

AUS DEM LEHRSTUHL DER
KLINIK UND POLIKLINIK FÜR INNERE MEDIZIN I
DIREKTOR: PROF. Dr. J. SCHÖLMERICH
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Einfluss von CORS-26 und Parametern des
Lipoproteinmetabolismus auf die
Monozytenaktivierung bei Patienten
mit Diabetes mellitus Typ 2**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Margarita Bala

2009

AUS DEM LEHRSTUHL DER
KLINIK UND POLIKLINIK FÜR INNERE MEDIZIN I
DIREKTOR: PROF. Dr. J. SCHÖLMERICH
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Einfluss von CORS-26 und Parametern des
Lipoproteinmetabolismus auf die
Monozytenaktivierung bei Patienten
mit Diabetes mellitus Typ 2**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Margarita Bala

2009

Dekan: Prof. Dr. Bernhard Weber

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Andreas Schäffler
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Pompiliu Piso
3. Tag der mündlichen Prüfung: 12.08.2009

Für meine Familie

„Die Menschen streben von Natur nach Wissen“

«Πάντες άνθρωποι φύσει ορέγονται τοῦ εἰδέναι»

Aristoteles (384-322 v. Chr.)

griechischer Philosoph

Metaphysik I 21, 980a

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen.....	9
Abkürzungsverzeichnis.....	11

1. Einleitung

1.1 Das Fettgewebe als endokrines Organ.....	13
1.2 Adipozytokine.....	15
1.3 Die C1q/TNF-Superfamilie.....	17
1.4 Adiponektin.....	19
1.5 Das Adiponektinparaloge CORS-26 (CTRP-3).....	22
1.6 Die Monozytenfunktion bei Diabetes mellitus Typ 2.....	24
1.6.1 Monozyten und Fettgewebe.....	24
1.6.2 Monozyten und Entzündung.....	25
1.6.3 Monozyten und Atherosklerose.....	27
1.7 Zielsetzung und Hypothese.....	28

2. Material und Methoden

2.1 Geräte und Materialien.....	29
2.2 Auswahl des Studienkollektives.....	30
2.3 Methoden.....	30
2.3.1 Isolierung der humanen Monozyten aus Vollblut.....	30
2.3.2 Kultivierung der Monozyten.....	32
2.3.3 Stimulationsexperimente.....	32
a. Versuchsansatz <u>mit LPS</u>	32
b. Versuchsansatz <u>mit CORS-26</u>	33
c. Versuchsansatz <u>mit LPS und CORS-26</u>	33
d. Versuchsansatz <u>Kontrolle</u>	33
2.3.4 Bestimmung von Zytokinen und Chemokinen.....	34
2.3.5 Bestimmung der Routineparameter.....	34
2.3.6 Statistik.....	34

3. Ergebnisse

3.1	Charakteristika des Studienkollektives.....	35
3.2	Stimulationsexperimente bei T2D Monozyten.....	37
3.3.	Korrelation des LPS-stimulierten TNF mit dem Gesamtcholesterin...	38
	a. Stimulation mit LPS.....	38
	b. Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	39
3.4.	Korrelation des LPS-stimulierten TNF mit dem LDL-Cholesterin.....	40
	a. Stimulation mit LPS.....	40
	b. Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	41
3.5.	Korrelation des LPS-stimulierten TNF mit dem HDL-Cholesterin.....	42
3.6.	Korrelation des LPS-stimulierten TNF mit den Triglyzeriden.....	43
3.7.	Korrelation des LPS-stimulierten IL-6 mit dem Gesamtcholesterin..	44
3.8.	Korrelation des LPS-stimulierten IL-6 mit dem LDL-Cholesterin.....	45
3.9.	Korrelation des LPS-stimulierten IL-6 mit dem HDL-Cholesterin.....	46
3.10.	Korrelation des LPS-stimulierten IL-6 mit den Triglyzeriden.....	47
3.11.	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	48

Diskussion

4.1.	Fettgewebe, Monozyten und die Verbindung zwischen Stoffwechsel und Immunität.....	48
4.2.	Diabetes mellitus Typ 2, eine Erkrankung des angeborenen Immunsystems?.....	52
4.3.	Einfluss des Lipidstoffwechsels auf die proinflammatorische Aktivierbarkeit von Monozyten bei Diabetes mellitus.....	54

5.	Zusammenfassung.....	59
-----------	-----------------------------	-----------

6.	Literaturverzeichnis	60
-----------	-----------------------------------	-----------

	Erklärung.....	67
--	-----------------------	-----------

	Danksankung.....	69
--	-------------------------	-----------

	Lebenslauf.....	70
--	------------------------	-----------

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

Abb. 1. Schematische Representation des weissen Fettgewebes.....	13
Abb. 2. Die Umwandlung von mesenchymalen Stammzellen in reife Adipozyten.....	14
Abb. 3. Adipozytokine und ihre endokrine Funktion.....	16
Abb. 4. Molekulare Struktur einiger Mitglieder der C1q TNF-Superfamilie.....	18
Abb. 5. Adiponektin und seine Effekte auf Metabolismus und wichtige pro- bzw. antiinflammatorische Zytokine.....	20
Abb. 6. Protein-Struktur von Adiponektin und CORS-26.....	23
Abb. 7. Ähnlichkeit zwischen Adipozyten und Makrophagen.....	24
Abb. 8. LPS-induzierte Zytokinproduktion in Monozyten.....	26
Abb. 9. Die Rolle der Makrophagen bei der Entstehung der Atherosklerose.....	31
Abb. 10. Separation von Vollblut.....	38
Abb. 11. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem Gesamtcholesterin nach Stimulation mit LPS.....	39
Abb. 12. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem Gesamtcholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	40
Abb. 13. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem LDL-Cholesterin nach Stimulation mit LPS.....	41
Abb. 14. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem LDL-Cholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	42
Abb. 15. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem HDL-Cholesterin nach Stimulation mit LPS.....	43
Abb. 16. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem HDL-Cholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	43
Abb. 17. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit den Triglyzeriden nach Stimulation mit LPS.....	44

Abb. 18. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit den Triglyzeriden nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	44
Abb. 19. Korrelation von IL-6 mit dem Gesamtcholesterin nach Stimulation mit LPS.....	45
Abb. 20. Korrelation von IL-6 mit dem Gesamtcholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	45
Abb. 21. Korrelation von IL-6 mit dem LDL-Cholesterin nach Stimulation mit LPS.....	46
Abb. 22. Korrelation von IL-6 mit dem LDL-Cholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	46
Abb. 23. Korrelation von IL-6 mit dem HDL-Cholesterin nach Stimulation mit LPS.....	47
Abb. 24. Korrelation von IL-6 mit dem HDL-Cholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	47
Abb. 25. Korrelation von IL-6 mit den Triglyzeriden nach Stimulation mit LPS.....	48
Abb. 26. Korrelation von IL-6 mit den Triglyzeriden nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS.....	48
Abb. 27. Zusammenspiel von Makrophagen und Adipozyten.....	50
Abb. 28. Die Interaktion zwischen LPS und den Serum-Lipoproteinen.	54

Tabellen

Tabelle 1. Regulation der Adiponektin-Serumspiegel.....	21
Tabelle 2. Charakteristika des Studienkollektives.....	36
Tabelle 3. Stimulationsexperimente bei T2D Monozyten.....	37
Tabelle 4. Das Fettgewebe als Teil des Immunsystems.....	49

Abkürzungsverzeichnis

Im Folgenden sind die in dieser Arbeit verwendeten Abkürzungen aufgeführt.

