisen als Patienten ohne KHK. Im Folgenden wurde nun die Verteilung der Werte dieser Ratio in Tertile eingeteilt. Es zeigte sich, dass sich unter denjenigen Individuen, deren MMW-HMW-Adiponektin-Ratio kleiner als 0.78 (Tertil 1) ist, lediglich 15% Patienten mit Herzinfarkt befanden. Liegt der Wert der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio zwischen 0.78 und 1.5 (Tertil 2), fanden sich hier 46.7% Herzinfarktpatienten. In der Gruppe derjenigen, deren MMW-HMW-Adiponektin-Ratio über dem Wert von 1.5 liegt (Tertil 3), finden sich 88.3% Herzinfarktpatienten.

Der Zusammenhang zwischen ansteigenden MMW-HMW-Tertilen und dem proportionalen Anteil an Herzinfarktpatienten war hochsignifikant (Abb. 24).

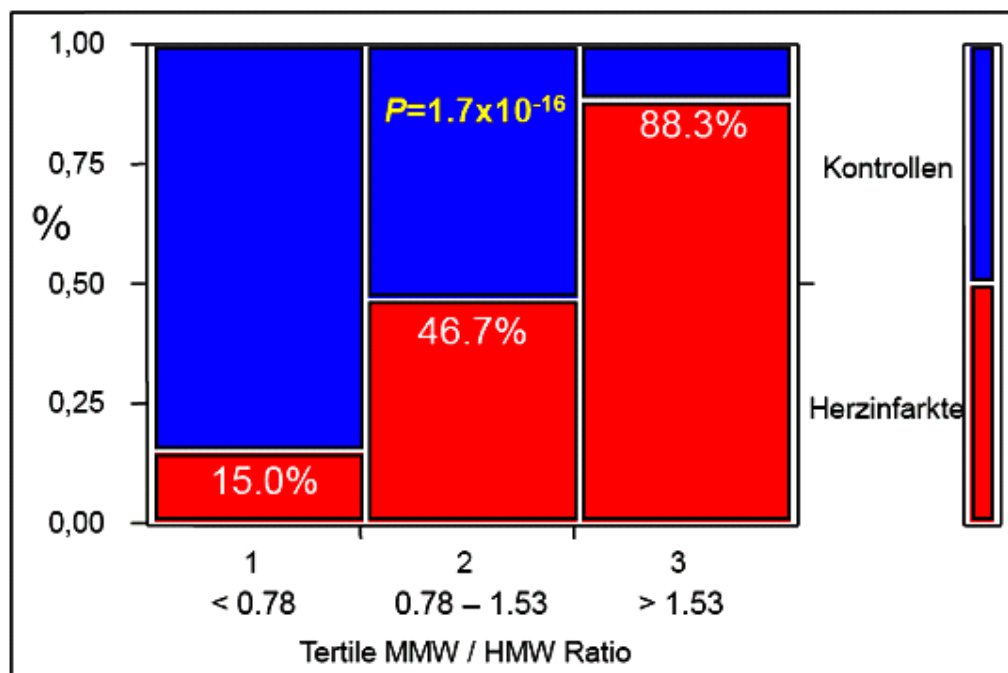


Abbildung 24: Mosaikplot von Herzinfarktpatienten und Kontrollen in Abhängigkeit von Tertilen der MMW-HMW-Adiponektin-Verteilung.

3.2.8 Multivariate Analyse

Um eventuelle Korrelationen der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio mit anderen Risikofaktoren für die Entwicklung eines Herzinfarktes, wie arterieller Hypertonie, Hypercholesterinämie etc. ausfindig zu machen, wurde eine multivariate Analyse mit zwei verschiedenen Modellen angeschlossen. Auch bei Adjustierung für andere Confounding Variablen bleibt der signifikante Zusammenhang zwischen der MMW-HMW-Ratio und dem Auftreten eines Herzinfarktes in zwei verschiedenen Modellen bestehen.

Die Ergebnisse dieser Analysen sind in den Tabellen 6 und 7 dargestellt.

Tabelle 6: Ergebnisse der multivariaten Analyse: Model 1.

Term	Estimate	StdError	ChiSquare	Prob>ChiSq
Intercept	13,72	3,76	13,31	0,0003
NQMMWdivHMW	-1,55	0,29	27,74	0,0001
Adipositas (0)	-0,28	0,24	1,45	0,2290
AGE	-0,09	0,03	9,48	0,0021
MAP	-0,004	0,02	0,06	0,8048
LDL	-0,006	0,005	1,14	0,2852
A1C	-1,35	0,60	5,01	0,0252
CURRSMK	-0,68	0,27	6,13	0,0133

NQMMWdivHMW, Verhältnis MMW/HMW-Adiponektin; Age, Alter; MAP, Mittlerer arterieller Blutdruck; LDL, LDL-Cholesterin; A1C, HbA1c; CURRSMK, current smoker, aktuelle Raucher.

Tabelle 7: Ergebnisse der multivariaten Analyse: Model 2.

Term	Estimate	StdError	ChiSquare	Prob>ChiSq
Intercept	3,84	5,16	0,55	0,4565
NQMMWdivHMW	-1,35	0,37	13,08	0,0003
Adipositas (0)	-0,49	0,35	1,96	0,1620
AGE	-0,08	0,04	3,52	0,0606
A1C	0,04	0,95	0,00	0,9628
CURRSMK (0)	-0,59	0,39	2,28	0,1308
CSE (0)	1,25	0,38	10,58	0,0011
ANTIHYP (0)	1,34	0,34	15,25	0,0001

NQMMWdivHMW, Verhältnis MMW/HMW-Adiponektin; Age, Alter; MAP, Mittlerer arterieller Blutdruck; LDL, LDL-Cholesterin; A1C, HbA1c; CURRSMK, current smoker, aktuelle Raucher; CSE, Statintherapie; ANTIHYP, antihypertensive Therapie.

3.2.9 Zusammenfassung der Ergebnisse der retrospektiven Fall-Kontroll-Studie

Fasst man die oben dargestellten Analysen zusammen, so fällt auf, dass bei den adipösen Patienten stets sowohl Gesamtadiponektin als auch alle Adiponektin-Multimere, HMW-, MMW- und LMW-Adiponektin, niedrigere Werte aufweisen als bei normalgewichtigen Individuen. Des Weiteren lässt sich feststellen, dass sich bei allen Herzinfarktpatienten der Anteil der Adiponektin-Multimere zu Gunsten des MMW-Adiponektins und zu Ungunsten des HMW-Adiponektins verschiebt. Diese Verschiebung ist sowohl bei Normalgewichtigen als auch bei Adipösen festzustellen. Im Gegensatz dazu fand sich kein Zusammenhang zwischen dem Gesamtadiponektin und dem Auftreten eines Herzinfarktes. Die verschiedenen Verhältnisse betreffend ist letztlich besonders hervorzuheben, dass eine steigende MMW-HMW-Adiponektin-Ratio deutlich mit dem Vorhandensein eines Herzinfarktes assoziiert ist.

Bei der Zusammenschau dieser Ergebnisse stellt sich die Frage, ob die MMW-HMW-Adiponektin-Ratio im Plasma einen potentiellen Prädiktor für inzidente Herzinfarkte darstellt und die Rolle eines Biomarkers erfüllt. Mit dem Ziel dies zu untersuchen, schloss sich der retrospektiven Fall-Kontroll-Studie eine prospektive genestete Fall-Kontroll-Studie an.

3.3 Ergebnisse der prospektiven genesteten Fall-Kontroll-Studie

Für die prospektive genestete Fall-Kontroll-Studie wurden Untersuchungen an der Population 2 (n=56 Fälle und n=112 Kontrollen, siehe auch Kapitel Methoden) durchgeführt.

Um die Frage zu beantworten, ob die MMW-HMW-Adiponektin-Ratio als Biomarker für inzidente Herzinfarkte dienen könnte, wurde die Assoziation der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio mit dem Fall-Kontroll-Status der Studienteilnehmer in der Population 2 analysiert.

3.3.1 Untersuchung der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio bei Fällen und Kontrollen

Zunächst wurden die MMW-HMW-Adiponektin-Ratio im Plasma der Fälle und der Kontrollen bestimmt. Wie Abbildung 25 zeigt, fanden sich bei den Fällen signifikant höhere Werte der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio als bei den Kontrollen ($p=0,034$) (Abb. 25).

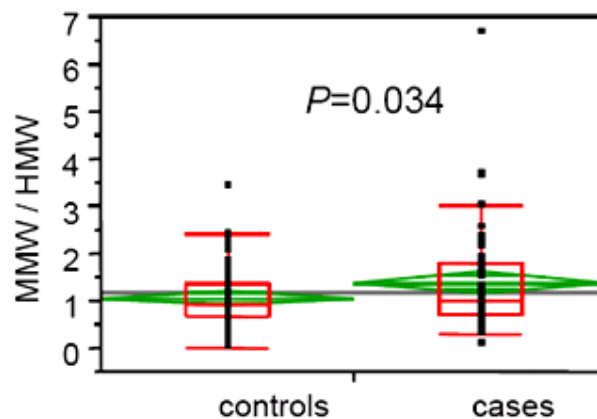


Abbildung 25: Gegenüberstellung der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio von Fällen und Kontrollen.

3.3.2 Untersuchung des Herzinfarktrisikos in Abhängigkeit der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio

Dem schloss sich die Untersuchung des relativen Risikos einen Herzinfarkt in Abhängigkeit der MMW-HMW-Adiponektin-Tertile zu entwickeln an. Es zeigte sich, eine deutliche Abhängigkeit des Risikos von der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio. MMW-HMW-Adiponektin Ratiowerte von über 1.5 zeigten Assoziation zu einer deutlichen Risikosteigerung (Abb. 26).

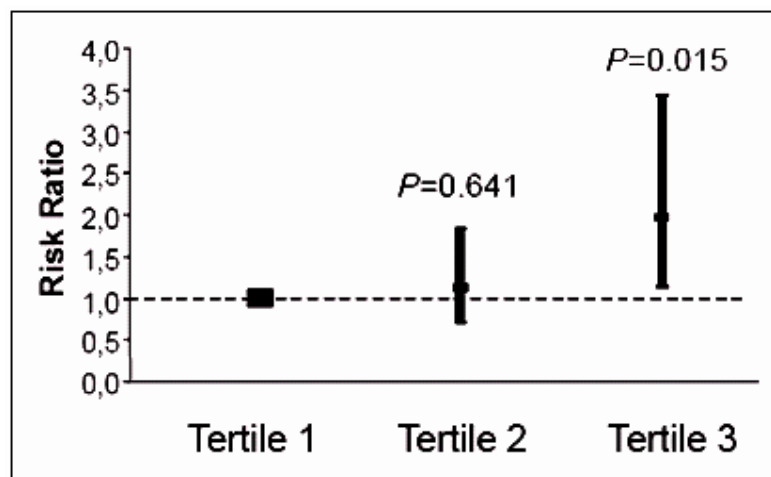


Abbildung 26: Darstellung der Risikowahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Myokardinfarktes in Abhängigkeit von den MMW-HMW-Adiponektin-Ratio-Werten.

In einem multivariaten Analysemodell zeigte sich zudem, dass die Zeit bis zum Eintreffen des Ereignisses einen signifikanten Einfluss hat (Tab. 8).

Tabelle 8: Statistischer Zusammenhang zwischen Zeitpunkt bis zum Auftreten eines Herzinfarktes und den MMW-HMW-Adiponektin-Tertilen.

Source	Nparm	DF	L-R ChiSquare	Prob>ChiSq
N-Quantile MMWdivHMW	1	1	5,55908197	0,0184
Zeit	1	1	62,8260588	0,0001

N-Quantile MMWdivHMW, Verhältnis MMW/HMW-Adiponektin

3.3.3 Untersuchung der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio als Prädiktor für fatale oder nicht fatale Herzinfarkte in Abhängigkeit der Zeit

Bisher wurde deutlich, dass Patienten, die einen Herzinfarkt entwickelt haben, eine deutlich höhere MMW-HMW- Adiponektin-Ratio aufweisen als die Kontrollen. Um das Ausmaß der Prädiktivität dieses Wertes näher zu bestimmen, wurde das Risiko einen fatalen oder nicht-fatalen Herzinfarkt zu erleiden, in Abhängigkeit der Zeit zwischen Ausgangsuntersuchung (Blutentnahme und Bestimmung der Adiponektine) und dem Ereigniszeitpunkt des inzidenten Herzinfarktes untersucht.

Die MMW-HMW-Adiponektin-Werte erwiesen sich bis zu fünf Jahre vor dem Ereignis eines Herzinfarktes als prädiktiv. Zudem zeigte sich, dass die Prädiktivität umso höher war, je näher das Ereignis des Herzinfarktes an dem Zeitpunkt der Blutentnahme gelegen war (Abb. 27).

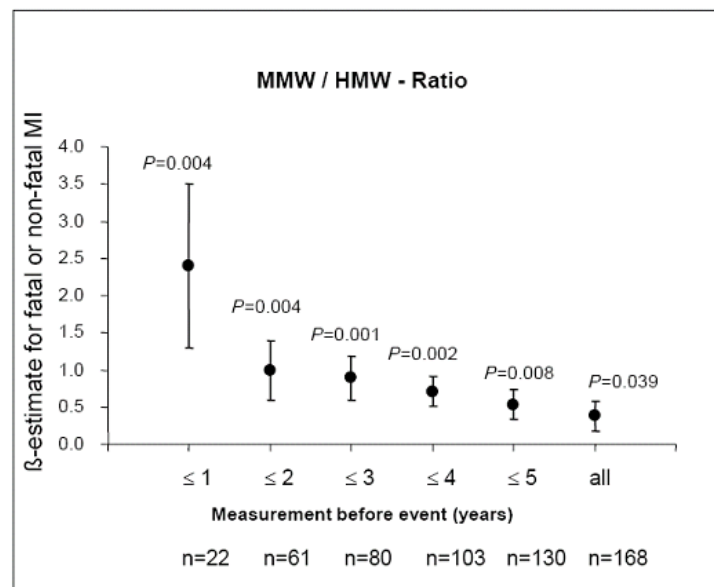


Abbildung 27: MMW-HMW-Adiponektin-Ratio und Risiko des Auftretens eines fatalen bzw. nicht fatalen Myokardinfarktes in Abhängigkeit der Zeit.