Abb.	Abbildung
ACC	acetyl-CoA carboxylase
ACE	Angiotensin-converting enzyme
Acrp30	adipocyte complement-related protein of 30 kDa
AdipoR	Adiponektin-Rezeptor
AMP	adenosine monophosphate
apM1	the adipose most abundant gene transcript 1
BMI	Body Mass index
CCR2	C-C-motif chemokine receptor-2
CCL2	C-C-chemokine ligand 2
CD14	cell surface receptor and differentiation marker 14
CORS-26	Collagenous Repeat-Containing Sequence of 26 kDa Protein
CRP	c-reactive protein
C-Terminus	Carboxyterminus
CTRP	C1q/Tumor necrosis factor-related proteins
C1q / r / s	complement factor 1q / r / s
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinase
FFA	free fatty acids
GBP28	gelatin-binding protein of 28 kDa
Glut-4	glucose transporter 4
HDL	High-Density Lipoprotein
HMW	High Molecular Weight
IFNγ	Interferon γ
IGF-1	insulin-like growth factor 1
IgG / M	Immunoglobulin G / M

IKK	inhibitor of kappaB kinase
IL-1RA	interleukin 1 receptor antagonist
kDa	kilodalton
LBP	LPS-binding Protein
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
mRNA	Messenger-RNA
NF-kB	nuclear factor kappa B
N-Terminus	Aminoterminal
oxLDL	Oxidiertes LDL
PAI-1	plasminogen activator inhibitor-1
PKC	Protein Kinase C
PPAR	peroxisome-proliferator-activated receptor
PPRE	peroxisome proliferator response element
PRR	pattern recognition receptor
RBP	retinol-binding protein
rpm	rounds per minute
RPMI-Medium	Roswell Park Memorial Institute Medium
SEM	standard error of the mean
TLR4	Toll-Like Receptor 4
TNFα	Tumor Nekrose Faktor α
T2D	Diabetes mellitus Typ 2
WBC	White blood cells

1. Einleitung

1.1 Das Fettgewebe als endokrines Organ

In den letzten 15 Jahren hat sich unsere Vorstellung von der Funktion der Fettzellen wesentlich geändert. Das Fettgewebe ist nicht nur als Energiedepot für die Speicherung der Triglyzeride wichtig, sondern stellt ein echtes endokrines Organ dar; das größte endokrine Organ der Körpers. 1987 wurde das Fettgewebe als Hauptort des Sexualsteroid-Stoffwechsels identifiziert (1). 1993 wurde festgestellt, dass $\text{TNF}\alpha$ - ein Molekül, das eine wichtige Rolle für die Induktion von Insulinresistenz spielt - von Adipozyten produziert wird (2). 1994 konnte gezeigt werden, dass das von Adipozyten produzierte Leptin (griechisch *leptos* = dünn) eine Hauptrolle als Sättigungshormon bei der hypothalamischen Körpergewichtsregulation spielt (3). Neben Leptin und $\text{TNF}\alpha$ werden zahlreiche andere Substanzen von Adipozyten freigesetzt. Die Regulation der Adipozytenfunktion erfolgt nicht nur durch exogene Hormone (z.B. Insulin oder Katecholamine) sondern auch durch biologisch aktive Verbindungen, die das Fettgewebe selbst sezerniert (=Parakrinie).

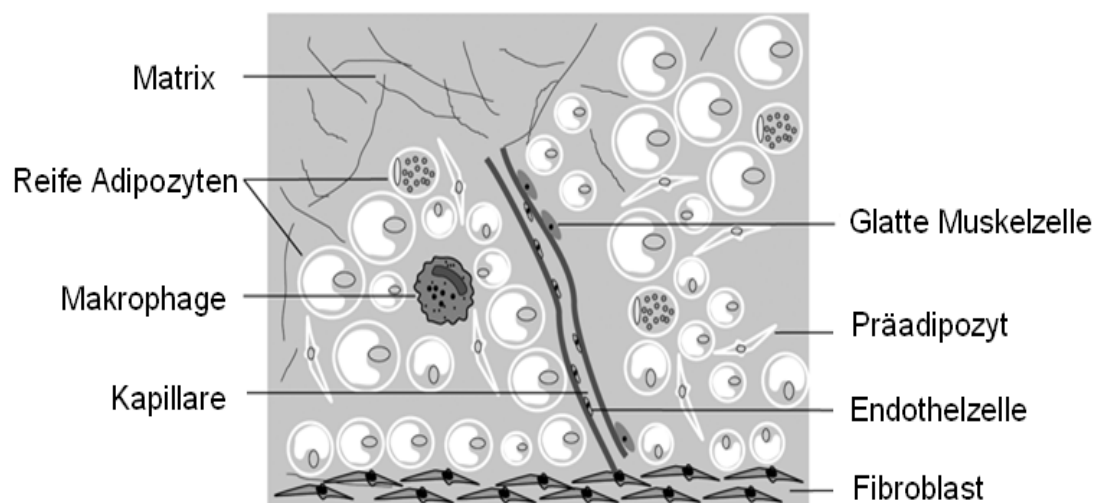


Abb. 1. Schematische Representation des weissen Fettgewebes

[Nach Schäffler et al. 2005]

Man unterscheidet zwei verschiedene Arten von Fettgewebe: Das weiße Fettgewebe (Speicher für Energie) und das braune Fettgewebe (Regulation der Körpertemperatur). Das braune Fettgewebe bildet sich bei Menschen nach der Neugeborenenphase fast vollständig zurück. Das weiße Fettgewebe enthält Adipozyten, Präadipozyten, Fibroblasten, Monozyten, Makrophagen, Endothelzellen, glatte Gefäßmuskelzellen und mesenchymale Stammzellen (Abb. 1) (4).

Aus den mesenchymalen Stammzellen und Präadipozyten können während der gesamten Lebensdauer reife Adipozyten gebildet werden (vor allem durch "Überladung" mit Triglyzeriden). Gleichzeitig können Adipozyten durch Apoptose eliminiert werden. Eingewanderte Fettgewebs-Makrophagen stammen aus dem Knochenmark und die Makrophagen-Akkumulation korreliert direkt mit dem Adipositas-Grad (5). Studien zeigen eine signifikante Diapedese von Blut-Monozyten in das viszerale Fettgewebe und deren Transformation in Makrophagen (5).

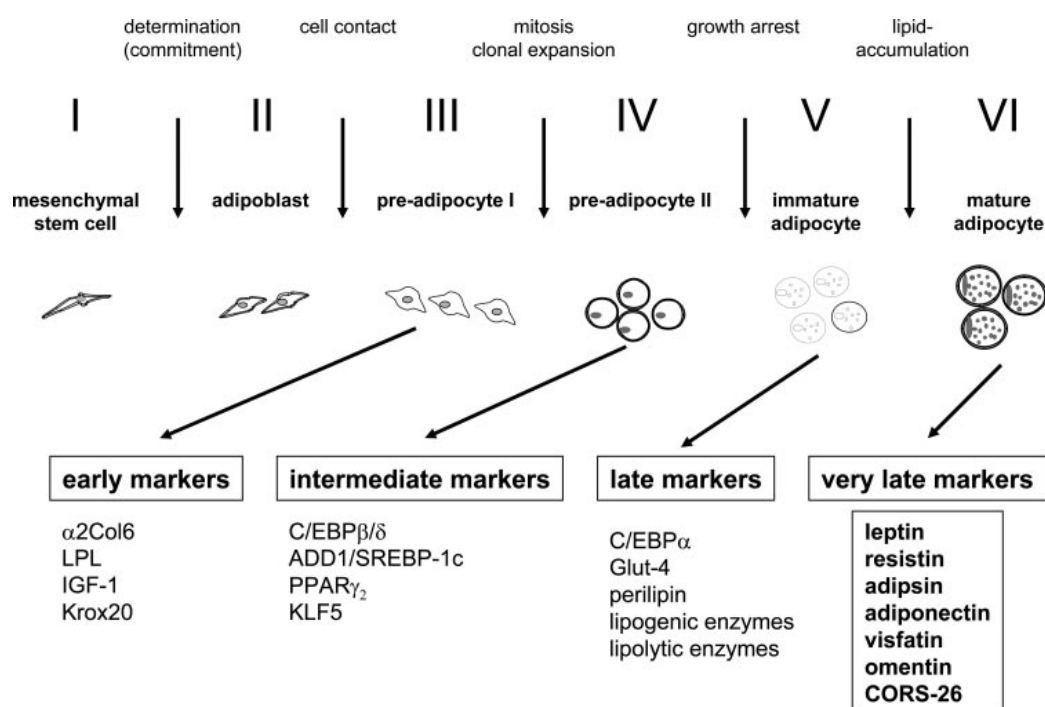


Abb. 2. Die Umwandlung von mesenchymalen Stammzellen in reife Adipozyten (6)

Die Umwandlung von mesenchymalen Stammzellen in Präadipozyten und deren nachfolgende Proliferation und Differenzierung wird durch verschiedene endokrine, parakrine und autokrine Faktoren reguliert (Abb. 2) (6).