3.3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse der prospektiven genesteten Fall-Kontroll-Studie

Betrachtet man die Ergebnisse aller oben beschriebenen Analysen zusammenfassend, so lässt sich feststellen, dass die MMW-HMW-Adiponektin-Ratio unabhängig von Alter und BMI einen prospektiven Prädiktor für inzidente fatale und nicht-fatale Herzinfarkte bei initial asymptomatischen männlichen Geschwistern von KHK-Patienten darstellt. Es wird zudem deutlich, dass MMW-HMW-Werte mindestens fünf Jahre vor dem Auftreten eines Herzinfarktes prädiktiv sind.

4.Diskussion

4.1. Adiponektin und Adipositas

In der an adipösen ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$), männlichen Nicht-Diabetikern und normalgewichtigen ($18 \text{ kg/m}^2 \leq \text{BMI} \leq 25 \text{ kg/m}^2$) männlichen Nicht-Diabetikern durchgeführten retrospektiven Fall-Kontroll-Studie, ist festzustellen, dass die Quantität aller Adiponektin-Multimere, HMW-, MMW- und LMW-Adiponektin und damit auch die Werte für Gesamtadiponektin, im Plasma der adipösen Probanden signifikant niedrigere Werte aufweisen, als im Plasma der normalgewichtigen Patienten.

Es ist bereits bekannt, dass der Adiponektinplasmaspiegel, im Gegensatz zu dem aller anderer Adipozytokine, bei Gewichtszunahme abfällt (45;46). Es besteht eine negative Korrelation zwischen der Höhe des Gesamtadiponektinspiegels und dem Body-Mass-Index (53).

In dieser Arbeit konnte jedoch erstmals gezeigt werden, dass der Abfall des Gesamtadiponektinspiegels auf einem Abfall der Quantität aller drei Adiponektin-Isoformen im Plasma beruht. Diese Veränderungen stimmen mit den Ergebnissen der klinischen Studie von KASER ET AL. überein, die ebenfalls einen Abfall der Gesamtadiponektinwerte bei Adipösen ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$) beobachten, diesen aber maßgeblich auf den Abfall der Plasmakonzentration von HMW-Adiponektin zurückführen, da LMW- und MMW-Adiponektin nur geringfügige Konzentrationsverminderungen aufweisen. Kritisch ist aber anzumerken, dass in der Studie von KASER ET AL. Männer und Frauen nicht getrennt untersucht wurden (163). Da die Werte aller Adiponektin-Isoformen bei Frauen deutlich höher liegen als bei Männern, können die geringfügigen Veränderungen von MMW- und LMW-Adiponektin der Probanden mit $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$ in der Studie von KASER ET AL. möglicherweise auf das Studienkollektiv zurückzuführen sein.

Betrachtet man die verschiedenen physiologischen Wirkungen der drei Adiponektin-Multimere, so ist es gut verständlich, warum man im Plasma von Adipösen eine verminderte Adiponektinkonzentration findet. Genetische, klinische und experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass die drei Isoformen des Adiponektins unterschiedliche biologische Aktivität besitzen und präferenziell an unterschiedlichen Zielorganen wirken. Während HMW-Adiponektin die biologisch aktivste Form darstellt

und vor allem in der Peripherie wirkt, vermitteln MMW- und LMW-Adiponektin die zentralen Effekte.

In der Peripherie verhindert HMW-Adiponektin die Lipidakkumulation in Form von abdominellem Fettgewebe und steigert die Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur. Außerdem hemmt es die Glukoneogenese und die Lipidspeicherung in der Leber. Nicht zuletzt bewirkt HMW-Adiponektin auch eine hohe basale Lipidoxidation und die Erhaltung, eines aus kardiovaskulärer Sicht günstigen Lipidprofils, gekennzeichnet durch eine hohe Konzentration von HDL-Cholesterin und wenig artherogenem LDL-Cholesterin (164).

In einem adipösen Organismus findet man typischerweise vermehrt abdominelles Fettgewebe, eine verminderte Glukoseaufnahme in der Peripherie, gesteigerte Glukosespiegel im Plasma, gesteigerte Glukoneogenese in der Leber, erhöhte Lipidakkumulation in Skelettmuskulatur und Leber sowie nicht zuletzt, ein ungünstiges Lipidprofil, gekennzeichnet durch hohe small-dense-LDL-Cholesterin- und niedrige HDL-Cholesterin-Konzentrationen.

Verdeutlicht man sich also die physiologische Wirkung von HMW-Adiponektin sowie die metabolischen Störungen, die in einem adipösen Organismus auftreten und welche absolut durch die mangelnde Aktivität von HMW-Adiponektin zu erklären sind, so ist es verständlich, dass im Plasma von adipösen Patienten ein signifikant erniedrigter HMW-Adiponektinspiegel gefunden wird. Die reduzierte Quantität von HMW-Adiponektin ist möglicherweise auf eine verminderte Sekretion desselben zurückzuführen.

Adiponektin-Multimere werden mindestens auf zwei unterschiedlichen Wegen sezerniert. So wurde kürzlich festgestellt, dass vor allem die Sekretion von HMW-Adiponektin streng mittels zweier Chaperone, Er-Protein-of-44-kDA (ERp44) und Ero1-L α , im endoplasmatischen Retikulum reguliert wird.

Durch Pulse-chase-Versuche mit S-Methionin und S-Cystein von SCHERER ET AL., wurde festgestellt, dass ein signifikanter Teil des de-novo synthetisierten Hormones nicht sezerniert wird, sondern in den Adipozyten zurückgehalten wird. Wurden die Adipozyten aber mit reduzierenden Reagenzien wie 2-Mercaptoethanol behandelt, so kam es zu einem sieben- bis achtfachen Anstieg der Adiponektinsekretion. Dies spricht dafür, dass Adiponektin über eine Thiolverbindung in den Zellen zurückgehalten wird (165). Vermittelt wird diese Retention in den Adipozyten über eine kovalente Bindung zwischen Adiponektin und dem am endoplasmatischen Retikulum

sitzenden ERp44 (166;167). Kommt es zu einer Überexpression von Erp44, so wird die Sekretion von HMW-Adiponektin verhindert. ERp44 verlängert also die Dauer des intrazellulären Aufenthalts von Adiponektin und erhöht somit die Möglichkeit zur Bildung höherer oligomerer Komplexe, wie dem HMW-Adiponektin.

Im Gegensatz dazu steigert das zweite Chaperon, Ero1-L α , selektiv die Sekretion von HMW-Adiponektin. Eine Downregulation der Expression von Ero1-L α vermindert die Freisetzung dieses Adiponektinmultimers. Zusätzlich kommt es im Falle einer Koexpression von ERp44 und Ero1-L α zu einer Auflösung der kovalenten Bindung zwischen ERp44 und Adiponektin. Ero1-L α kann also auch die von ERp44 gebundenen oligomeren Passagierproteine wie HMW-Adiponektin freisetzen (165).

Es wird deutlich, dass sowohl die Maturation von Adiponektin zu HMW-Adiponektin als auch dessen Sekretion streng über die Wechselwirkung der beiden Chaperone reguliert wird. Die Überlegung, dass der reduzierte Plasmaspiegel von HMW-Adiponektin auf eine im Rahmen der pathophysiologischen Veränderungen der Adipositas beeinträchtigte Sekretion zurückzuführen sein könnte, wird durch die Tatsache unterstützt, dass in ob/ob-Mäusen eine verminderte Expression von ERp44 und Ero1-L α mit einer reduzierten Quantität an zirkulierendem HMW-Adiponektin verbunden ist (168). Andererseits könnten auch genetische Mutationen eine Rolle spielen, die eine Ausbildung von HMW-Adiponektin gänzlich verhindern (22).

In dieser Arbeit wurde nun erstmals gezeigt, dass auch die Quantität von MMW- und LMW-Adiponektin im Plasma von Adipösen signifikant reduziert ist. Hierbei vermitteln MMW- und LMW-Adiponektin im Gegensatz zu HMW-Adiponektin ihre Wirkung vor allem zentral. Im zerebrospinalen Liquor können nur diese beiden Adiponektin-subfraktionen gefunden werden. Man nimmt an, dass HMW-Adiponektin auf Grund seiner Größe von über 500 Kilo Dalton die Bluthirnschranke nicht passieren kann (169-171). Bekannt ist weiterhin, dass MMW- und LMW-Adiponektin im Hypothalamus an ADIPOR1-Rezeptoren binden und sowohl zu gesteigerter Nahrungsaufnahme als auch zu vermindertem Energieverbrauch führen (169). Hierdurch kommt es zu Gewichtszunahme und damit zur Entwicklung oder auch Aggravation einer bereits bestehenden Adipositas. Möglicherweise ist der erniedrigte Spiegel von MMW- und LMW-Adiponektin im Plasma von Adipösen nicht auf eine verminderte Sekretion, wie im Fall von HMW-Adiponektin, sondern auf eine

Abwanderung dieser beiden Multimere aus dem Plasma, über die Bluthirnschranke hin zu ihren zentralen Zielorganen wie dem Hypothalamus zurückzuführen.

Diese Hypothese wird unterstützt durch Versuche an ob/ob - Mäusen, bei denen man im Liquor signifikant höhere MMW- und LMW- Adiponektin-Spiegel finden konnte als bei normalgewichtigen Kontrolltieren (169).

Zusammenfassend ist also festzustellen, dass die pathophysiologischen Veränderungen, die im Rahmen der Adipositas auftreten, auch durch den in der hier vorgestellten Arbeit gemessenen Abfall der Plasmakonzentration der drei Adiponektin-Multimere zu erklären sind.

4.2. Adiponektin und Myokardinfarkt

4.2.1 Veränderte Quantität von Gesamtadiponektin und Adiponektin-Multimeren sowie Alteration der Verhältnisse von Gesamtadiponektin zu Adiponektin-Multimeren und des Verhältnisses von MMW- zu HMW-Adiponektin im Plasma von Herzinfarkt-Patienten

Bis vor einigen Jahren war die These, dass ein geringer Gehalt an Adiponektin im Plasma die Entwicklung von Arteriosklerose und deren Folgen wie KHK begünstige beziehungsweise beschleunige, weitverbreitet. Allerdings traten Studienergebnisse auf, die diese These eindeutig in Frage stellten. So konnte beispielsweise sowohl im Rahmen einer prospektiven Studie an Frauen als auch einer prospektiven Studie an Männern, kein Zusammenhang zwischen der Höhe des Adiponektinspiegels im Plasma der Studienteilnehmer und dem Auftreten von KHK festgestellt werden (159;160).

In der hier vorgestellten retrospektiven Fall-Kontroll-Studie konnte nachgewiesen werden, dass sich die Gesamtadiponektinspiegel im Plasma der Herzinfarktpatienten und der Kontrollpatienten nicht unterscheiden. Ebenso zeigte sich außerdem keinerlei Differenz in der Höhe des LMW-Adiponektin-Anteils im Plasma der Herzinfarktpatienten und der Kontrollen. Zusätzlich ist aber zu beobachten, dass sich der Anteil der HMW-Adiponektin-Multimere im Plasma der Patienten mit stattgehabtem Herzinfarkt zu Gunsten des MMW-Adiponektin-Anteils verschiebt. Diese

Verschiebung ist sowohl im Plasma der adipösen als auch der normalgewichtigen Herzinfarktpatienten zu beobachten.

Da die Höhe des LMW-Adiponektin-Anteils unverändert bleibt, der Anteil an HMW-Adiponektin deutlich abnimmt, dafür aber derjenige an MMW-Adiponektin ansteigt, ist es nachvollziehbar, warum sich der Gesamtadiponektinspiegel der Herzinfarktpatienten nicht von jenem der Kontrollen unterscheidet. Weitere Untersuchungen im Rahmen der hier vorgestellten retrospektiven Fall-Kontroll-Studie zeigen erstmalig, dass es im Plasma von Herzinfarktpatienten zudem zu einer Veränderung der Verhältnisse zwischen den Adiponektin-Multimeren und Gesamtadiponektin sowie der Verhältnisse zwischen den einzelnen Adiponektin-Multimeren kommt. Während das Verhältnis von MMW- zu Gesamtadiponektin deutlich höhere Werte aufweist, findet sich im Gegensatz dazu ein signifikant erniedrigtes HMW- zu Gesamtadiponektinverhältnis im Plasma von Herzinfarktpatienten im Vergleich zu den Kontrollpatienten. Zudem konnte zum ersten Mal festgestellt werden, dass eine erhöhte MMW-HMW-Adiponektin-Ratio mit dem Auftreten eines Herzinfarktes assoziiert ist.

Bedenkt man die Tatsache, dass sich die Höhe des Gesamtadiponektins im Plasma von Herzinfarktpatienten nicht von jener der Kontrollen unterscheidet, und dass aber im Plasma von Herzinfarktpatienten eine Verschiebung der Quantität der Adiponektin-Multimere von HMW- zu MMW-Adiponektin erfolgt, so ist nachzuvollziehen, warum sich auch die Verhältnisse zwischen den beiden Multimeren und Gesamtadiponektin verändern. Bei gleichbleibendem Gesamtadiponektinspiegel führt ein Anstieg von MMW-Adiponektin zu einem Anstieg des Verhältnisses zwischen MMW- und Gesamtadiponektin. Ein Abfall von HMW-Adiponektin bedingt im Gegensatz dazu, bei einem sich nicht verändernden Gesamtadiponektinspiegel, eine Verminderung des Verhältnisses von HMW- zu Gesamtadiponektin. Erhöht sich also im Plasma von Herzinfarktpatienten das Verhältnis von MMW- zu Gesamtadiponektin und erniedrigt sich jenes von HMW- zu Gesamtadiponektin, so ist folglich die MMW-HMW-Ratio im Plasma von Herzinfarktpatienten erhöht.

Diese Messungen und Überlegungen bestätigend, haben VON EYNATTEN ET AL. bereits im Rahmen einer klinischen Studie an an KHK leidenden Männern, im Rahmen derer die Adiponektinmultimere ebenfalls mittels eines ELISAs quantifiziert wurden, eine inverse Korrelation zwischen der Höhe des HMW- zu Gesamt-

adiponektinverhältnisses und dem Ausmaß der KHK beschrieben (172). Des Weiteren konnten TSUSHIMA ET AL. einen negativen Zusammenhang zwischen einer erhöhten HMW-Gesamtadiponektin-Ratio und dem Fortschreiten der Entwicklung arteriosklerotischer Plaques in der Arteria carotis communis feststellen (173).

Ob Adiponektin kardioprotektiv wirkt, liegt also nicht allein an der Höhe des Gesamtadiponektin-Plasmaspiegels, sondern vielmehr in der Verteilung der einzelnen Adiponektin-Multimere und an deren Verhältnis zueinander. So ist HMW-Adiponektin als die biologisch aktivste Form des Adiponektins bekannt. Wie bereits in 4.1 beschrieben, entfaltet es seine Wirkungen vor allem in der Körperperipherie: In der Leber, der Skelettmuskulatur und nicht zuletzt im kardiovaskulären System.

Zwar vermitteln auch MMW- und LMW-Adiponektin positive Effekte am Endothel, wie die Stimulierung der NO-Produktion und Verminderung von oxidativem Stress durch Hemmung der NADPH-Oxidase, doch den Großteil der schützenden Wirkungen im kardiovaskulären System erzeugt HMW-Adiponektin. Hierzu gehören vor allem der Schutz endothelialer Zellen vor Apoptose, die Hemmung der Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen und Intimaverdickung, die Verhinderung der Transformation von Makrophagen in Schaumzellen und die Hemmung der Thrombozytenaktivierung und -aggregation (97;99;102;108;122). Fehlen diese, das Gefäßsystem maßgeblich vor der Entwicklung von Arteriosklerose schützenden Effekte von HMW-Adiponektin, ist das Risiko für die Entwicklung einer koronaren Herzerkrankung sowie eines Myokardinfarktes erhöht. Aus pathophysiologischer Sicht ist es folglich sehr gut nachvollziehbar, dass im Plasma von Herzinfarktpatienten signifikant erniedrigte HMW-Adiponektinwerte gefunden werden. Diese These wird unterstützt durch die bereits erwähnten Ergebnisse der Untersuchung von VON EYNATTEN ET AL. die eine signifikante inverse Korrelation zwischen der Quantität von HMW-Adiponektin im Plasma der untersuchten Patienten und dem Ausmaß von KHK festgestellt hat (172). Offen bleibt allerdings die Frage, warum es im Plasma von Herzinfarktpatienten zu einer Verschiebung von HMW-Adiponektin zu Gunsten von MMW-Adiponektin kommt. Bedenkt man die oben beschriebenen protektiven Wirkungen von HMW-Adiponektin im kardiovaskulären System, so liegt die Überlegung nahe, dass in einem an Arteriosklerose beziehungsweise an KHK leidenden Organismus prinzipiell ein erhöhter Bedarf an HMW-Adiponektin besteht.

Adipozyten und eventuell auch andere Gewebe tendieren also möglicherweise im Organismus von an KHK erkrankten Patienten dazu, vermehrt HMW-Adiponektin zu produzieren. Diese Theorie wird durch die Tatsache unterstützt, dass in arteriosklerotischen Läsionen eine gesteigerte Expression von ADIPOR1- und ADIPOR2-Rezeptoren gefunden werden kann (174). Eine möglicherweise erhöhte Produktionsrate wäre auch mit einer verminderten intrazellulären Verweilzeit Adiponektins verbunden.

Die Entstehung der hochmolekularen Struktur von HMW-Adiponektin ist aber abhängig von einer ausreichenden Verweildauer am endoplasmatischen Retikulum und damit einer ausreichenden posttranslationalen Modifikation (PTM). Im Rahmen einer gesteigerten Produktion, verbunden mit einer schnelleren Sekretion, könnte die intrazelluläre Verweildauer dermaßen verkürzt sein, dass sich aufgrund der eingeschränkten PTM vermehrt Hexamere, also MMW-Adiponektin, anstelle von 18-meren, HMW-Adiponektin, bilden. Dies würde die Verschiebung der Adiponektin-Multimere zu Gunsten des MMW-Adiponektins erklären.

Die genaue Struktur von HMW-Adiponektin ist bis heute nicht bekannt. Man weiß, dass es wahrscheinlich aus sechs Trimeren besteht und seine Struktur jener von C1q sehr ähnlich ist. MMW-Adiponektin hingegen besteht aus zwei Trimeren, die über eine Disulfid Doppelbindung zwischen den Cysteinresten an Position 36 ein Hexamer bilden (20;21;23).

Wie bereits erwähnt, sind sehr komplexe PTM notwendig, um die Faltung des Proteins zu ermöglichen. Zu diesen PTM zählen die Ausbildung der Disulfidbrücke sowie die Hydroxylierungen und Glykosylierungen mehrerer Prolin- und Lysinreste, maßgeblich in der kollagenen Domäne des Proteins (28;175;176). Diese Modifikationen werden von mehreren Proteinen vermittelt. Ero1- α beispielsweise koordiniert nicht nur die Sekretion von Adiponektin, sondern kann als Oxidoreduktase auch Disulfidbindungen erzeugen. Es überträgt diese dann an die Protein-Disulfid-Isomerase, welche anschließend die Ausbildung der Disulfidbrücke im Adiponektin katalysiert (167). Die posttranslationalen Glykosylierungen und Hydroxylierungen werden unter anderem von der Lysylhydroxylase-3 vorgenommen, die sowohl Hydroxylase- als auch Glucosyltransferaseaktivität besitzt (177).

Möglicherweise kommt es bei KHK-Patienten zu Fehlregulationen eines oder mehrerer dieser Enzyme und damit zu einer beeinträchtigten PTM, welche die Ausbildung der hochmolekularen HMW-Adiponektin-Struktur verhindert und zu einem

erhöhten Anfallen von MMW-Adiponektin führt. Von Ero1-L α ist bereits bekannt, dass seine Expression unter verschiedenen pathologischen Bedingungen mit einer veränderten Verteilung der Adiponektin-Oligomere assoziiert ist (165).

Ebenfalls denkbar ist das Auftreten von Single Nucleotide Polymorphismen in den Genen eines oder mehrerer dieser Enzyme, welche eine beeinträchtigte Aktivität oder eine verminderte Expression dieser Enzyme verursachen. Die Entdeckung des disulfid-bond-A-oxidoreductase-like-Proteins, DsbA-L, erweiterte das Verständnis der Adiponektinbiosynthese. Es handelt sich hierbei um ein Protein, das zwei thio-reduzierende Domänen enthält und maßgeblich an der Adiponektinmaturation beteiligt ist. Eine Überexpression dieses Proteins führt zu einer deutlich gesteigerten Multimerisierung von Adiponektin, wohingegen eine Suppression von DsbA-L diese behindert. Interessanterweise wird die Expression von DsbA-L und folglich die Adiponektin-Multimerisierung unter anderem durch proinflammatorische Zytokine wie TNF- α gehemmt (178). Chronische Veränderungen im Gefäßbett, wie Arteriosklerose und KHK, sind bekannter Weise verbunden mit entzündlichen Vorgängen im Endothel und folglich auch mit einer erhöhten Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, wie eben beispielsweise TNF- α . Die in der hier vorgestellten Studie untersuchten Herzinfarktpatienten litten alle an einer KHK. Möglicherweise führten chronische Erhöhungen von proinflammatorischen Zytokinen über eine verminderte Expression von DsbA-L zu einer gestörten Adiponektinmaturation und damit zu verminderter Ausbildung von HMW-Adiponektin und gesteigerter Bildung von MMW-Adiponektin.

Zusätzlich zu den bereits genannten posttranslationalen Veränderungen und Enzymwirkungen, die zur Ausbildung der HMW-Adiponektinstruktur nötig sind, hat sich die Anwesenheit von Calcium als entscheidender Faktor bei der Entwicklung dieser komplexen Struktur herausgestellt. Calcium fördert die Ausbildung von HMW-Adiponektin, während Calciummangel zu einer Verminderung des HMW-Adiponektins führt. Es wurde ein deutlicher Unterschied in der Verteilung der Adiponektin-Multimere in mit EDTA behandeltem humanen Plasma und nicht mit EDTA behandeltem humanen Serum gefunden. Die durch EDTA bedingte Sequestration von freiem Calcium führte zu einer Dissoziation des HMW-Adiponektins. Adiponektin aus humanem Fettgewebe, das mit EDTA behandelt wurde, wies einen Abfall des HMW-Anteils um 61%, verbunden mit einem deutlichen

Anstieg des LMW- und MMW-Anteils, auf (179). Es muss deutlich gemacht werden, dass hier von einer Dissoziation der HMW-Adiponektin-Oligomere die Rede ist. Da HMW-Adiponektin sowohl als 18-mere als auch in noch größeren Komplexen bis hin zu 30-meren im Plasma vertreten ist, ist es möglich, dass in Abwesenheit von Calcium 30-mere dissoziieren bis hin zu 18-meren.

Im Rahmen dieser Experimente wurde zur Quantifizierung der Adiponektin-Multimere ein ELISA verwendet. Dieser ELISA erlaubt eine Bestimmung aller drei Adiponektin-Multimere, LMW-, MMW- und HMW-Adiponektin. HMW-Adiponektin-Multimere werden detektiert, unabhängig von ihrer tatsächlichen Größe. Sollte also tatsächlich durch die Vorbehandlung des Plasmas mit EDTA ein Calciummangel aufgetreten sein, der zu einer Dissoziation der größeren HMW-Oligomere geführt hat, so wurden auch diese Oligomere mittels des ELISAs in ihrer dissoziierten Form erfasst.

Die Ursache für die Verschiebung der Adiponektin-Multimer-Anteile zu Gunsten von MMW-Adiponektin im Plasma von Herzinfarktpatienten kann jedoch durchaus auch in einer gestörten Sekretion der Multimere liegen. HMW-Adiponektin, MMW- und LMW-Adiponektin unterliegen allem Anschein nach, wie bereits in 4.1 erwähnt, mindestens zwei unterschiedlichen, bisher nicht vollständig verstandenen Sekretionsmechanismen. So konnte Adiponektin beispielsweise immunfluoreszenzmikroskopisch in zwei verschiedenen Zellkompartimenten lokalisiert werden. Die Sekretion von HMW-Adiponektin wird vor allem über ein Wechselwirken der beiden Chaperone Ero1- α und ErP44 reguliert. Es ist bereits bekannt, dass verschiedene pathologische Veränderungen sowohl mit einer Beeinflussung der Expression dieser beiden Chaperone als auch einer Veränderung der Adiponektinoligomerverteilung einhergehen; eventuell so auch chronische Gefäßerkrankungen und Herzinfarkt (165).

Ebenso ist GGA1 an der Regulation der Adiponektinsekretion beteiligt. Eine Überexpression von GGA1 ist mit einer deutlichen Reduktion der Adiponektinfreisetzung assoziiert (35). Möglicherweise ist GGA1 nur an der Sekretion von HMW-Adiponektin, nicht aber an jener von MMW- und LMW-Adiponektin beteiligt. Eine durch pathologische Veränderungen oder Single Nucleotid Polymorphismen bedingte Überexpression würde folglich nur eine Unterdrückung der HMW-Adiponektinsekretion nach sich ziehen, wohingegen die MMW-Adiponektin-

Freisetzung, die einem anderen Sekretionsweg unterliegen soll, nicht beeinflusst würde.

Wie bereits eingangs erwähnt, findet sich in arteriosklerotischen Läsionen sowohl eine erhöhte Expression von ADIPOR1 als auch von ADIPOR2 (174). Adiponektin vermittelt seine Wirkungen bekannter Weise über diese beiden Rezeptoren. Abgesehen von diesen beiden gibt es aber noch ein drittes Adiponektin- bindendes- Protein, T-Cadherin. T-Cadherin ist ein glykosylphosphatidylinositol-verankertes extrazelluläres Protein, das neben der Skelettmuskulatur und dem Nervensystem vor allem im kardiovaskulären System exprimiert wird. Es bindet speziell die HMW-Form des Adiponektins. Mangels einer intrazellulären Domäne, scheint T-Cadherin aber keinerlei Effekt auf die zelluläre Signaltransduktion zu haben (83;180). Die Rolle T-Cadherins als dritter Adiponektin-Rezeptor ist also fraglich. Möglicherweise stellt T-Cadherin eine Art von vor allem HMW-Adiponektin-bindendem Transportprotein dar. Eine erhöhte Expression von T-Cadherin in Herzinfarktpatienten könnte durchaus zu einer Verminderung des Anteils an freiem und damit mit Hilfe des ELISAs detektierbaren HMW-Adiponektins im Plasma beitragen.

Der Großteil an Adiponektin wird von Fettgewebe produziert. Aber nicht nur viszerales und subkutanen Fettgewebe, sondern auch epikardiales Fettgewebe ist an der Produktion beteiligt. Des Weiteren weiß man, dass bestimmte Zelllinien bevorzugt bestimmte Adiponektin-Multimere produzieren; so erzeugen Adipozyten von Patienten mit dem Simpson-Golabi-Beheml-Syndrom vor allem LMW-Adiponektin. Es liegt die Vermutung nahe, dass eventuell auch viszerales, subkutanen und epikardiales Fettgewebe jeweils präferenziell eine bestimmte Adiponektin-Subfraktion produzieren. Da bekannt ist, dass das epikardiale Fettgewebe von Patienten mit KHK deutlich niedrigere Adiponektinspiegel exprimiert als jenes von Kontrollpatienten, und da außerdem bekannt ist, dass das Ausmaß von KHK signifikant negativ mit der Höhe der Expression von Adiponektin im epikardialen Fettgewebe assoziiert ist (181), lässt sich in Übereinstimmung mit dem Abfall von HMW-Adiponektin bei sowohl adipösen als auch normalgewichtigen Herzinfarktpatienten vermuten, dass epikardiales Fettgewebe vornehmlich HMW-Adiponektin produziert.