Die wichtigste endokrine Funktion des Fettgewebes wird durch die metabolische Konsequenzen der Adipositas dargestellt. Adipositas ist durch eine Volumenzunahme des Fettgewebes charakterisiert; diese ist entweder durch eine Adipozytenhypertrophie oder eine Kombination aus Adipozytenhypertrophie und – hyperplasie bedingt. Die Zunahme der Fettgewebssmasse korreliert mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Insulinresistenz, Hyperglykämie, Dyslipidämie und arteriellen Hypertonie sowie eines Diabetes mellitus Typ 2 (=metabolisches Syndrom) (7). Dieser Zusammenhang liegt wahrscheinlich an einer verstärkten Freisetzung von Substanzen aus dem Fettgewebe, die den Energiehaushalt regulieren.

Die Sekretionsprodukte des Fettgewebes sind zum Teil als endokrine Botenstoffen anzusehen und unterhalten einen Crosstalk zwischen Fettgewebe und anderen Körperorganen (z.B. Hypothalamus, Nebennieren, pankreatische β -Zellen, Leber, Endothel, Immunzellen). Die Adipozyten stehen nicht einseitig unter dem Einfluss von Hormonen und nervalen Einflüssen, sondern sind aktiver Teil einer endokrinen „Drüse“. Das Fettgewebe steht im Zentrum eines komplexen hormonellen Systems und die potentielle Existenz einer Hypothalamus-Hypophyse-Fettgewebe Achse wird bereits diskutiert (8).

1.2 Adipozytokine

Die Sekretionsprodukte des Fettgewebes werden als Adipozytokine bezeichnet und kontrollieren die Nahrungsaufnahme, die Thermogenese, das Immunsystem und neuroendokrine Funktionen (9). Die Adipozytokine regulieren über den Appetit und den Energieumsatz das Körpergewicht.

Zudem beeinflussen sie die Insulinempfindlichkeit von Leber und Muskulatur, die Blutgerinnung, den Tonus der Gefäße und sind mit metabolischen, thromboembolischen und kardiovaskulären Ereignissen assoziiert. Der Begriff „Adipozytokine“ beschreibt Hormone, Peptide, Proteine und Zytokine, die in der Regel von den Adipozyten freigesetzt werden (Abb. 3). Es ist jedoch zu beachten, dass nicht alle Zytokine ausschließlich von Fettzellen sezerniert werden (10).

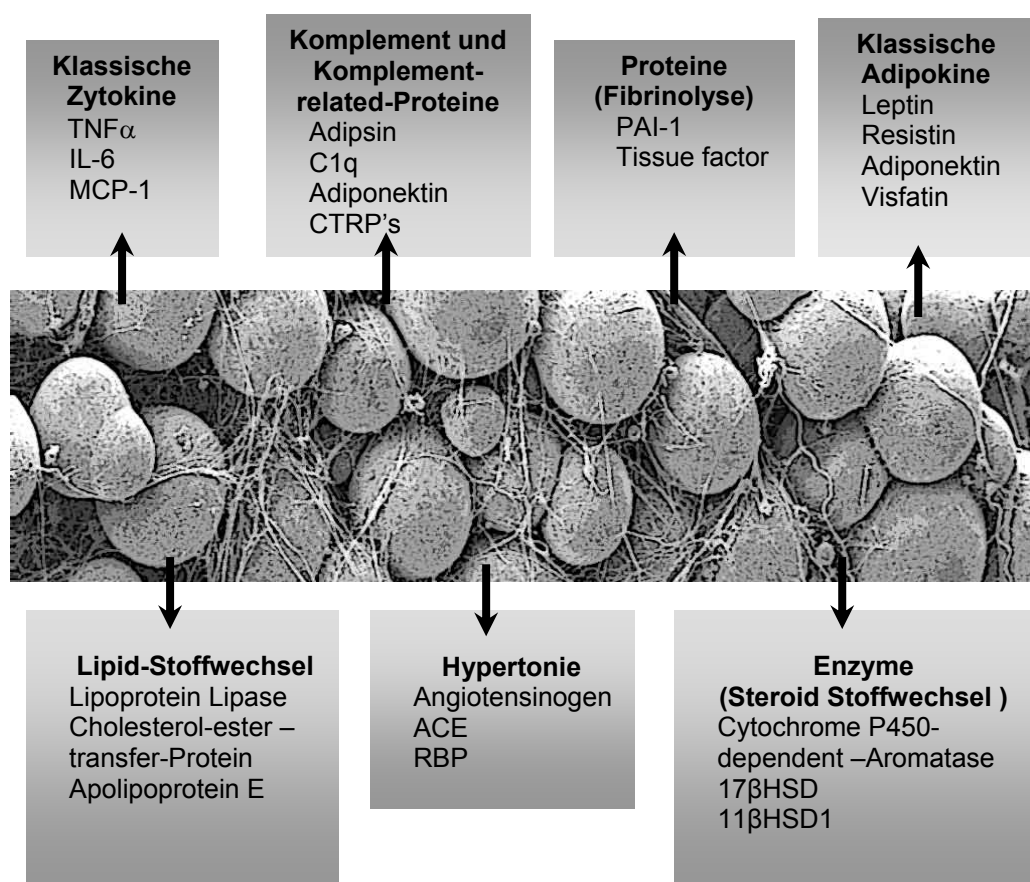


Abb. 3. Adipozytokine und ihre endokrine Funktion

Die Adipokine erfüllen wichtige Funktionen im Körper (10-12):

1. Regulation des Immunsystems (z.B. Zytokine mit pro- oder anti-inflammatorischer Wirkung, Chemokine, Komplementfaktoren).
2. Beeinflussung der Gefäßneubildung und Regulation des Blutdrucks (z.B. Angiotensin, Leptin durch Sympathikusaktivierung).

3. Beeinflussung der Gerinnung und Fibrinolyse (z.B. PAI-1, „tissue factor“).
4. Regulation der Insulinsensitivität (Leptin, Adiponektin, Visfatin).
5. Regulation des Lipidstoffwechsels (Triglyzerid-Speicher, Lipolyse, Lipogenese, FFA).

Im Folgenden werden einige Sekretionsprodukte von Adipozyten, die besonders bei Adipositas und Diabetes mellitus eine wichtige Rolle spielen, näher beschrieben.

1.3 Die C1q/TNF-Superfamilie

C1q ist das Zielerkennungsprotein des klassischen Komplementweges und repräsentiert eine Verbindung zwischen angeborener und erworbener Immunität. C1q besteht in seiner Grundstruktur aus drei Peptidketten, die sich mit ihren Kollagen-ähnlichen N-terminalen Regionen in Form einer Tripel-Helix zusammenlagern und globuläre C-terminale Enden ausbilden. Diese Trimere oligomerisieren und bilden das sogenannte „Bouquet of Flowers“. C1q besteht aus insgesamt sechs dieser heterotrimeren Untereinheiten. Die Kollagen-ähnlichen Regionen von C1q reagieren mit C1r und C1s, die globulären C-terminalen Enden mit den Fc-Domänen von IgG- oder IgM-Immunglobulinen, falls diese gleichseitig Antigene gebunden haben (Immunkomplexe) (13). Die C1q Liganden werden mittels einer globulären Domäne von 140 Aminosäure erkannt (gC1q Domäne).

Als 1998 die Struktur des **Adiponektins** mit seiner homotrimären gC1q-Domäne aufgeklärt wurde, ergab sich, dass das Molekül auch eine unerwartete Ähnlichkeit zur TNF-Familie zeigte. Der bereits im Jahre 1975 isolierte Tumor-Nekrose-Faktor (**TNF α**) war das erste Mitglied, und damit Namensgeber für die TNF Familie von Zytokinen und deren Rezeptoren. Die Mitglieder der TNF Familie steuern viele Aspekte der Entzündung, Immunität,

Apoptose sowie Energie-Homeostase, und entwickelten sich aus einem Vorläufermolekül des angeborenen Immunsystems (14). Dementsprechend sind die C1q-Komplementkomponenten sowie die TNF-Liganden evolutionär aus einem gemeinsamen Präkursor Molekül des „ancient innate immune System“ hervorgegangen.