Möglicherweise kommt es im Rahmen von KHK zu bisher nicht bekannten Schädigungen des epikardialen Fettgewebes, welches dadurch Teile seiner

endokrinen Funktion einbüßt und somit nur noch geringe Mengen an HMW-Adiponektin produzieren kann.

Aber nicht nur in einer gestörten Produktion dieses Hormones, sondern auch in einer pathologisch gesteigerten Proteolyse des HMW-Adiponektins kann der Schlüssel zur Klärung der Verschiebung dieser Adiponektinanteile zu Gunsten von MMW-Adiponektin liegen. Aktivierte Monozyten sezernieren eine Leukozytenelastase, die Adiponektin in vitro an vier Stellen innerhalb der kollagenähnlichen Domäne spaltet (26). Es ist durchaus denkbar, dass diese von aktivierten Monozyten, wie sie auch in arteriosklerotischen Läsionen typischerweise zu finden sind, produzierte Leukozytenelastase ebenfalls in vivo Adiponektin spaltet. Möglicherweise entsteht durch diese proteolytische Spaltung die gemessene Verschiebung des HMW-Adiponektins hin zu MMW-Adiponektin. So ist anzunehmen, dass aktivierte Monozyten im Rahmen der KHK das kardioprotektive HMW-Adiponektin zu dem biologisch weniger aktiven MMW-Adiponektin abbauen und somit einen Circulus vitiosus unterstützen, der in einem Herzinfarkt gipfeln kann.

Abgesehen von der Verschiebung der Adiponektin-Multimeranteile bei Herzinfarktpatienten hin zu einem größeren Anteil an MMW-Adiponektin und einem kleineren Anteil an HMW-Adiponektin, wurde außerdem in der hier vorgestellten Studie festgestellt, dass sich der Anteil an LMW-Adiponektin im Plasma von Herzinfarktpatienten nicht verändert. Dies ist gut verständlich, wenn man die primär antiinflammatorische Wirkung des LMW-Adiponektins bedenkt. LMW-Adiponektin hemmt einerseits Makrophagen an der, von LPS vermittelten, Produktion des proinflammatorischen Interleukin-6 und stimuliert andererseits die Produktion des antiinflammatorischen Zytokins Interleukin-10. Die Induktion der Interleukin-10-Produktion zieht einen Anstieg von TIMP-1 nach sich. TIMP-1 ist ein physiologischer Inhibitor der Matrixmetalloproteasen, die maßgeblich an der Ruptur arteriosklerotischer Plaques beteiligt sind (120). LMW-Adiponektin trägt also zur Verhinderung von Plaquerupturen bei, die unter anderem zu einem Herzinfarkt führen können.

Auf Grund der physiologischen kardioprotektiven Wirkung von vor allem HMW-Adiponektin, ist nachvollziehbar, dass im Plasma von Herzinfarktpatienten erniedrigte Anteile von HMW-Adiponektin vorzufinden sind. Im Rahmen der komplexen Biosynthese, Sekretion und dem noch wenig verstandenen Abbau von Adiponektin

wurden verschiedene Ansätze diskutiert, die die Verschiebung der Adiponektin-multimeranteile von HMW- zu MMW-Adiponektin im Plasma von Herzinfarktpatienten erklären könnten, deren vollständige Klärung aber sicherlich noch weiterer Forschung bedarf.

4.2.2 Alteration des Verhältnisses MMW-HMW-Adiponektin als unabhängiger Prädiktor für das Auftreten eines Myokardinfarktes

Da eine erhöhte MMW-HMW-Adiponektin-Ratio in der hier vorgestellten retrospektiven Fall-Kontroll-Studie so deutlich mit dem Vorhandensein eines Herzinfarktes assoziiert war, wurde dieser eine prospektive, genestete Fall-Kontroll-Studie angeschlossen, um die mögliche Rolle der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio als Biomarker für inzidente Herzinfarkte näher zu untersuchen. In der Tat konnte im Rahmen dieser prospektiven Studie zum ersten Mal das Verhältnis von MMW- zu HMW-Adiponektin als unabhängiger Prädiktor für inzidente fatale und nicht-fatale Herzinfarkte bei initial asymptomatischen männlichen Nicht-Diabetiker-Geschwistern von KHK-Patienten identifiziert werden.

Des Weiteren ließ sich hier erstmals feststellen, dass die MMW-HMW-Adiponektin-Ratio-Werte bis zu fünf Jahre vor der Manifestation eines Herzinfarkts als prädiktiv anzusehen sind. Berücksichtigt man die kardio- und vasoprotektiven Eigenschaften des Adiponektins, die vor allem durch HMW-Adiponektin vermittelt werden, so wird verständlich, warum eine Erhöhung des Verhältnisses von MMW-HMW-Adiponektin prädiktiv für das Auftreten eines fatalen oder nicht-fatalen Herzinfarktes ist.

HMW-Adiponektin ist die biologisch aktivste Form des Adiponektins. Seine kardio- und vaskuloprotektiven Wirkungen sind mannigfaltig und schützen nicht nur die bereits erkrankten Gefäße vor einem Fortschreiten der Arteriosklerose, sondern vor allem auch die noch gesunden Gefäße vor der Entstehung von arteriosklerotischen Veränderungen. Eine der frühesten Veränderungen in der Entstehung von Arteriosklerose liegt in der endothelialen Dysfunktion, die zum großen Teil durch einen Mangel an endotheliale NO, durch endotheliale Inflammation und Apoptose verursacht wird.

Es kommt zu Vasokonstriktion, vermehrter Monozytenadhäsion am Endothel, Thrombozytenaggregation und gesteigerter Proliferation glatter Muskelzellen. HMW-Adiponektin ist ein potenter Stimulator der endothelialen NO-Synthetase und damit der NO-Produktion im Endothel (82). Ein ausreichender HMW-Adiponektin-Spiegel

kann folglich dazu beitragen, diese initialen pathologischen Veränderungen zu verhindern. Zusätzliche vasoprotektive Wirkung zeigt HMW-Adiponektin durch Minderung des oxidativen Stresses im Endothel, insbesondere durch Hemmung der NADPH-Oxidase (101).

Des Weiteren unterdrückt HMW-Adiponektin die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle, wie ICAM-1, VCAM-1 oder E-Selectin, und verzögert somit die Anlagerung von Monozyten an der Endothelwand. Auch werden das Leukozytenrolling und die Leukozytenadhäsion negativ beeinflusst (103). Ausschließlich HMW-Adiponektin, nicht aber MMW- oder LMW-Adiponektin, schützen das Endothel vor Apoptose (108). Zudem wird durch die Unterdrückung der Expression des Scavenger-Rezeptors-A die Transformation von Makrophagen in Schaumzellen verhindert. Ein Fehlen dieses Rezeptors beeinträchtigt die Makrophagen in der Aufnahme von acetyliertem LDL-Cholesterin, das für eine Umwandlung in Schaumzellen nötig ist (122).

Außerdem wird die Aktivität der Acyl-CoA-Cholesterol-Transferase, des Enzyms, das die Bildung von Cholesterolestern katalysiert und die Transformation von Makrophagen in Schaumzellen beschleunigt, vermindert (123). Nicht zuletzt wirkt HMW-Adiponektin auch noch Zelldebris opsonierend und unterstützt somit die Phagozytoseaktivität der Makrophagen (126). Die hemmende Wirkung des Adiponektins auf die Proliferation und Migration glatter Gefäßmuskelzellen stellt einen weiteren Mechanismus dar, mit dessen Hilfe Adiponektin das Gefäßsystem schützt. Die Proliferation und Migration glatter Muskelzellen tragen über eine dadurch bedingte Verdickung der Intima zur Entwicklung beziehungsweise Progress von Gefäßläsionen bei. Adiponektin unterdrückt oligomerspezifisch bestimmte Wachstumsfaktoren und verhindert dadurch neue Zellproliferation. So bindet beispielsweise der platelet-derived-growth-factor vor allem an HMW-, aber auch an MMW-Adiponektin Komplexe. Basic-fibroblast-growth-factor hingegen interagiert ausschließlich mit HMW-Adiponektin, wohingegen heparin-binding-epidermal-growth-factor-like-growth-factor mit vergleichbarer Affinität an alle drei Adiponektin-Subformen bindet.

Die Adiponektin-Multimere, vor allem HMW-Adiponektin, senken also durch Interaktion mit diesen Wachstumsfaktoren deren Bioverfügbarkeit und behindern dadurch eine nötige Interaktion mit ihren Rezeptoren, was letztlich die Proliferation glatter Muskelzellen und damit neuer Intima verhindert (131).

Auch die maßgebliche Rolle des HMW-Adiponektins in der Aufrechterhaltung eines kardioprotektiven Lipidprofils ist hier zu betonen. Nicht nur eine erhöhte basale Fettsäureoxidation, sondern auch eine erhöhte Aktivität der Lipoprotein-Lipase tragen zu einem geringeren Plasmagehalt an triglyzeridreichen Lipoproteinen bei. Zudem ist HMW-Adiponektin die Adiponektinsubfraktion, die primär für einen hohen Spiegel an kardioprotektivem HDL-Cholesterin und einen geringen Gehalt an arteriogenem LDL-Cholesterin im Plasma verantwortlich ist (164).

HMW-Adiponektin wirkt also an der Basis der Pathogenese der Arteriosklerose. Es verhindert endotheliale Inflammation, Monozytenadhäsion, die Transformation von Makrophagen in Schaumzellen, Entwicklung und Fortschreiten von Gefäßläsionen, Thrombozytenaggregation in den Gefäßen und unterstützt die Erhaltung eines, aus kardiovaskulärer Sicht, günstigen Lipidprofils. Somit stellt HMW-Adiponektin einen der wichtigsten Kardio- und Vasoprotektoren dar. Zwar scheint auch MMW-Adiponektin zumindest teilweise dieses Wirkungsspektrum aufzuweisen, jedoch ist seine biologische Aktivität jener von HMW-Adiponektin deutlich unterlegen. Verschiebt sich nun der Anteil von HMW-Adiponektin zu Gunsten jenes von MMW-Adiponektin, so fehlt ein Großteil dieser protektiven Wirkungen und die Entwicklung von Arteriosklerose und ihren Folgeerkrankungen, wie einem Herzinfarkt, wird begünstigt.

Es ist folglich nachvollziehbar, warum eine erhöhte MMW-HMW-Adiponektin-Ratio im Plasma von anfänglich gesunden Probanden mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines Herzinfarktes einhergeht. Bedenkt man, dass bereits die primäre Entwicklung arteriosklerotischer Veränderungen durch eine erhöhte MMW-HMW-Adiponektin-Ratio begünstigt wird, und dass das Fortschreiten der Arteriosklerose bis hin zu einem Herzinfarkt ein chronisches Geschehen darstellt, so scheint es ebenso gut verständlich, dass eine erhöhte MMW-HMW-Adiponektin-Ratio bis zu fünf Jahre vor dem Infarktereignis als prädiktiv anzusehen ist.

Kritisch anzumerken bleibt allerdings, dass die in dieser prospektiven Studie untersuchte Studienpopulation nur männliche Nicht-Diabetiker einschloss, die außerdem Geschwister von bekannten KHK-Patienten waren. Da durchwegs Geschwister von KHK-Patienten untersucht wurden, ist nicht auszuschließen, dass bestimmte genetische Veränderungen die Untersuchungsergebnisse beeinflussen könnten. Da nur Probanden in die Studie aufgenommen wurden, die nicht an

Diabetes mellitus Typ 2 leiden, ist im Hinblick auf eventuelle therapiebedingte Verfälschungen der HMW-Adiponektin-Quantität als positiv zu bewerten. Im Plasma von Patienten, die an Diabetes mellitus Typ 2 leiden findet sich prinzipiell ein erhöhter Gesamtadiponektinspiegel, der vor allem auf einen Anstieg der HMW-Adiponektinoligomer-Quantität zurückgeführt wird (182).

Zudem erhöhen orale Antidiabetika, PPAR γ -Agonisten (Rosiglitazon, Pioglitazon) den Gesamtadiponektinspiegel maßgeblich durch Stimulation der Expression von ER α 1-L α und damit der Sekretion von HMW-Adiponektin (73). In Mausmodellen führten Behandlungen mit Thiazolidinonen zu einem streng selektiven Anstieg von zirkulierendem HMW-Adiponektin, nicht aber von MMW- oder LMW-Adiponektin. Diese Veränderung zeigte sich auch im Rahmen der Behandlung von Diabetikern mit Thiazolidinonen (68). Insulin hingegen vermittelt eine Reduktion des Gesamtadiponektinspiegels im Serum. In Mäusen und auch im Menschen wurde beobachtet, dass dieser Abfall des Gesamtadiponektins vielmehr durch einen Abfall von HMW-Adiponektin als durch ein Absinken der beiden anderen Multimere, MMW- und LMW-Adiponektin, bedingt wird (20).

Durch den Ausschluss von Diabetikern aus der hier vorgestellten prospektiven Studie wurde verhindert, den HMW-Adiponektin-Anteil aufgrund der Erhöhung durch die pathologischen Veränderungen dieser Erkrankung fälschlicherweise zu hoch zu messen. Des Weiteren wurde vermieden, einerseits bei Patienten in Therapie mit oralen Antidiabetika einen fälschlicherweise zu hohen HMW-Adiponektin-Anteil und andererseits bei Patienten, unter Therapie mit Insulin, einen fälschlicherweise zu niedrigen HMW-Adiponektin Anteil zu bestimmen. Wie bereits erwähnt, schloss die Studienpopulation nur männliche Probanden ein. Die Prädiktivität einer erhöhten MMW-HMW-Adiponektin-Ratio für fatale und nicht-fatale Herzinfarkte ist also auf männliche Individuen beschränkt. SATTAR ET AL. aber haben, ebenfalls in einer prospektiven, genesteten Fall-Kontroll- Studie, den Zusammenhang zwischen HMW-Adiponektin und dem Auftreten inzidenter KHK, an einer Studienpopulation, die ausschließlich aus weiblichen Teilnehmern bestand, untersucht. Sie konnten jedoch keine Assoziation zwischen der Höhe des HMW-Adiponektins und dem Auftreten von KHK beschreiben. Allerdings wurden nur Veränderungen des HMW-Adiponektins und nicht der beiden anderen Multimere, MMW- und LMW-Adiponektin im Plasma der Frauen untersucht.