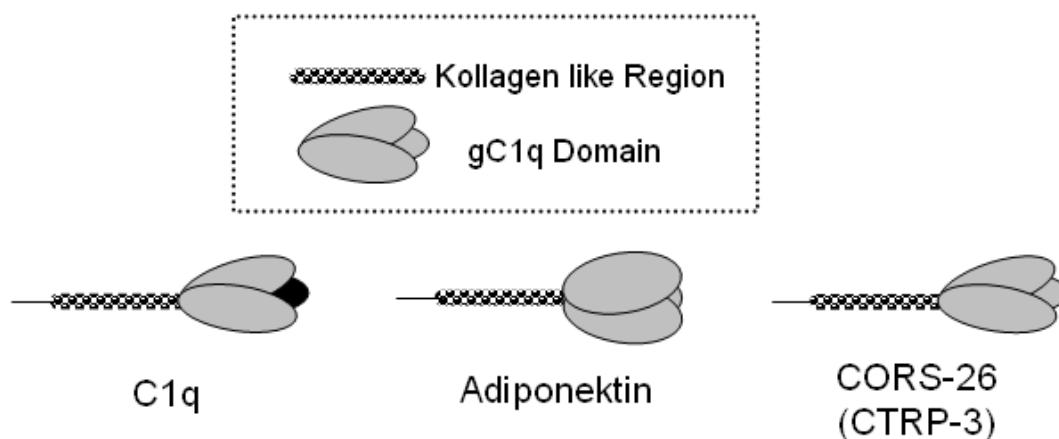


Abb. 4. Molekulare Struktur einiger Mitglieder der C1q TNF Superfamilie

Die Mitglieder dieser kürzlich entdeckten C1q/TNF Familie weisen eine Ähnlichkeit sowohl in der Genstruktur als auch in der Proteinstruktur auf. **C1q** besteht aus 6 Heterotrimeren (18 polypeptidische Kette) während **Adiponektin** aus 4 Homotrimeren (12 polypeptidische Kette) besteht. Beide haben eine kollagene Domäne mit 22-Gly-X-Y Triplets (Abb. 4) (15;16). **TNF α** besitzt eine stielförmige glycin- und prolinreiche Domäne und bildet bevorzugt trimere Isoformen aus.

Kürzlich wurden aus der C1q- und TNF- Superfamilie, zu der neben TNF- α auch das Adiponektin gehört, sieben weitere Strukturhomologe des Adiponektins identifiziert und als **CTRP 1-7** (C1q/Tumor necrosis factor-related proteins) bezeichnet. Diese besitzen in der funktionell wichtigen globulären Domäne eine hohe Sequenzhomologie zum Adiponektin (Abb. 4), sind aber nicht nur im Fettgewebe, sondern auch in vielen anderen Organen

exprimiert. Alle sieben bekannten Adiponektinparalogue (CTRPs 1-7) bestehen aus einer viergliedrigen Struktur und ähneln in der Aminosäuresequenz der globulären Domäne(15;17;18) .

1.4. Adiponektin

Adiponektin wurde 1995/1996 als ein 30 kDa großes Protein mit Serinprotease-Aktivität (adipocyte complement-related protein of 30 kDa oder Acrp30, AdipoQ, gelatin-binding protein of 28 kDa oder GBP28, the adipose most abundant gene transcript 1 oder apM1), das ausschließlich im Fettgewebe gebildet wird, beschrieben (19;20). Die Expression von Adiponektin wird während der Adipozytenreifung durch den nukleären Kernrezeptor PPAR- γ stimuliert (21). Das Molekül besteht aus einem N-terminalen Signalpeptid, einer variablen Region, einer Kollagen-Domäne und einer C-terminalen globulären Domäne. Die Struktur von Adiponektin weist große Ähnlichkeit mit C1q, Typ VIII und X Kollagen sowie TNF α auf. Sie liefert Trimere und Hexamere sowie High Molecular Weight (HMW) Komplexe (16).

Zwei **Adiponektin-Rezeptoren** sind beschrieben; **AdipoR1** wird vor allem im Skelettmuskel exprimiert und bindet mit großer Affinität globuläres Adiponektin und mit niedriger Affinität full-length Adiponektin, während **AdipoR2** reichlich in der Leber exprimiert wird und eine mäßige Affinität für globuläres und full-length Adiponektin aufweist. Die Adiponektin-Rezeptoren aktivieren die AMP-aktivierte Proteinkinase und den PPAR- α -Stoffwechselweg. Dadurch wird die Glukoseaufnahme sowie die Fettsäure-Oxidation gefördert während die Glykoneogenese vermindert wird (Abb.5) (16;22).

Adiponektin wirkt **insulinsensitivierend** durch eine Aktivierung des Lipid- und Glukose-Stoffwechsels in der Leber und im Muskel. In der Leber werden die Glukoneogenese und die Lipogenese reduziert, während im Muskel die β -Oxidation stimuliert wird. Adiponektin reduziert die intrazelluläre

Triglyzeridemenge im Fettgewebe und steigert so die Insulin-Sensitivität (23).

Adiponektin reguliert die Expression von pro-inflammatorischen und anti-inflammatorischen Zytokinen. Die wichtigste **anti-inflammatorische** Funktion ist die Suppression von $\text{TNF}\alpha$ und $\text{IFN}\gamma$ sowie die Induktion von IL-10 und IL-1RA (Abb.5) (24).

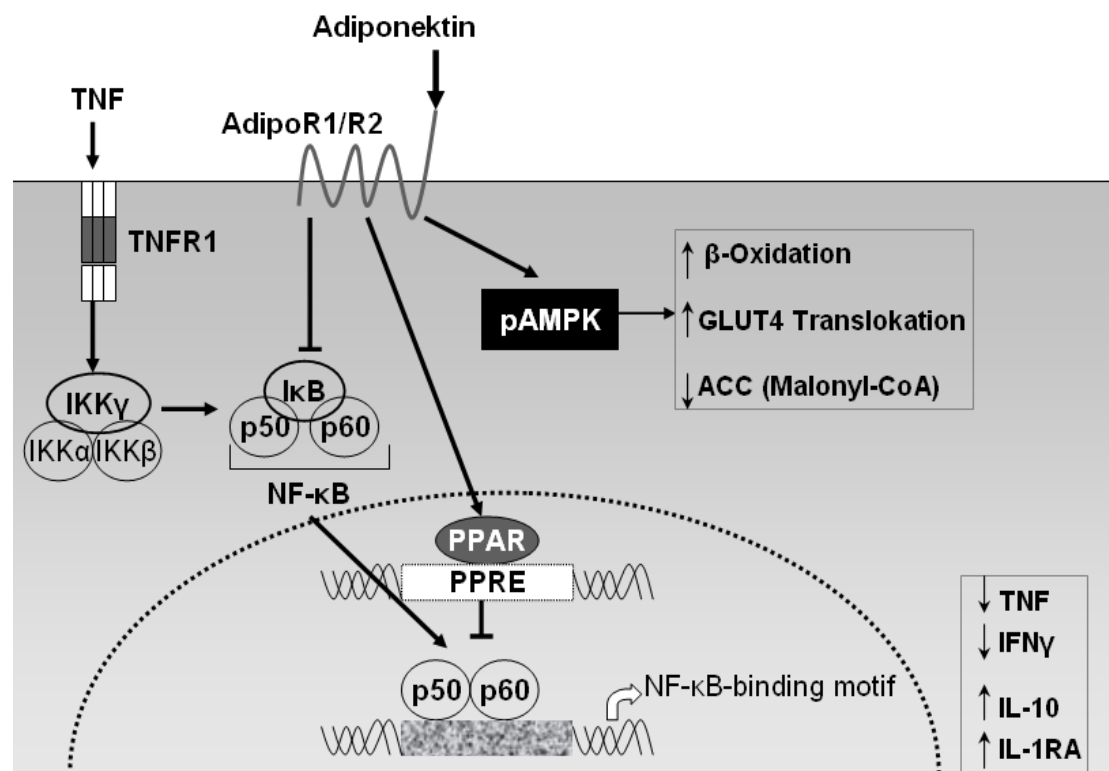


Abb.5. Adiponektin und seine Effekte auf Metabolismus und wichtige pro- bzw. antiinflammatorische Zytokine (24)

Im Gegensatz zu den meisten Adipokinen besteht eine negative Korrelation der Plasmaspiegel von Adiponektin mit dem Körpergewicht. Die Sekretion von Adiponektin ist im Fettgewebe von Übergewichtigen/Adipösen vermindert, was mit einer Insulinresistenz assoziiert ist und eine diabetische Stoffwechsellage begünstigen kann (25).

In Tabelle 1 sind die verschiedenen Zustände, die mit einer Zunahme bzw.

Abnahme der Adiponektin-Serumspiegel verbunden sind, zusammengefasst (25-28)

Adiponektin- Abnahme	Adipositas
	Insulin-Resistenz
	Diabetes mellitus Typ 2
	Metabolisches Syndrom
	Dyslipidämie
	KHK
	Arterielle Hypertonie
Adiponektin- Zunahme	Verabreichung von
	Thiazolidinedionen und
	ACE-Hemmern
	Nierenversagen
	Herzversagen
	Gewichtsabnahme

Tabelle 1. Regulation der Adiponektin-Serumspiegel

Bei Adipositas nimmt die Expression von AdipoR1 und AdipoR2 ab, so dass sich die Adiponektin-Sensitivität verringert. Parallel dazu nimmt die Insulinresistenz zu (16). Die HMW Adiponektin-Spiegel korrelieren signifikant mit der Insulin-Sensitivität (29). Die verminderte Adiponektinproduktion bei Adipösen kann eventuell auch durch eine vermehrte Synthese der pro-inflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$ und IL-6, die beide die Adiponektin-Synthese supprimieren, erklärt werden (30;31). Bei einer Reduktion der Fettmasse oder durch peroxisome-proliferator-activated receptor γ ($\text{PPAR}\gamma$)-Aktivierung durch Thiazolidinedione verbessert sich die Insulin-Sensitivität und der Adiponektinspiegel steigt wieder an. Bei Frauen ist der Plasmaadiponektinspiegel signifikant höher als bei gleichgewichtigen Männern, was auf einem androgeninduzierten Effekt beruhen könnte (26). Desweiteren wirkt Adiponektin auf die Lipide durch Stimulierung der Fettsäureoxidation im

Muskel, Abnahme der freien Fettsäuren und Triglyzeride ohne Änderung der Nahrungszufuhr (32). Die positive Korrelation zwischen den Adiponektin- und HDL-Cholesterin-Spiegeln, die negative Korrelation zwischen den Adiponektin- und Triglyzerid-Spiegeln, die Adiponektin-vermittelte Supprimierung der Schaumzellbildung aus Makrophagen, die Modulation der endothelialen Expression von Adhäsionmolekülen sowie die Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen deuten insgesamt auf eine anti-atherogene Wirkung des Adiponektins hin (33).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Adiponektin die Insulin-Sensitivität erhöht und eine anti-inflammatorische und anti-atherogene Wirkung besitzt. Aus diesem Grund verspricht die weitere Aufklärung der Wirkmechanismen von Adiponektin und seinen Paralogen neue Möglichkeiten für die Entwicklung von Therapeutika zur Behandlung von Adipositas, Diabetes mellitus Typ 2 und der koronaren Herzerkrankung.

1.5. Das Adiponektinparaloge CORS-26 (CTRP-3)

Collagenous Repeat-Containing Sequence of 26 kDa Protein (CORS-26) ist ein Mitglied der C1q/TNF Superfamilie und ein Strukturhomolog des Adiponektins. Das Molekül wird wie Adiponektin von einem N-terminalen Signalpeptid, einer variablen Region, einer Kollagen-Domäne und einer C-terminalen globulären Domäne gebildet (Abb. 6). In ihren Aminosäure-Sequenzen weisen Adiponektin und CORS-26 jedoch nur eine Homologie von 65% auf, so dass man korrekterweise nicht von Homologie sondern Paralogie sprechen muss. Beide Proteine haben ein Molekulargewicht von etwa 26 kDa und das CORS-26 Protein besitzt mit 246 Aminosäuren nur 2 Aminosäuren weniger als Adiponektin (34).

Es wurde gezeigt, dass CORS-26 im Knorpel der Wachstumsfuge, in Fibroblasten, in der Niere (35), in Dünn- und Dickdarm, in der Plazenta, in

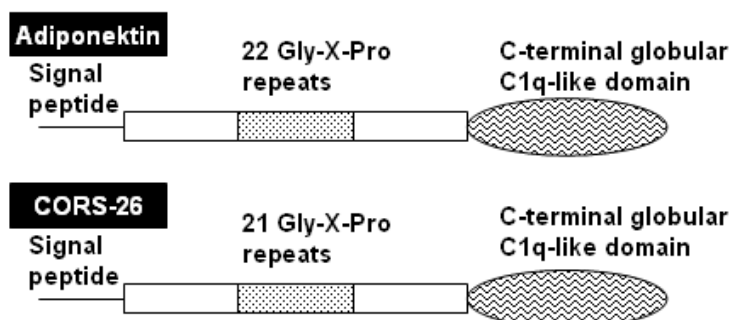


Abb. 6. Protein-Struktur von Adiponektin und CORS-26

der Lunge und in der Milz exprimiert wird (36). Nicht nachweisbar sind CORS-26- mRNA und Protein in Präadipozyten. Während der Adipozyten-Differenzierung zu reifen Adipozyten wird CORS-26 zunehmend sezerniert. Obwohl Präadipozyten und Fibroblasten eine ähnliche Morphologie aufweisen und beide von mesenchymalen Vorläufer-Zellen abstammen, exprimieren Fibroblasten im Gegensatz zu Präadipozyten CORS-26 (34).

CORS-26 übt seine stimulierende Funktion auf die Chondrozyten-Proliferation in einer parakrinen/autokrinen Weise aus (37). Weiter spielt es eventuell eine Rolle in der Entwicklung des Skeletts (38). CORS-26 wird in reifen Adipozyten exprimiert und besitzt anti-inflammatorische Effekte. Es inhibiert die LPS-induzierte IL-6- und $\text{TNF}\alpha$ -Sekretion in monozytären Zell-Linien und in primären humanen Blutmonozyten und reduziert die $\text{NF}\kappa\text{B}$ Aktivierung (36). Es besteht eine negative Regulation zwischen CORS-26 und exogenen (jedoch nicht endogenen) $\text{PPAR}\gamma$ -Liganden. Es existieren Daten, die eine Ähnlichkeit der transkriptionellen Regulation von CORS-26 mit Leptin zeigen (34).

CORS-26 induziert die adipozytäre Sekretion von Adiponektin und Resistin. Seine Bedeutung für die Entstehung der Insulin-Resistenz, des Diabetes mellitus Typ 2 und des metabolischen Syndroms sollte weiterhin untersucht werden.

1.6. Die Monozytenfunktion bei Diabetes mellitus Typ 2

1.6.1. Monozyten und Fettgewebe

Die viszerale Adipositas und die Adipositas-assoziierte Insulinresistenz bzw. der Diabetes mellitus Typ 2 werden von einer chronischen unterschweligen Entzündung begleitet (5;39;40). Studien beweisen, dass die Makrophagen das Fettgewebe infiltrieren und deren Anzahl mit der Adipozytengröße und dem Body Mass index (BMI) korreliert. Die eingewanderten Makrophagen sowie die reifen Adipozyten sezernieren proinflammatorische Zytokine. Desweiteren findet eine Diapedese von Blutmonozyten in das Fettgewebe statt, die sich in gewebständige Makrophagen transformieren (41). Eine wichtige Rolle für diese Einwanderung spielt der C-C motif chemokine receptor-2 (CCR2) (42). Eine Differenzierung von Präadipozyten des Fettgewebes zu Makrophagen ist auch möglich, da Adipozyten und Makrophagen bei Adipositas ähnliche Eigenschaften haben (Abb.7) (43).