Ebenso wie die hier vorgestellte prospektive Studie, handelt es sich auch bei SATTAR ET AL. um eine genestete Fall-Kontroll-Studie. Dieses Design reduziert im Gegensatz zu einer einfachen Fall-Kontroll-Studie die Wahrscheinlichkeit des Auftretens möglicher statistischer Verzerrungen deutlich. Zur Quantifizierung des HMW-Adiponektins wurde ebenfalls ein ELISA verwendet (183). Es ist bereits bekannt, dass Männer einen niedrigeren Gesamtadiponektinspiegel aufweisen als Frauen (54;55;140). Die niedrigeren Gesamtadiponektinspiegel bei Männern werden durch eine selektive Erniedrigung des HMW-Adiponektins bedingt, während die Plasmakonzentrationen der beiden anderen Subfraktionen, MMW- und LMW-Adiponektin, bei beiden Geschlechtern vergleichbar sind (68;184).

Die Verminderung des zirkulierenden HMW-Adiponektins erfolgt durch eine testosterongesteuerte Hemmung der Sekretion dieses Oligomers aus den Adipozyten. So führte beispielsweise die Kastration von Mäusen zu einer selektiven Erhöhung des zirkulierenden HMW-Adiponektins (184). Zudem fand man im Rahmen von Experimenten an Mäusen, dass das Verhältnis zwischen HMW-Adiponektin und Gesamtadiponektin im Fettgewebe bei beiden Geschlechtern vergleichbar ist. Das Verhältnis von HMW- zu Gesamtadiponektin ist jedoch im Fettgewebe deutlich höher als in der freien Zirkulation. Dies legt die Vermutung nahe, dass HMW-Adiponektin selektiv in den Adipozyten zurückgehalten wird (68;184). Ein Pulse-Chase-Experiment zeigte, dass die HMW-Adiponektin-Sekretion erstens weitaus langsamer erfolgt als jene der beiden anderen Multimere, und dass zweitens eine Behandlung mit Testosteron die Sekretionsrate von HMW-Adiponektin weiter senkt (184). Es besteht also eine negative Korrelation zwischen der HMW-Gesamtadiponektin-Ratio und Testosteron. Diese Aussagen bestätigen die bereits in 4.1 und 4.2.1 dargelegte Vermutung, dass die drei Adiponektinologomere auf drei unterschiedlichen Wegen sezerniert werden. Testosteron kann folglich nur selektiv die Sekretion von HMW-Adiponektin behindern, ohne jene von MMW- und LMW-Adiponektin zu beeinflussen. Weder Kastration noch eine Behandlung mit Testosteron führten bei Mäusen zu einer Veränderung der Expressionsrate des Adiponektins, was ebenso darauf hindeutet, dass die Regulation des HMW-Adiponektins durch Testosteron posttranslational beeinflusst wird. Im Rahmen von klinischen Studien an Patienten mit Hypogonadismus führte außerdem eine dreimonatige Substitutionstherapie mit Testosteron zu einem deutlichen Abfall des prozentualen Anteils von HMW-

Adiponektin im Plasma, während der Adiponektinsgesamtspiegel sich nur geringfügig erniedrigte (184).

Angesichts der hemmenden Effekte von Testosteron auf die HMW-Adiponektin-Sekretion kann nachvollzogen werden, warum im Plasma von Frauen ein höherer HMW-Adiponektinspiegel, und damit ein höherer Gesamtadiponektinspiegel als im Plasma von Männern gefunden wird. Testosteron wird bereits seit langem als kausaler Faktor für die Entstehung von KHK diskutiert. Durch die testosteron-vermittelte Hemmung der HMW-Adiponektin-Sekretion kommt es zu einem Verlust der über dieses Oligomer vermittelten vasoprotektiven Effekte. Da aber die Sekretion von MMW-Adiponektin und LMW-Adiponektin anscheinend über unterschiedliche Mechanismen ablaufen, ist es gut möglich, dass, wie bereits in 4.2.1 erwähnt, kompensatorisch die Sekretion von MMW-Adiponektin erhöht wird, und somit auch der Anteil an MMW-Adiponektin im Plasma steigt.

Die Wirkung von Testosteron auf die Verteilung der Adiponektin-Multimere kann einerseits zum Teil erklären, warum Männer ein höheres Risiko als Frauen haben, an KHK zu erkranken und einen Herzinfarkt zu erleiden; andererseits bekräftigt und erklärt sie die hier nachgewiesene Erhöhung des Verhältnisses von MMW- zu HMW-Adiponektin im Plasma gesunder Männer als Prädiktor für das Auftreten fataler und nicht-fataler Herzinfarkte.

Letztlich bleibt noch zu betonen, dass die durchgeführten Experimente mittels eines ELISAs erfolgten. Die Quantifizierung der Adiponektin-Multimere ist auf verschiedene Art und Weise möglich. Eine Analyse der Adiponektinsubfraktionen mittels Western Blot zeigt im Vergleich zu der Quantifizierung mittels ELISA nur eingeschränkte Sensitivität, da im Rahmen dieser Methode nicht zwischen Adiponektin-Hexameren und -Trimeren unterschieden werden kann (20;68). Die Quantifizierung der Multimere mittels eines ELISAs nach Gel-Filtration ist wahrscheinlich die verlässlichste Methode, jedoch nicht zur Anwendung im Rahmen größerer klinischer Studien empfohlen (21;108;184). Der hier verwendete, von KADOWAKI ET AL. entwickelte ELISA, erlaubt die Messung der verschiedenen Adiponektin-Multimere in einem einzigen Ansatz. Es werden nur geringe Plasmavolumina benötigt, um sowohl das Gesamtadiponektin als auch die Subfraktionen zu quantifizieren. Dieser ELISA erweist sich als sehr sensitiv und empfiehlt sich besonders zur Anwendung im Rahmen klinischer Studien, die eine größere Anzahl an Probanden einschließen (170).

Die in dieser Studie festgestellte Rolle der Erhöhung der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio als Prädiktor für fatale und nicht-fatale Herzinfarkte bei männlichen Nicht-Diabetiker-Geschwistern von KHK-Patienten ist auf die fehlende Aktivität des potenten Kardio- und Vasoprotektors HMW-Adiponektin zurückzuführen. Die Entwicklung pathologischer Gefäßveränderungen, die in einem Herzinfarkt gipfeln, wird durch einen Mangel an HMW-Adiponektin begünstigt und beschleunigt. Die Wirkung von Testosteron kann eine mögliche Erklärung für die Verminderung des HMW-Adiponektins im männlichen Organismus darstellen. Die genauen molekularen Mechanismen, die vor der Entstehung eines Herzinfarktes zu einer Erhöhung des MMW-Adiponektins und zu einer Erniedrigung des HMW-Adiponektins führen, bleiben jedoch noch im Detail zu klären.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Klinische und genetische Studien sowie Untersuchungen am Tiermodell unterstützen die Rolle Adiponektins als wichtiges Adipokin in der Entstehung von koronarer Herzkrankheit und Herzinfarkt. Die mannigfaltigen Wirkungen des Adiponektins werden durch seine drei verschiedenen Subformen, HMW-, MMW- und LMW-Adiponektin übermittelt. Während LMW- und MMW-Adiponektin ihre Wirkung vor allem zentral vermitteln, agiert die biologisch aktivste Form Adiponektins, das HMW-Adiponektin, maßgeblich in der Körperperipherie, an der Leber, der Skelettmuskulatur und dem kardiovaskulären System. HMW-Adiponektin besitzt die stärkste kardio- und vasoprotektive Wirkung. Es verhindert endotheliale Inflammation und Apoptose, Monozytenadhäsion, die Transformation von Makrophagen in Schaumzellen, die Entwicklung und das Fortschreiten von Gefäßläsionen, die Thrombozytenaggregation in den Gefäßen und unterstützt ausserdem die Erhaltung eines günstigen Lipidprofils. Aber auch MMW- und LMW-Adiponektin zeigen kardio – und vasoprotektive Wirkung, wenn auch sie weniger aktiv sind.

Die Kardioprotektivität des Adiponektins ist nicht, wie bisher angenommen, an die Höhe des Gesamtadiponektins gebunden, sondern an die Verteilung der Adiponektin-Multimere. In der vorgestellten prospektiven Fall-Kontroll-Studie konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass die MMW-HMW-Adiponektin-Ratio-Werte bis zu fünf Jahre vor dem Eintreffen eines Herzinfarkts als unabhängig prädiktiv anzusehen sind. In dieser Erkenntnis liegt die Basis für die Entwicklung eines neuen messbaren Parameters in der Diagnose und vor allem auch der Prävention eines Herzinfarktes sowie die Basis für die Entwicklung neuer Therapieansätze in der Behandlung und Prävention der Arteriosklerose.

Die Tatsache, dass es bereits Jahre vor dem Auftreten eines fatalen bzw. nicht-fatalen Herzinfarktes zu einer Erhöhung der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio im Plasma kommt, könnte es ermöglichen, dieses Verhältnis als messbaren Routineparameter zur Überwachung von Risikopatienten einzuführen.

Ähnlich der Bestimmung des Lipidprofils, des Blutzuckers und des arteriellen Blutdruckes, könnte auch die Bestimmung der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio als unabhängiger kardiovaskulärer Kontrollparameter dienen. Hierzu wäre lediglich die Entnahme einer geringen Blutmenge und eine anschließende Quantifizierung der Multimere im Plasma der Patienten nötig. Die praktische Durchführung eines solchen Tests wäre also im klinischen Alltag durchaus denkbar.

Zu untersuchen bleibt allerdings, ob es während und nach der akuten Phase eines Herzinfarktes noch zu anderen Veränderungen der Adiponektin-Multimerverteilung kommt. Es wäre dann nämlich auch möglich, neben den bereits routinemäßig bestimmten Laborparametern, wie Troponin I und T, LDH, CK, CK-MB und LDH, auch die Adiponektinmultimerverteilung zu messen, um einen eventuellen akuten Myokardinfarkt zu diagnostizieren oder dessen Verlauf zu beurteilen. SHIBATA ET AL. fanden bereits, dass erhöhte Adiponektinesamtspiegel nach einer erfolgten Reperfusionstherapie von Patienten mit stattgehabtem akutem Myokardinfarkt, sowohl mit einer Reduktion des Gewebeschadens am Myokard und einer verbesserten myokardialen Funktion einhergehen (185). Ob und wie diese Erhöhung des Gesamtadiponektins aber durch eine Verschiebung der Multimere nach der akuten Phase des Herzinfarktes bedingt wird, bleibt ebenso offen wie die Frage nach dem Verhalten der Multimere in der akuten Phase eines Herzinfarktes selbst.

Das große Potenzial einer erhöhten MMW-HMW-Adiponektin-Ratio als Biomarker für inzidente fatale und nicht-fatale Herzinfarkte legt nicht nur eine mögliche Nutzung dieser Ratio als kardiovaskulären Kontrollparameter, sondern auch die Möglichkeit nahe, die MMW-HMW-Adiponektin-Ratio als neues therapeutisches Target in der Behandlung und Prävention von Herzinfarkten zu nutzen. Man weiß bereits, dass PPAR γ -Agonisten sowohl die Serumadiponektinspiegel von Mäusen als auch von Menschen erhöhen (62;186;187). Hierbei kommt es zu einem selektiven Anstieg von HMW-Adiponektin. MMW- und LMW-Adiponektin bleiben unbeeinflusst (68). PPAR γ -Agonisten stimulieren die Sekretion von HMW-Adiponektin selektiv, indem sie die Expression des am Endoplasmatischen Retikulum befindlichen Chaperons Ero1- α induzieren (165;168). Es wäre folglich möglich, PPAR γ -Agonisten nicht nur zur Therapie von Diabetikern, sondern auch zur Behandlung von Patienten mit erhöhter MMW-HMW-Ratio einzusetzen, um den Anteil von kardioprotektivem HMW-Adiponektin zu erhöhen und das Risiko für das Auftreten eines Herzinfarktes zu vermindern. PATEL ET AL. konnten bereits zeigen, dass durch eine Behandlung von KHK-Patienten, die nicht an Diabetes litten, mit Pioglitazon der Gesamtadiponektinspiegel dieser Patienten stieg und dies wiederum eine gesteigerte endothelabhängige Vasodilatation nach sich zog (188).

Maßgeblich für die Entwicklung eventueller therapeutischer Applikationen erscheint jedoch weitere detaillierte Forschung, um einerseits die genauen Abläufe der Adiponektin-Sekretion und der posttranslationalen Modifikation sowie andererseits

auch die genaue Struktur der verschiedenen Multimere, vor allem des HMW-Adiponektins zu verstehen. Sind erst einmal die genauen molekularen Abläufe der Sekretion der einzelnen Oligomere bekannt, so könnte diese jeweils gezielt pharmakologisch beeinflusst werden. Sollten tatsächlich zwei oder mehrere Sekretionswege für HMW-Adiponektin einerseits und MMW- und LMW-Adiponektin andererseits existieren, so wäre es denkbar, bei Patienten, die im Plasma eine erhöhte MMW-HMW-Ratio aufweisen, selektiv die beiden Sekretionswege pharmakologisch zu manipulieren, um den Wert der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio zu verringern und dadurch das Risiko des Auftretens eines fatalen oder nicht-fatalen Herzinfarktes zu minimieren. Denkbar wäre ebenfalls ein pharmakologisches Eingreifen in die posttranslationale Modifikation Adiponektins. Die posttranslationale Hydroxylierung und Glykosylierung einiger Lysinreste spielen eine obligate Rolle im Rahmen der Oligomerisierung Adiponektins. Sie scheinen essentiell für die Ausblidung der Struktur von HMW-Adiponektin zu sein.

Es wurde bereits gezeigt, dass eine pharmakologische Hemmung der Lysylhydroxylase-3, dem wichtigsten Enzym im Rahmen der posttranslationalen Glykosylierung und Hydroxylierung, zu einer verminderten Oligomerisierung und damit zu einer verminderten Freisetzung von HMW-Adiponektin führt (176;189). Sollte die erhöhte MMW-HMW-Adiponektin-Ratio auf einen Oligomerisierungsdefekt auf Grund einer unzureichenden postrationalen Modifizierung zurückzuführen sein, wäre es gut möglich, die, die posttranslationalen Modifikationen katalysierenden Enzyme pharmakologisch zu stimulieren, um deren Aktivität zu steigern und eine normale Oligomerisierung zu ermöglichen sowie die MMW-HMW-Adiponektin-Ratio zu senken und damit der Entstehung eines Herzinfarktes vorzubeugen.

Näher zu untersuchen gilt es zudem die Rolle des T-Cadherins. Sollte T-Cadherin tatsächlich als ein Transportprotein für HMW-Adiponektin im Plasma fungieren und dadurch den Anteil des freien, wirksamen und mit dem ELISA messbaren HMW-Adiponektins vermindern, so wäre eine kompetitive Hemmung der HMW-Adiponektinbindungsstelle an T-Cadherin eine Möglichkeit, den Anteil des freien, kardioprotektiven HMW-Adiponektins im Plasma wieder zu erhöhen. Um einen kompetitiven Inhibitor für HMW-Adiponektin zu syntethisieren ist es allerdings, wie bereits eingangs erwähnt, unerlässlich, die exakte Struktur HMW-Adiponektins zu kennen. Mit der Kenntnis der genauen Struktur dieses Adiponektinmultimers würde sich außerdem die Möglichkeit eröffnen, synthetisch HMW-Adiponektin herzustellen,

um dieses, bei Patienten mit erhöhter MMW-HMW-Adiponektin-Ratio zu substituieren. Sowohl das momentan aus Ratten- als auch aus Rinderplasma isolierte Adiponektin sind nicht zur Substitution nutzbar, da diese im Gegensatz zu menschlichem HMW-Adiponektin nur 18-mere, nicht aber größere molekulare Strukturen bilden (190). Auch bakteriell erzeugtes Adiponektin ist momentan für eine eventuelle Substitutionstherapie undenkbar, da Bakterien die für die Ausbildung des benötigten HMW-Adiponektins essentielle Fähigkeit der posttranslationalen Modifikation gänzlich fehlt. Die Erforschung der exakten Struktur des HMW-Adiponektins scheint also zukünftig unumgänglich zu sein.

Wegweisend in einer potenziellen therapeutischen Beeinflussung der erhöhten MMW-HMW-Adiponektin-Ratio könnte ebenso eine pharmakologische Inhibierung der Leukozyten-Elastase sein. Aktivierte Monozyten, die vor allem auch im Rahmen der Entstehung eines Herzinfarktes vorkommen, bilden dieses Enzym, das in vitro Adiponektin an vier Stellen spaltet. Sollte die Leukozyten-Elastase auch in vivo Adiponektin insbesondere HMW-Adiponektin zu MMW-Adiponektin proteolysieren, so könnte eine pharmakologische Blockierung dieses Enzyms die Erhöhung des MMW-HMW-Adiponektin-Verhältnisses negativ beeinflussen und somit das Risiko des Auftretens eines Herzinfarktes verringern.

Weitere Forschung wird sicherlich auch benötigt um die biologische Rolle des bisher in allen klinischen Studien vernachlässigten MMW-Adiponektins näher zu untersuchen.

Nicht vergessen werden darf aber, dass auch eine Veränderung des Lebensstils, wie Diät und physische Aktivität, das Adiponektin-Multimerprofil positiv beeinflussen kann. Ähnlich wie es im Lipidprofil durch Diät und körperliche Bewegung zu einer Erhöhung des kardioprotektiven HDLs kommt, zeigte sich, dass durch Kalorienrestriktion eine selektive Erhöhung des kardioprotektiven HMW-Adiponektins erreicht werden kann (191-193). Es zeigen sich also zahlreiche denkbare therapeutische Ansätze, die die Veränderung der MMW-HMW-Adiponektin-Ratio zum Positiven hin beeinflussen können und deren Klärung unumgänglich weiterer Forschung bedarf.

6.Literatur

- (1) Kahn CR. Triglycerides and toggling the tummy. *Nat Genet* 2000; 25(1):6-7.
- (2) Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 2001; 104(4):531-543.
- (3) Lowell BB. PPARgamma: an essential regulator of adipogenesis and modulator of fat cell function. *Cell* 1999; 99(3):239-242.
- (4) Chawla A, Saez E, Evans RM. "Don't know much bile-ology". *Cell* 2000; 103(1):1-4.
- (5) Saltiel AR. You are what you secrete. *Nat Med* 2001; 7(8):887-888.
- (6) White RT, Damm D, Hancock N et al. Human adipsin is identical to complement factor D and is expressed at high levels in adipose tissue. *J Biol Chem* 1992; 267(13):9210-9213.
- (7) Friedman JM. Obesity in the new millennium. *Nature* 2000; 404(6778):632-634.
- (8) Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M et al. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med* 1996; 2(7):800-803.
- (9) Steppan CM, Bailey ST, Bhat S et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409(6818):307-312.
- (10) Hotamisligil GS. The role of TNFalpha and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J Intern Med* 1999; 245(6):621-625.
- (11) Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995; 270(45):26746-26749.
- (12) Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1996; 271(18):10697-10703.
- (13) Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221(2):286-289.
- (14) Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem* 1996; 120(4):803-812.
- (15) Shapiro L, Scherer PE. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Curr Biol* 1998; 8(6):335-338.
- (16) Crouch E, Persson A, Chang D, Heuser J. Molecular structure of pulmonary surfactant protein D (SP-D). *J Biol Chem* 1994; 269(25):17311-17319.
- (17) McCormack FX, Pattanajitvilai S, Stewart J, Possmayer F, Inchley K, Voelker DR. The Cys6 intermolecular disulfide bond and the collagen-like region of rat SP-A play critical roles in interactions with alveolar type II cells and surfactant lipids. *J Biol Chem* 1997; 272(44):27971-27979.
- (18) Wong GW, Wang J, Hug C, Tsao TS, Lodish HF. A family of Acrp30/adiponectin structural and functional paralogs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(28):10302-10307.
- (19) Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13(2):84-89.

-
- (20) Pajvani UB, Du X, Combs TP et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem* 2003; 278(11):9073-9085.
 - (21) Tsao TS, Tomas E, Murrey HE et al. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J Biol Chem* 2003; 278(50):50810-50817.
 - (22) Waki H, Yamauchi T, Kamon J et al. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem* 2003; 278(41):40352-40363.
 - (23) Tsao TS, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Lodish HF. Oligomerization state-dependent activation of NF-kappa B signaling pathway by adipocyte complement-related protein of 30 kDa (Acrp30). *J Biol Chem* 2002; 277(33):29359-29362.
 - (24) Sato C, Yasukawa Z, Honda N, Matsuda T, Kitajima K. Identification and adipocyte differentiation-dependent expression of the unique disialic acid residue in an adipose tissue-specific glycoprotein, adipo Q. *J Biol Chem* 2001; 276(31):28849-28856.
 - (25) Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(4):2005-2010.
 - (26) Waki H, Yamauchi T, Kamon J et al. Generation of globular fragment of adiponectin by leukocyte elastase secreted by monocytic cell line THP-1. *Endocrinology* 2005; 146(2):790-796.
 - (27) Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26(3):439-451.
 - (28) Wang Y, Xu A, Knight C, Xu LY, Cooper GJ. Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. *J Biol Chem* 2002; 277(22):19521-19529.
 - (29) Yokota T, Meka CS, Medina KL et al. Paracrine regulation of fat cell formation in bone marrow cultures via adiponectin and prostaglandins. *J Clin Invest* 2002; 109(10):1303-1310.
 - (30) Berner HS, Lyngstadaas SP, Spahr A et al. Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. *Bone* 2004; 35(4):842-849.
 - (31) Pineiro R, Iglesias MJ, Gallego R et al. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. *FEBS Lett* 2005; 579(23):5163-5169.
 - (32) Katsiogiannis S, Kapsogeorgou EK, Manoussakis MN, Skopouli FN. Salivary gland epithelial cells: a new source of the immunoregulatory hormone adiponectin. *Arthritis Rheum* 2006; 54(7):2295-2299.
 - (33) Corbetta S, Bulfamante G, Cortelazzi D et al. Adiponectin expression in human fetal tissues during mid- and late gestation. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(4):2397-2402.
 - (34) Bogan JS, Lodish HF. Two compartments for insulin-stimulated exocytosis in 3T3-L1 adipocytes defined by endogenous ACRP30 and GLUT4. *J Cell Biol* 1999; 146(3):609-620.
 - (35) Xie L, Boyle D, Sanford D, Scherer PE, Pessin JE, Mora S. Intracellular trafficking and secretion of adiponectin is dependent on GGA-coated vesicles. *J Biol Chem* 2006; 281(11):7253-7259.

-
- (36) Clarke M, Ewart MA, Santy LC, Prekeris R, Gould GW. ACRP30 is secreted from 3T3-L1 adipocytes via a Rab11-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 342(4):1361-1367.
 - (37) Turner MD, Arvan P. Protein traffic from the secretory pathway to the endosomal system in pancreatic beta-cells. *J Biol Chem* 2000; 275(19):14025-14030.
 - (38) Nishida M, Funahashi T, Shimomura I. Pathophysiological significance of adiponectin. *Med Mol Morphol* 2007; 40(2):55-67.
 - (39) Qiao L, Shao J. SIRT1 regulates adiponectin gene expression through Foxo1-C/enhancer-binding protein alpha transcriptional complex. *J Biol Chem* 2006; 281(52):39915-39924.
 - (40) Ikeda K, Maegawa H, Ugi S et al. Transcription factor activating enhancer-binding protein-2beta. A negative regulator of adiponectin gene expression. *J Biol Chem* 2006; 281(42):31245-31253.
 - (41) Kim HB, Kong M, Kim TM et al. NFATc4 and ATF3 negatively regulate adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes* 2006; 55(5):1342-1352.
 - (42) Lagathu C, Yvan-Charvet L, Bastard JP et al. Long-term treatment with interleukin-1beta induces insulin resistance in murine and human adipocytes. *Diabetologia* 2006; 49(9):2162-2173.
 - (43) Liang X, Kanjanabuch T, Mao SL et al. Plasminogen activator inhibitor-1 modulates adipocyte differentiation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290(1):E103-E113.
 - (44) Bedi D, Clarke KJ, Dennis JC et al. Endothelin-1 inhibits adiponectin secretion through a phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate/actin-dependent mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 345(1):332-339.
 - (45) Reinehr T, Roth C, Menke T, Andler W. Adiponectin before and after weight loss in obese children. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(8):3790-3794.
 - (46) Brichard SM, Delporte ML, Lambert M. Adipocytokines in anorexia nervosa: a review focusing on leptin and adiponectin. *Horm Metab Res* 2003; 35(6):337-342.
 - (47) Zhang Y, Matheny M, Zolotukhin S, Tumer N, Scarpace PJ. Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown adipose tissues: influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1584(2-3):115-122.
 - (48) Park SK, Oh SY, Lee MY, Yoon S, Kim KS, Kim JW. CCAAT/enhancer binding protein and nuclear factor-Y regulate adiponectin gene expression in adipose tissue. *Diabetes* 2004; 53(11):2757-2766.
 - (49) Gavrilu A, Peng CK, Chan JL, Mietus JE, Goldberger AL, Mantzoros CS. Diurnal and ultradian dynamics of serum adiponectin in healthy men: comparison with leptin, circulating soluble leptin receptor, and cortisol patterns. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6):2838-2843.
 - (50) Calvani M, Scarfone A, Granato L et al. Restoration of adiponectin pulsatility in severely obese subjects after weight loss. *Diabetes* 2004; 53(4):939-947.
 - (51) Kotani Y, Yokota I, Kitamura S, Matsuda J, Naito E, Kuroda Y. Plasma adiponectin levels in newborns are higher than those in adults and positively correlated with birth weight. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 61(4):418-423.
 - (52) Arita Y, Kihara S, Ouchi N et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257(1):79-83.

- (53) Weyer C, Funahashi T, Tanaka S et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(5):1930-1935.
- (54) Combs TP, Berg AH, Rajala MW et al. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes* 2003; 52(2):268-276.
- (55) Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K et al. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes* 2002; 51(9):2734-2741.
- (56) Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290(3):1084-1089.
- (57) Halleux CM, Takahashi M, Delporte ML et al. Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 288(5):1102-1107.
- (58) Fasshauer M, Kralisch S, Klier M et al. Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301(4):1045-1050.
- (59) Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Adiponectin gene expression is inhibited by beta-adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001; 507(2):142-146.
- (60) Kappes A, Löffler G. Influences of ionomycin, dibutyl-AMP and tumour necrosis factor- α on intracellular amount and secretion of apM1 in differentiating primary human preadipocytes. *Horm Metab Res* 2000; 32(11-12):548-554.
- (61) Xu A, Wong LC, Wang Y, Xu JY, Cooper GJ, Lam KS. Chronic treatment with growth hormone stimulates adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2004; 572(1-3):129-134.
- (62) Combs TP, Wagner JA, Berger J et al. Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPAR γ agonists: a potential mechanism of insulin sensitization. *Endocrinology* 2002; 143(3):998-1007.
- (63) Osei K, Gaillard T, Kaplow J, Bullock M, Schuster D. Effects of rosiglitazone on plasma adiponectin, insulin sensitivity, and insulin secretion in high-risk African Americans with impaired glucose tolerance test and type 2 diabetes. *Metabolism* 2004; 53(12):1552-1557.
- (64) Nagasawa A, Fukui K, Funahashi T et al. Effects of soy protein diet on the expression of adipose genes and plasma adiponectin. *Horm Metab Res* 2002; 34(11-12):635-639.
- (65) Flachs P, Mohamed-Ali V, Horakova O et al. Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed a high-fat diet. *Diabetologia* 2006; 49(2):394-397.
- (66) Nagao K, Inoue N, Wang YM, Yanagita T. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310(2):562-566.
- (67) Pischon T, Girman CJ, Rifai N, Hotamisligil GS, Rimm EB. Association between dietary factors and plasma adiponectin concentrations in men. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(4):780-786.
- (68) Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP et al. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 2004; 279(13):12152-12162.