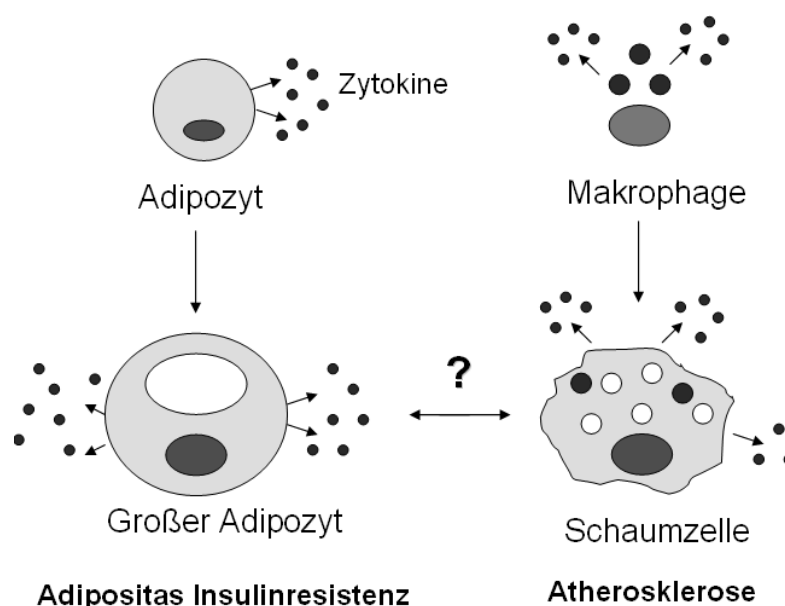


Abb. 7. Ähnlichkeit zwischen Adipozyten und Makrophagen

Eine Erklärung dafür ist, dass der Transkriptionsfaktor peroxisome proliferator-activated receptor γ_2 (PPAR γ_2) für die Adipozytendifferenzierung

sowie für die Makrophagendifferenzierung wichtig ist. Bei der Entstehung des metabolischen Syndroms spielt nicht nur die erhöhte Nahrungsaufnahme eine Rolle, sondern auch der entzündliche Charakter dieses Zustandes. Somit bekommt der Begriff „Makrophage“, der vom griechischen Wort für „big eater“ stammt, eine Doppeldeutigkeit (5).

1.6.2. Monozyten und Entzündung

Die chronische Entzündung beim metabolischen Syndrom betrifft besonders Leber, Muskeln und Fettgewebe. Ausserdem unterliegen **monozytäre Zellen** bei adipösen und hyperglykämischen Typ 2 Diabetikern einem proinflammatorischen Zustand (44-46). So ist bekannt, dass die Expression von proinflammatorischen Zytokinen wie $\text{TNF}\alpha$ und IL-6 in humanen Monozyten durch Glukose reguliert wird (47-49). Monozyten von Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus sezernieren vermehrt Sauerstoff-radikale nach entsprechender Stimulierung. Zusätzlich zum proinflammatorischen Zustand sind auch andere Änderungen der Monozytenfunktion bei Diabetes mellitus Typ 2 beschrieben: reduzierte PKC-Aktivität und zellvermittelte Immunität, erhöhte $\text{TNF}\alpha$ Sekretion nach Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS) (Endotoxin, gebunden an die Membranoberfläche gramnegativer Bakterien), erhöhte CD36 (Phagozytose-Rezeptor) Expression, erhöhtes Ansprechen auf Interferon γ und erhöhte TNFR2 Expression (50).

Die Monozyten haben die Fähigkeit zur Synthese pro- und anti-inflammatorischer Zytokine sowie Wachstumsfaktoren, die das entzündliche Ansprechen modulieren. Die Zytokine beeinflussen physiologische Effekte, die bei Diabetikern gestört sind, wie Apoptose und Wundheilungsprozesse. Bei Diabetikern sind Defekte der mikrobiziden Funktion der Monozyten ein bedeutender Grund für die Entwicklung von bakteriellen Infekten sowie für eine erhöhte Morbidität und Mortalität. Die Monozyten bei Patienten mit Diabetes mellitus weisen eine gestörte Chemotaxis und Phagozytose auf (51).

Inbesondere werden bei der Entstehung der Insulinresistenz neue Signalwege aktiviert, die auch durch bakterielle Substanzen aktiviert werden. LPS wird im Plasma von LPS-binding Protein (LBP) gebunden. Der entstandene LPS/LBP-Komplex interagiert dann mit dem CD14-Rezeptor auf den Monozyten und Makrophagen. Durch die Interaktion mit dem LPS-Signalrezeptor Toll-Like Rezeptor 4 (TLR4) an der Zellmembran der Monozyten werden verschiedene Signalwege aktiviert, einschliesslich des I κ B kinase (IKK)–NF- κ B Signalweges und drei mitogen-activated protein kinase (MAPK) Signalwegen: Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK) 1 and 2, c-Jun N-terminal kinase (JNK) and p38. Über den intrazellulären Transmitter NF κ B kommt es schließlich zu einer vermehrten Expression und Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen (Abb.8) (52).

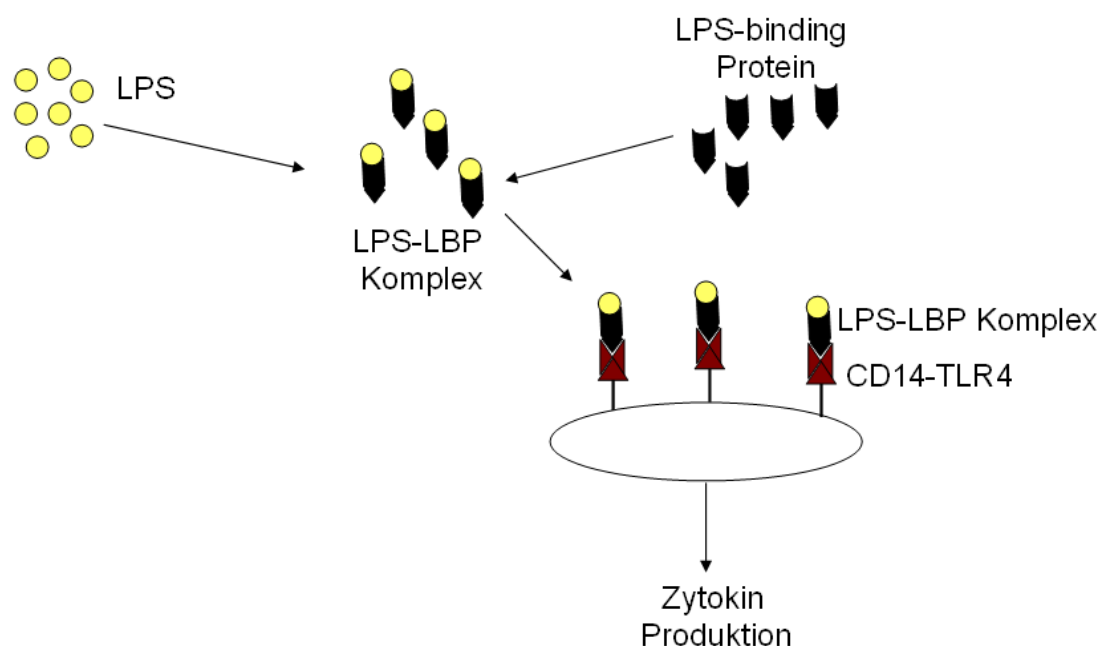


Abb. 8. LPS-induzierte Zytokinproduktion in Monozyten

Experimente an Ratten zeigten, dass die Prävention der NF- κ B Aktivierung durch Suppression der activator I κ B Kinase β die Entstehung von Insulinresistenz blockiert (53). Untersuchungen zeigten eine erhöhte LPS-vermittelte Aktivierung der Monozyten bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, jedoch kein Ansprechen der Monozyten auf eine akute Hyperglykämie,

was für eine andere Rolle des LPS im Vergleich zu Hyperglykämie als Stimulus zur Aktivierung der Monozyten spricht (50).

1.6.3. Monozyten und Atherosklerose

Die Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 haben eine erhöhte Prädisposition für Atherosklerose. Nach der «Response to injury» Hypothese handelt es sich bei der Atherosklerose um einen Endothelzellschaden bzw. eine Endothelzelldysfunktion, verursacht durch die erhöhte Konzentration von oxidiertem LDL und den anderen Risikofaktoren der Atherosklerose (Hyperglykämie, Hypertonie, Rauchen usw.).

Die Einwanderung von Blutmonozyten und glatten Muskelzellen in die Intima und die Transformation der Makrophagen zu Schaumzellen durch die Aufnahme von oxidiertem LDL ist ein Hauptmechanismus der Entwicklung von atherogenen Plaques (Abb. 9) (54).

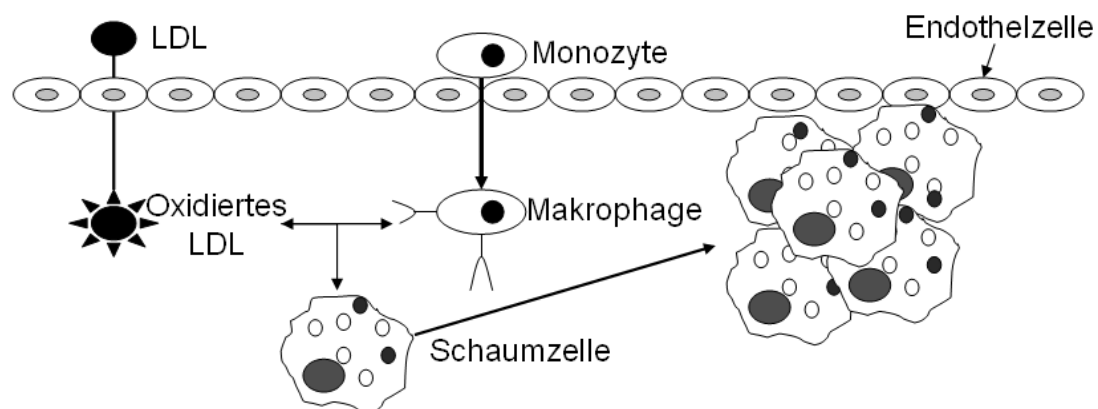


Abb. 9. Die Rolle der Makrophagen bei der Entstehung der Atherosklerose

Die diabetische Angiopathie ist eine diabetesspezifische Form der Atherosklerose, die sich nicht von der Atherosklerose des Nichtdiabetikers unterscheidet, sich jedoch in frühem Lebensalter manifestiert und auch die kleine Arterien betrifft (55). Studien zeigen eine erhöhte Expression von CD36

und CD68 – beides Marker für die Reifung der Monozyten zu Makrophagen – bei Monozyten im peripheren Blut von Diabetikern und eine erhöhte Expression von CD36 und CD68 nach MCP-1 Stimulation, was für einen aktivierten Zustand dieser Monozyten spricht (54). Desweiteren scheint die Leukozytenadhäsion bei Diabetikern erhöht zu sein, was mit einem erhöhten Risiko für vaskuläre Komplikationen verbunden ist (56). Untersuchungen der Funktion von Blutmonozyten bei Diabetikern mit Atherosklerose zeigten quantitative und funktionelle Abnormitäten der Monozyten, und eine stark reduzierte spontane Produktion proinflammatorischer Zytokine. Die Zytokinsekretion nach Stimulation mit LPS und IFN- γ verhält sich allerdings wie beim Gesunden (57).

1.7. Zielsetzung und Hypothese

Es ist bekannt, dass Sekretionsprodukte von Adipozyten die proinflammatorische Aktivierung der Monozyten beeinflussen. Desweiteren ist die proinflammatorische Aktivierbarkeit der Monozyten bei Diabetes mellitus Typ 2 gestört. Unsere Hypothese war, dass CORS-26 ein Molekül ist, das eine anti-inflammatorische Wirkung auf die humanen Monozyten aufweist. Ziel der Studie war die Effekte der Stimulation mit CORS-26 und LPS, allein oder in Kombination, auf die Konzentration von TNF α und IL-6 bei isolierten humanen Monozyten von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, zu untersuchen.

Im Anbetracht der zahlreichen Interaktionen zwischen Komponenten des Lipoprotein-Stoffwechsel und Adipokinen einerseits und der Monozyten-Aktivierung andererseits, war es unser Ziel zu prüfen, ob die LPS-induzierte proinflammatorische Aktivierung der Monozyten bei Typ 2 Diabetikern abhängig von Parametern des Lipid-Stoffwechsels ist und ob dies durch das neue Adiponektin-Paralogon CORS-26 beeinflusst werden kann.

2. Material und Methoden

2.1. Geräte und Materialien

a. Geräte

Autoklav Varioklav Dampfsterilisator	H + P
ELISA-Reader	Bio-TEK Instruments GmbH
Inkubationsschrank 37° Celsius, 5% CO ₂	Hera cell, Heraeus Instruments
Magnetrührer / Heizplatte MR 3001 K	Heidolph
Mikroskop und Zubehör	Zeiss
Sicherheitswerkbank	Hera Safe, Heraeus Instruments
Zentrifuge Megafuge 1.0 R	Heraeus

b. Materialien

Auslaufpipetten sterile (5, 10 und 25 µl)	Nunc
Dialyseschlauch 29 mm	Serva
Elisa Platte (96-Loch)	Corning Costar
MACS CD14 Micro Beads	Miltenyi Biotech
MACS MultiStand	Miltenyi Biotech
MACS separation columns	Miltenyi Biotec
Pipettensatz	Eppendorf
Reggiergefäße (1,5 und 2,0 ml)	Eppendorf
Steriflip 50 ml	Millipore
Stericup 500ml	Millipore
Sterile Filter-Spitzen (20, 100 und 1000 µl)	Sarstedt
Vacutainer™ CPT™ 8 ml	BD
Zell Schaber	Sarstedt
Zellkulturplatten cell + (6-Loch)	Sarstedt
Zentrifugenröhre 50 ml	Sarstedt

2.2. Auswahl des Studienkollektives

Es wurden 30 Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus Typ 2 und 20 gesunde Studienteilnehmer (Klinikpersonal und Studenten) der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikum Regensburg von Oktober 2007 bis April 2008 in die Studie eingeschlossen.

Als Einschlusskriterien galt ein vorbekannter Diabetes mellitus Typ 2 und ein Patientenalter von 18-85 Jahre. Ausschlusskriterien waren eine Schwangerschaft sowie eine akute oder chronische Infektion (Blutbild, CRP).

Es erfolgte eine Blutentnahme bei nüchternen Probanden mit anschließender Isolierung der Monozyten aus dem Vollblut. Das Vorliegen einer sekundären Komplikation bzw. einer diabetischen Nephropathie, Retinopathie, Neuropathie, KHK sowie einer positive Familienanamnese für Diabetes mellitus wurde dokumentiert. Der Body-Mass-Index (BMI) (in kg/m^2) wurde nach Größe und Gewicht berechnet. Laborchemisch wurden zusätzlich Glucose, HbA1c, Cholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeride, CRP, Leukozyten, Hämoglobin und Kreatinin bestimmt.

Die Patienten wurden über das Ziel der Studie, die freiwillige Teilnahme und den Datenschutz ausführlich informiert, das schriftliche Einverständnis wurde eingeholt. Die Genehmigung der Studie durch die Ethikkommission des Universitätsklinikums Regensburg lag vor.

2.3. Methoden

2.3.1. Isolierung der Monozyten aus Vollblut

Zur Isolierung der primären peripheren Monozyten aus dem Vollblut wurden pro Proband sechs Vacutainer mit 8 ml Blut gefüllt. Die Vacutainer wurden mehrmals geschwenkt, um das entnommene Blut mit dem Citratpuffer zu

mischen und die Blutgerinnung zu verhindern. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation für 25 Minuten bei 2900 rpm (rounds per minute).