- (69) Koshimura J, Fujita H, Narita T et al. Urinary adiponectin excretion is increased in patients with overt diabetic nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316(1):165-169.
- (70) Karpichev IV, Cornivelli L, Small GM. Multiple regulatory roles of a novel *Saccharomyces cerevisiae* protein, encoded by YOL002c, in lipid and phosphate metabolism. *J Biol Chem* 2002; 277(22):19609-19617.
- (71) Narasimhan ML, Coca MA, Jin J et al. Osmotin is a homolog of mammalian adiponectin and controls apoptosis in yeast through a homolog of mammalian adiponectin receptor. *Mol Cell* 2005; 17(2):171-180.
- (72) Yamauchi T, Kamon J, Ito Y et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003; 423(6941):762-769.
- (73) Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116(7):1784-1792.
- (74) Mao X, Kikani CK, Riojas RA et al. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nat Cell Biol* 2006; 8(5):516-523.
- (75) Tsuchida A, Yamauchi T, Ito Y et al. Insulin/Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. *J Biol Chem* 2004; 279(29):30817-30822.
- (76) Civitarese AE, Jenkinson CP, Richardson D et al. Adiponectin receptors gene expression and insulin sensitivity in non-diabetic Mexican Americans with or without a family history of Type 2 diabetes. *Diabetologia* 2004; 47(5):816-820.
- (77) Fasshauer M, Klein J, Kralisch S et al. Growth hormone is a positive regulator of adiponectin receptor 2 in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2004; 558(1-3):27-32.
- (78) Berner HS, Lyngstadaas SP, Spahr A et al. Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. *Bone* 2004; 35(4):842-849.
- (79) Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Staels B. Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPARalpha, PPARgamma, and LXR. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 314(1):151-158.
- (80) Kos K, Harte AL, da Silva NF et al. Adiponectin and resistin in human cerebrospinal fluid and expression of adiponectin receptors in the human hypothalamus. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(3):1129-1136.
- (81) Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. Adiponectin--a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab* 2006; 8(3):264-280.
- (82) Huang PL. Endothelial nitric oxide synthase and endothelial dysfunction. *Curr Hypertens Rep* 2003; 5(6):473-480.
- (83) Takeuchi T, Misaki A, Liang SB et al. Expression of T-cadherin (CDH13, H-Cadherin) in human brain and its characteristics as a negative growth regulator of epidermal growth factor in neuroblastoma cells. *J Neurochem* 2000; 74(4):1489-1497.
- (84) Hug C, Wang J, Ahmad NS, Bogan JS, Tsao TS, Lodish HF. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(28):10308-10313.
- (85) Fu Y, Luo N, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J Lipid Res* 2005; 46(7):1369-1379.

-
- (86) Bauche IB, et El MS, Rezsohazy R et al. Adiponectin downregulates its own production and the expression of its AdipoR2 receptor in transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 345(4):1414-1424.
 - (87) Sell H, etze-Schroeder D, Eckardt K, Eckel J. Cytokine secretion by human adipocytes is differentially regulated by adiponectin, AICAR, and troglitazone. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 343(3):700-706.
 - (88) Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001; 7(8):941-946.
 - (89) Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance in humans. *Am J Cardiol* 1999; 84(1A):3J-10J.
 - (90) Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002; 8(11):1288-1295.
 - (91) Tomas E, Tsao TS, Saha AK et al. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(25):16309-16313.
 - (92) Combs TP, Pajvani UB, Berg AH et al. A transgenic mouse with a deletion in the collagenous domain of adiponectin displays elevated circulating adiponectin and improved insulin sensitivity. *Endocrinology* 2004; 145(1):367-383.
 - (93) Maeda N, Shimomura I, Kishida K et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 2002; 8(7):731-737.
 - (94) Yamauchi T, Nio Y, Maki T et al. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med* 2007; 13(3):332-339.
 - (95) Zhu W, Cheng KK, Vanhoutte PM, Lam KS, Xu A. Vascular effects of adiponectin: molecular mechanisms and potential therapeutic intervention. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114(5):361-374.
 - (96) Hattori Y, Suzuki M, Hattori S, Kasai K. Globular adiponectin upregulates nitric oxide production in vascular endothelial cells. *Diabetologia* 2003; 46(11):1543-1549.
 - (97) Chen H, Montagnani M, Funahashi T, Shimomura I, Quon MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2003; 278(45):45021-45026.
 - (98) Tan KC, Xu A, Chow WS et al. Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(2):765-769.
 - (99) Cheng KK, Lam KS, Wang Y et al. Adiponectin-induced endothelial nitric oxide synthase activation and nitric oxide production are mediated by APPL1 in endothelial cells. *Diabetes* 2007; 56(5):1387-1394.
 - (100) Xi W, Satoh H, Kase H, Suzuki K, Hattori Y. Stimulated HSP90 binding to eNOS and activation of the PI3-Akt pathway contribute to globular adiponectin-induced NO production: vasorelaxation in response to globular adiponectin. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 332(1):200-205.
 - (101) Motoshima H, Wu X, Mahadev K, Goldstein BJ. Adiponectin suppresses proliferation and superoxide generation and enhances eNOS activity in endothelial cells treated with oxidized LDL. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 315(2):264-271.

- (102) Ouedraogo R, Wu X, Xu SQ et al. Adiponectin suppression of high-glucose-induced reactive oxygen species in vascular endothelial cells: evidence for involvement of a cAMP signaling pathway. *Diabetes* 2006; 55(6):1840-1846.
- (103) Kobashi C, Urakaze M, Kishida M et al. Adiponectin inhibits endothelial synthesis of interleukin-8. *Circ Res* 2005; 97(12):1245-1252.
- (104) Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2002; 106(22):2767-2770.
- (105) Ouchi N, Kihara S, Arita Y et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000; 102(11):1296-1301.
- (106) Kase H, Hattori Y, Jojima T et al. Globular adiponectin induces adhesion molecule expression through the sphingosine kinase pathway in vascular endothelial cells. *Life Sci* 2007; 81(11):939-943.
- (107) Ouedraogo R, Gong Y, Berzins B et al. Adiponectin deficiency increases leukocyte-endothelium interactions via upregulation of endothelial cell adhesion molecules in vivo. *J Clin Invest* 2007; 117(6):1718-1726.
- (108) Kobayashi H, Ouchi N, Kihara S et al. Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. *Circ Res* 2004; 94(4):e27-e31.
- (109) Lin LY, Lin CY, Su TC, Liao CS. Angiotensin II-induced apoptosis in human endothelial cells is inhibited by adiponectin through restoration of the association between endothelial nitric oxide synthase and heat shock protein 90. *FEBS Lett* 2004; 574(1-3):106-110.
- (110) Yokota T, Oritani K, Takahashi I et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood* 2000; 96(5):1723-1732.
- (111) Wulster-Radcliffe MC, Ajuwon KM, Wang J, Christian JA, Spurlock ME. Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316(3):924-929.
- (112) Park PH, McMullen MR, Huang H, Thakur V, Nagy LE. Short-term treatment of RAW264.7 macrophages with adiponectin increases tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) expression via ERK1/2 activation and Egr-1 expression: role of TNF-alpha in adiponectin-stimulated interleukin-10 production. *J Biol Chem* 2007; 282(30):21695-21703.
- (113) Zhao T, Hou M, Xia M et al. Globular adiponectin decreases leptin-induced tumor necrosis factor-alpha expression by murine macrophages: involvement of cAMP-PKA and MAPK pathways. *Cell Immunol* 2005; 238(1):19-30.
- (114) Thakur V, Pritchard MT, McMullen MR, Nagy LE. Adiponectin normalizes LPS-stimulated TNF-alpha production by rat Kupffer cells after chronic ethanol feeding. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290(5):G998-1007.
- (115) Saijo S, Nagata K, Nakano Y, Tobe T, Kobayashi Y. Inhibition by adiponectin of IL-8 production by human macrophages upon coculturing with late apoptotic cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 334(4):1180-1183.
- (116) Peake PW, Shen Y, Campbell LV, Charlesworth JA. Human adiponectin binds to bacterial lipopolysaccharide. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341(1):108-115.
- (117) Masaie H, Oritani K, Yokota T et al. Adiponectin binds to chemokines via the globular head and modulates interactions between chemokines and heparan sulfates. *Exp Hematol* 2007; 35(6):947-956.

- (118) Yamaguchi N, Argueta JG, Masuhiro Y et al. Adiponectin inhibits Toll-like receptor family-induced signaling. *FEBS Lett* 2005; 579(30):6821-6826.
- (119) Tsatsanis C, Zacharioudaki V, Androulidaki A et al. Adiponectin induces TNF-alpha and IL-6 in macrophages and promotes tolerance to itself and other pro-inflammatory stimuli. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 335(4):1254-1263.
- (120) Kumada M, Kihara S, Ouchi N et al. Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages. *Circulation* 2004; 109(17):2046-2049.
- (121) Choi KM, Ryu OH, Lee KW et al. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 75(2):235-240.
- (122) Ouchi N, Kihara S, Arita Y et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001; 103(8):1057-1063.
- (123) Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114(12):1752-1761.
- (124) Schrijvers DM, De Meyer GR, Herman AG, Martinet W. Phagocytosis in atherosclerosis: Molecular mechanisms and implications for plaque progression and stability. *Cardiovasc Res* 2007; 73(3):470-480.
- (125) Boisvert WA, Rose DM, Boullier A et al. Leukocyte transglutaminase 2 expression limits atherosclerotic lesion size. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(3):563-569.
- (126) Takemura Y, Ouchi N, Shibata R et al. Adiponectin modulates inflammatory reactions via calreticulin receptor-dependent clearance of early apoptotic bodies. *J Clin Invest* 2007; 117(2):375-386.
- (127) Shoji T, Koyama H, Fukumoto S et al. Platelet activation is associated with hypoadiponectinemia and carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006; 188(1):190-195.
- (128) Kato H, Kashiwagi H, Shiraga M et al. Adiponectin acts as an endogenous antithrombotic factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(1):224-230.
- (129) Sogo N, Magid KS, Shaw CA, Webb DJ, Megson IL. Inhibition of human platelet aggregation by nitric oxide donor drugs: relative contribution of cGMP-independent mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279(2):412-419.
- (130) Arita Y, Kihara S, Ouchi N et al. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation* 2002; 105(24):2893-2898.
- (131) Wang Y, Lam KS, Xu JY et al. Adiponectin inhibits cell proliferation by interacting with several growth factors in an oligomerization-dependent manner. *J Biol Chem* 2005; 280(18):18341-18347.
- (132) Matsuda M, Shimomura I, Sata M et al. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis. *J Biol Chem* 2002; 277(40):37487-37491.
- (133) Shibata R, Sato K, Pimentel DR et al. Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through. *Nat Med* 2005; 11(10):1096-1103.
- (134) Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K et al. Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension. *Hypertension* 2004; 43(6):1318-1323.

- (135) Ryo M, Nakamura T, Kihara S et al. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ J* 2004; 68(11):975-981.
- (136) Schulze MB, Rimm EB, Shai I, Rifai N, Hu FB. Relationship between adiponectin and glycemic control, blood lipids, and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(7):1680-1687.
- (137) Kantartzis K, Rittig K, Balletshofer B et al. The relationships of plasma adiponectin with a favorable lipid profile, decreased inflammation, and less ectopic fat accumulation depend on adiposity. *Clin Chem* 2006; 52(10):1934-1942.
- (138) von EM, Hamann A, Twardella D, Nawroth PP, Brenner H, Rothenbacher D. Relationship of adiponectin with markers of systemic inflammation, atherogenic dyslipidemia, and heart failure in patients with coronary heart disease. *Clin Chem* 2006; 52(5):853-859.
- (139) Okada T, Saito E, Kuromori Y et al. Relationship between serum adiponectin level and lipid composition in each lipoprotein fraction in adolescent children. *Atherosclerosis* 2006; 188(1):179-183.
- (140) Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003; 46(4):459-469.
- (141) Baratta R, Amato S, Degano C et al. Adiponectin relationship with lipid metabolism is independent of body fat mass: evidence from both cross-sectional and intervention studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6):2665-2671.
- (142) Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem* 2003; 278(4):2461-2468.
- (143) Adiels M, Taskinen MR, Packard C et al. Overproduction of large VLDL particles is driven by increased liver fat content in man. *Diabetologia* 2006; 49(4):755-765.
- (144) Ng TW, Watts GF, Farvid MS, Chan DC, Barrett PH. Adipocytokines and VLDL metabolism: independent regulatory effects of adiponectin, insulin resistance, and fat compartments on VLDL apolipoprotein B-100 kinetics? *Diabetes* 2005; 54(3):795-802.
- (145) Chan DC, Watts GF, Ng TW et al. Adiponectin and other adipocytokines as predictors of markers of triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Clin Chem* 2005; 51(3):578-585.
- (146) Yue L, Rasouli N, Ranganathan G, Kern PA, Mazzone T. Divergent effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists and tumor necrosis factor alpha on adipocyte ApoE expression. *J Biol Chem* 2004; 279(46):47626-47632.
- (147) Mahley RW, Ji ZS. Remnant lipoprotein metabolism: key pathways involving cell-surface heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *J Lipid Res* 1999; 40(1):1-16.
- (148) Qi Y, Takahashi N, Hileman SM et al. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nat Med* 2004; 10(5):524-529.
- (149) Reaven GM. The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment. *Annu Rev Nutr* 2005; 25:391-406.
- (150) Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15(7):539-553.

- (151) Weiss R, Dufour S, Taksali SE et al. Prediabetes in obese youth: a syndrome of impaired glucose tolerance, severe insulin resistance, and altered myocellular and abdominal fat partitioning. *Lancet* 2003; 362(9388):951-957.
- (152) Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem* 2002; 277(29):25863-25866.
- (153) Hotta K, Funahashi T, Arita Y et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(6):1595-1599.
- (154) Yang WS, Lee WJ, Funahashi T et al. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(8):3815-3819.
- (155) Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(1):85-89.
- (156) Aguilera CM, Gil-Campos M, Canete R, Gil A. Alterations in plasma and tissue lipids associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114(3):183-193.
- (157) Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G et al. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(1):134-141.
- (158) Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004; 291(14):1730-1737.
- (159) Lawlor DA, Davey SG, Ebrahim S, Thompson C, Sattar N. Plasma adiponectin levels are associated with insulin resistance, but do not predict future risk of coronary heart disease in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(10):5677-5683.
- (160) Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N et al. Adiponectin and coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Circulation* 2006; 114(7):623-629.
- (161) Cavusoglu E, Ruwende C, Chopra V et al. Adiponectin is an independent predictor of all-cause mortality, cardiac mortality, and myocardial infarction in patients presenting with chest pain. *Eur Heart J* 2006; 27(19):2300-2309.
- (162) Nakano Y, Tajima S, Yoshimi A et al. A novel enzyme-linked immunosorbent assay specific for high-molecular-weight adiponectin. *J Lipid Res* 2006; 47(7):1572-1582.
- (163) Kaser S, Tatarczyk T, Stadlmayr A et al. Effect of obesity and insulin sensitivity on adiponectin isoform distribution. *Eur J Clin Invest* 2008; 38(11):827-834.
- (164) Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster. *Diabetes* 2006; 55(1):249-259.
- (165) Wang ZV, Schraw TD, Kim JY et al. Secretion of the adipocyte-specific secretory protein adiponectin critically depends on thiol-mediated protein retention. *Mol Cell Biol* 2007; 27(10):3716-3731.
- (166) Alberini CM, Bet P, Milstein C, Sitia R. Secretion of immunoglobulin M assembly intermediates in the presence of reducing agents. *Nature* 1990; 347(6292):485-487.
- (167) Anelli T, Alessio M, Bachi A et al. Thiol-mediated protein retention in the endoplasmic reticulum: the role of ERp44. *EMBO J* 2003; 22(19):5015-5022.
- (168) Qiang L, Wang H, Farmer SR. Adiponectin secretion is regulated by SIRT1 and the endoplasmic reticulum oxidoreductase Ero1-L alpha. *Mol Cell Biol* 2007; 27(13):4698-4707.

- (169) Kubota N, Yano W, Kubota T et al. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab* 2007; 6(1):55-68.
- (170) Ebinuma H, Miida T, Yamauchi T et al. Improved ELISA for selective measurement of adiponectin multimers and identification of adiponectin in human cerebrospinal fluid. *Clin Chem* 2007; 53(8):1541-1544.
- (171) Kusminski CM, McTernan PG, Schraw T et al. Adiponectin complexes in human cerebrospinal fluid: distinct complex distribution from serum. *Diabetologia* 2007; 50(3):634-642.
- (172) von EM, Humpert PM, Bluemm A et al. High-molecular weight adiponectin is independently associated with the extent of coronary artery disease in men. *Atherosclerosis* 2008; 199(1):123-128.
- (173) Tsushima M, Terayama Y, Momose A, Funyu T, Ohyama C. Progression of atherosclerosis in hemodialysis patients: effect of adiponectin on carotid intima media thickness. *J Atheroscler Thromb* 2008; 15(4):213-218.
- (174) Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Staels B. Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPARalpha, PPARgamma, and LXR. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 314(1):151-158.
- (175) Wang Y, Lu G, Wong WP et al. Proteomic and functional characterization of endogenous adiponectin purified from fetal bovine serum. *Proteomics* 2004; 4(12):3933-3942.
- (176) Richards AA, Stephens T, Charlton HK et al. Adiponectin multimerization is dependent on conserved lysines in the collagenous domain: evidence for regulation of multimerization by alterations in posttranslational modifications. *Mol Endocrinol* 2006; 20(7):1673-1687.
- (177) Passoja K, Rautavuoma K, Ia-Kokko L, Kosonen T, Kivirikko KI. Cloning and characterization of a third human lysyl hydroxylase isoform. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(18):10482-10486.
- (178) Liu M, Zhou L, Xu A et al. A disulfide-bond A oxidoreductase-like protein (DsbA-L) regulates adiponectin multimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(47):18302-18307.
- (179) Banga A, Bodles AM, Rasouli N, Ranganathan G, Kern PA, Owens RJ. Calcium is involved in formation of high molecular weight adiponectin. *Metab Syndr Relat Disord* 2008; 6(2):103-111.
- (180) Huang ZY, Wu Y, Hedrick N, Gutmann DH. T-cadherin-mediated cell growth regulation involves G2 phase arrest and requires p21(CIP1/WAF1) expression. *Mol Cell Biol* 2003; 23(2):566-578.
- (181) Eiras S, Teijeira-Fernandez E, Shamagian LG, Fernandez AL, Vazquez-Boquete A, Gonzalez-Juanatey JR. Extension of coronary artery disease is associated with increased IL-6 and decreased adiponectin gene expression in epicardial adipose tissue. *Cytokine* 2008; 43(2):174-180.
- (182) Semple RK, Halberg NH, Burling K et al. Paradoxical elevation of high-molecular weight adiponectin in acquired extreme insulin resistance due to insulin receptor antibodies. *Diabetes* 2007; 56(6):1712-1717.
- (183) Sattar N, Watt P, Cherry L, Ebrahim S, Davey SG, Lawlor DA. High molecular weight adiponectin is not associated with incident coronary heart disease in older women: a nested prospective case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(5):1846-1849.

-
- (184) Xu A, Chan KW, Hoo RL et al. Testosterone selectively reduces the high molecular weight form of adiponectin by inhibiting its secretion from adipocytes. *J Biol Chem* 2005; 280(18):18073-18080.
 - (185) Shibata R, Numaguchi Y, Matsushita K et al. Usefulness of adiponectin to predict myocardial salvage following successful reperfusion in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2008; 101(12):1712-1715.
 - (186) Maeda N, Takahashi M, Funahashi T et al. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 2001; 50(9):2094-2099.
 - (187) Hoo RL, Chow WS, Yau MH et al. Adiponectin mediates the suppressive effect of rosiglitazone on plasminogen activator inhibitor-1 production. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(12):2777-2782.
 - (188) Patel SR, Mailloux LM, Coppola JT, Mindrescu C, Staniloae CS. Pioglitazone increases adiponectin levels in nondiabetic patients with coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 2008; 19(5):349-353.
 - (189) Wang Y, Lam KS, Chan L et al. Post-translational modifications of the four conserved lysine residues within the collagenous domain of adiponectin are required for the formation of its high molecular weight oligomeric complex. *J Biol Chem* 2006; 281(24):16391-16400.
 - (190) Suzuki S, Wilson-Kubalek EM, Wert D, Tsao TS, Lee DH. The oligomeric structure of high molecular weight adiponectin. *FEBS Lett* 2007; 58814.
 - (191) Bobbert T, Wegewitz U, Brechtel L et al. Adiponectin oligomers in human serum during acute and chronic exercise: relation to lipid metabolism and insulin sensitivity. *Int J Sports Med* 2007; 28(1):1-8.
 - (192) Salani B, Briatore L, Andraghetti G, Adami GF, Maggi D, Cordera R. High-molecular weight adiponectin isoforms increase after biliopancreatic diversion in obese subjects. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14(9):1511-1514.
 - (193) Swarbrick MM, Ustheim-Smith IT, Stanhope KL et al. Circulating concentrations of high-molecular-weight adiponectin are increased following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Diabetologia* 2006; 49(11):2552-2558.

7. Anhang

7.1 Labormaterial

- Eppendorf Pipette 300µl
(Eppendorf, Nethler Hinz GMBH, 22331 Hamburg)
- Eppendorf Multipipette plus
- Combitips plus 5ml, Eppendorf
(Nethler Hinz GMBH, 22331 Hamburg)
- Combitips plus 10ml, Eppendorf
(Nethler Hinz GMBH, 22331 Hamburg)
- Pipetman 200ul
(Gilson, Frankreich)
- Serologische Pipetten 10ml, steril
(SARSTEDT, 51588 Nümbrecht)
- Pipettierakku: Pipetus-Akku
(Hirschmann Laborgeräte Germany)
- Pipettierakku: Eppendorf Easypet
- LTS Pipetten: 10µ/20µl/100µl/200µl/1000µl
(Rainin, 7500 Edgewater Drive Oakland, CA 94621-3027)
- Pipettenspitzen: bioclean precision pipette tips 10µ/20µl/100µl/200µl/1000µl
(Rainin, 7500 Edgewater Drive Oakland, CA 94621-3027)
- Pipettenspitzen: Multi-Flex® 0,5-200µl, Ecoflex® Tips
(Carl Roth GMBH+CO, 76185 Karlsruhe)
- Microtube Vol: 1,5ml
(Sarstedt, 51588 Nümbrecht)
- Glasbehälter Vol: 1000ml
(Schott Duran)
- Seal-Applikator
- Kunststoffständer für Microtubes
- Handschuhe: Peha-Soft Powderfree
(Paul Hartmann AG, 89522 Heidenheim)

7.2 Substanzen und Reagenzien

- Destilliertes Wasser
- Adiponectin (Multimeric) EIA, Katalog Nummer: 47-ADPH-9755, 96 wells
Chargen Nummer: 007REE bzw. 008RGE
(ALPCO Diagnostics, 26 Keewaydin Drive Unit G, Salem, NH 03079)
 - Waschpufferkonzentrat: Phosphatpuffer (pH 7,2)
 - Sample pre-treatment Puffer: Zitratpuffer (pH 3,0) beinhaltet SDS
 - Dilution Puffer: Phosphatpuffer (pH 7,2) beinhaltet BSA
 - 96 well Platte bedeckt mit monoklonalen Anti-human Adiponektin Maus Antikörpern
 - Kalibrator: Humanserum, stabilisiert in sample pre-treatment Puffer
 - Biotin gebunden an monoklonales Anti-human Adiponektin
 - Enzym gebundenes Streptavidin: Horse-radish peroxidase (HRP)-gebundenes Streptavidin
 - Substrat: O-Phenylenediamine
 - Substratpuffer: Zitratpuffer (pH 5.0) beinhaltet H₂O₂
 - Stopreagens: 7,7% H₂SO₄
 - Protease 1
 - Protease 2
 - Protease-Puffer: Trispuffer (pH 8,0)
 - 3 Versiegelungsfolien

7.3 Technische Geräte

- Vortexer: Vortex-Genie 2
(Scientific Industries INC, Bohemia, N.Y., 11716; USA)
- Vortexer: Merck eurolab
- Inkubator: Blockthermostat BT 1301
(Scientific Plastics, Europe, LTD, Great Britain)
- Inkubator: Eppendorf Thermomixer compact

- Extinktionsbestimmung: Molecular Devices, Emax-precision microplate reader (MWG-Biotech, Gesellschaft für angewandte Biotechnologie mbH)
- Kühlgerät: Siemens Comfort Plus no frost (-20 °C)
- Kühlgerät: Herafreeze (-80 °C)
(Heraeus Sepatech GMBH, D-37502)

7.4 Software

- Microsoft Excel 2000
- Softmax, Version 2.34
(Molecular Devices Corporation)
- JMP IN 5.1
- Reference Manager 11

8. Danksagung

Das Gelingen dieser Arbeit beruht maßgeblich auf der Hilfe und Unterstützung einiger bisher nicht genannter Personen. Ich möchte es jedoch nicht versäumen meine Dankbarkeit hier zum Ausdruck zu bringen.

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Christian Hengstenberg danken.

Zum einen für die Überlassung und Ermöglichung dieser Arbeit; zum anderen für die intensive, professionelle und persönliche Betreuung dieses Projektes.

Herr Prof. Dr. med. Hengstenberg stand mir jederzeit in Rat und Tat mit aussergewöhnlichem Engagement sowohl bei der experimentellen als auch formalen Gestaltung der Arbeit zur Seite.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau P.D. Dr. med. Bässler für die umfassende Unterstützung in der Planung und Durchführung dieses Projektes.

Hervorheben möchte ich auch Herrn Dr. Klaus Stark und Frau Martina Köhler, die mir in technischen und praktischen Fragen stets wertvolle Ratschläge gaben.

9. Lebenslauf

Am 7. März 1984 wurde ich als zweites vierer Kinder der Internisten Dr. med. Martin und Dr. med. Rita Schloßbauer in Amberg geboren.

Von 1990 bis 1994 besuchte ich die Grundschule in Bad Kötzing, der sich meine Gymnasialzeit bis zum Jahr 2003 anschloss.

Im Frühjahr 2003 legte ich das Abitur ab, wurde mit dem Apollinaire Preis 2003 ausgezeichnet und erlangte das Stipendium zur Hochbegabtenförderung des Freistaates Bayern.

Im Herbst desselben Jahres begann ich das Studium der Humanmedizin an der Universität Regensburg.

Den vorklinischen Studienabschnitt konnte ich im Sommer des Jahres 2005 mit dem ersten Staatsexamen beschließen und wurde kurz darauf in das Max Weber-Programm des Freistaates Bayern zur Hochbegabtenförderung nach dem Bayerischen Elitförderungsgesetz aufgenommen.

Meine Famulaturen leistete ich in den Fächern Innere Medizin/Kardiologie (Universitätsklinikum Regensburg, 2006), pädiatrische Onkologie (Klinikum St. Hedwig, Regensburg, 2007), Ophthalmologie (Universitätsklinikum Regensburg, 2007) und Innerer Medizin (Praxis Drs. Schloßbauer, Bad Kötzing, 2007) ab.

Während aller Abschnitte des praktischen Jahres (Innere Medizin, Chirurgie sowie das Wahlfach Anästhesiologie) sammelte ich Erfahrungen in dem Klinikum der Università Vita-Salute San Raffaele in Mailand.

2009 beendete ich mein Studium der Humanmedizin durch erfolgreiches Ablegen des 2. Staatsexamens.

Seit dem Frühjahr 2010 bin ich im Rahmen der Weiterbildung zur Fachärztin für Kardiologie als Assistenzärztin in der Klinik für Erwachsenenkardiologie am Deutschen Herzzentrum in München sowie der 1. Medizinischen Klinik des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München tätig.