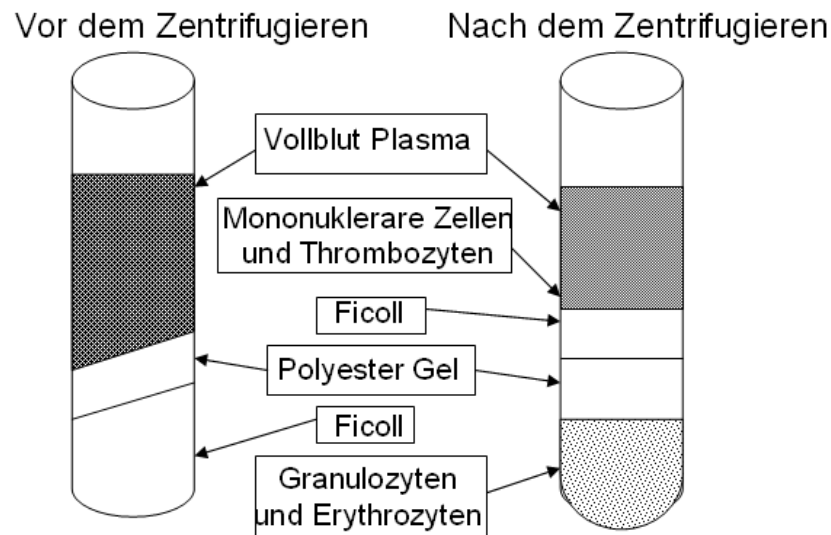


Abb. 10. Separation von Vollblut

Nach der Zentrifugation befanden sich die schwereren Bestandteile (vor allem die Erythrozyten) am Boden des Rörchens unterhalb des Polyester-Gels, so dass Plasma, mononukleäre Zellen und Thrombozyten oberhalb des Gels abgenommen werden konnten (Abb.10). Dazu wurden die Vacutainer mehrmals geschwenkt, so dass sich die mononukleären Zellen und die Thrombozyten homogen im Plasma verteilten und unter der Sterilbank in Zentrifugenröhrchen überführt werden konnten. Dabei wurden die Zellen eines Spenders gereinigt und nochmals für 15 Min. bei 1200 rpm zentrifugiert.

Nach dem Zentrifugieren wurden die Plasmaüberstände abgesaugt und die Zellen in 20ml PBS gewaschen (1200 rpm, 10 min, RT), in ein Eppendorfgefäß überführt und mit 2ml CD14 Beads-Puffer gewaschen (1200 rpm, 10 min, RT). Im Anschluss wurden die Zellen in 130 µl CD14 Beads-Puffer resuspendiert und mit 27 µl CD14 Beads (Miltenyi Biotec., Bergisch-Gladbach, Deutschland) für 20 min bei 4°C inkubiert. Die Monozyten exprimieren stark das Oberflächenprotein CD14, an das die an die

magnetischen Beads gekoppelten monoklonalen CD14-Antikörper binden. In einem magnetischen Feld werden aufgrund dieser Verbindung die Monozyten von den anderen Zellen separiert. Nach der Inkubation wurde die mit Microbeads inkubierte Zellsuspension mit 1 ml CD14 Beads-Puffer gewaschen (1200 rpm, 10 min, RT), in 2 ml CD14 Beads-Buffer aufgenommen und anschließend auf die Säule pipettiert. Nach dreimaligem Waschen mit 3 ml CD14 Beads-Puffer wurden die Säulen aus dem Magneten entfernt und die monozytären Zellen mit 5 ml CD14 Beads-Puffer eluiert. Die Zellen wurden abzentrifugiert (1200 rpm, 5 min, RT), in 3 ml RPMI-Medium (Biochrom, Berlin) aufgenommen und ein 10 µl Aliquot verwendet, um die Zellzahl zu bestimmen. Die Zellzahl wurde mikroskopisch in der Neubauer Zellzählkammer bestimmt.

2.3.2. Kultivierung der Monozyten

Als Kulturmedium für die Monozyten wurde das Medium RPMI 1640 (Biochrom AG, Southborough, MA, USA) mit 10% autologem Serum über 18h verwendet. Die Kultivierung erfolgte in einem Blutschrank bei 37 °C, 5% CO₂ und wassergesättigter Atmosphäre.

2.3.3. Stimulationsexperimente

Im Durchschnitt war die Monozytenmenge auf ca. $12-13 \times 10^6$ Monozyten begrenzt, so dass maximal 4 Experimente durchgeführt werden konnten. Für jedes Stimulationsexperiment wurden 3×10^6 primäre Monozyten verwendet.

Versuchsansatz a. mit LPS

Primäre Monozyten wurden 24h mit 10 % autologem, Serum supplementiertem RPMI 1640 Medium zu Makrophagen differenziert. Die differenzierten Zellen adhärten am Boden der Zellkulturschale und die Differenzierung wurde unter dem Lichtmikroskop überprüft.

Material und Methoden - Methoden

Das Medium wurde nach der Differenzierung erneuert und die Zellen wurden mit LPS (1 µg/ml) stimuliert. Adipositas und Insulinresistenz werden als ein „chronischer und niedrig-aktiver Entzündungsstatus“ angesehen und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 sind potentiell an eine chronische Immunstimulation gewöhnt. Aus diesem Grund wurde eine hohe Dosierung von LPS (1 µg/ml) verabreicht. Nach 18-24h Stimulation wurden die Zellen sowie die Zellüberstände abgenommen.

Versuchsansatz b. mit CORS-26

Primäre Monozyten wurden 24h mit 10% autologem, Serum supplementiertem RPMI 1640 Medium zu Makrophagen differenziert. Die differenzierten Zellen adhärten am Boden der Zellkulturschale und die Differenzierung wurde unter dem Lichtmikroskop überprüft. Das Medium wurde nach der Differenzierung erneuert und die Zellen wurden mit CORS-26 (1 µg/ml) stimuliert. Nach 18-24h Stimulation wurden die Zellen sowie die Zellüberstände abgenommen.

Versuchsansatz c. mit LPS und CORS-26

In diesem Fall wurden die Zellen zuerst 30 Minuten mit CORS-26 vorinkubiert. Danach erfolgte die Stimulation mit LPS wie beschrieben.

Versuchsansatz d. Kontrolle

Die nicht stimulierten Monozyten wurden als Kontrolle genützt.

2.3.4. Bestimmung von Zytokinen und Chemokinen

Die Konzentration von IL-6 und TNF- α im Überstand der Monozytensuspension wurde mittels ELISA bestimmt. Es wurden DuoSET ELISA Systeme von R&D Systeme, Wiesbaden, Deutschland verwendet.

2.3.5. Messung der Routineparameter

Laborchemisch wurden Glucose, HbA1c, Cholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeride, CRP, Leukozyten, Hämoglobin und Kreatinin im hausinternen Labor des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriummedizin mit Standardmethoden im Rahmen der ohnehin durchgeführten Routine-Diagnostik bestimmt.

2.3.6. Statistik

Die Auswertung der erhobenen Daten erfolgte computergestützt mit dem Statistikprogramm SPSS (SPSS 15.0). Die Berechnungen der statistischen Signifikanz von zwei unabhängigen Stichproben wurde mit dem Mann-Whitney U-Test durchgeführt. Das minimale Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$. Der Pearsons χ^2 wurde benutzt, um die Beziehung zwischen klassifizierten Variablen zu testen.

3. Ergebnisse

3.1. Charakteristika des Studienkollektives

In die Studie wurden 30 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (19 Männer und 11 Frauen) eingeschlossen. Das mittlere Alter der Typ-2-Diabetiker betrug 62 ± 2.0 Jahre. Der durchschnittliche Body Mass Index betrug $31.0 \pm 2.3 \text{ kg/m}^2$.

Die Charakteristika des Kollektives werden in Tabelle 2 dargestellt.

Lipoprotein-Metabolismus: Die Mittelwerte \pm SEM (= standard error of the mean) betrugen für Gesamtcholesterin $156 \pm 5 \text{ mg/dl}$ mit einer Spannweite 40-244 mg/dl, für Triglyzeride $129 \pm 6 \text{ mg/dl}$ mit einer Spannweite von 56-279 mg/dl, für HDL $40 \pm 1 \text{ mg/dl}$ mit einer Spannweite von 17-88 mg/dl und für LDL $88 \pm 3 \text{ mg/dl}$ mit einer Spannweite von 9-146 mg/dl.

Stoffwechsel-Metabolismus: Die Mittelwerte betrugen für HbA_{1c} $7.5 \pm 0.3 \%$ mit einer Spannweite von 4.6 – 18.0 % und für Glukose (nüchtern) $157 \pm 9 \text{ mg/dl}$ mit einer Spannweite von 81-500 mg/dl.

Entzündungsmarker: Die Mittelwerte betrugen für CRP $29 \pm 4 \text{ mg/dl}$ und für Leukozyten $8.0 \pm 0.3/\text{nl}$.

Bei 10 der eingeschlossenen Patienten waren keine **diabetischen Komplikationen** bekannt, bei den anderen 20 war bereits eine diabetische Nephropathie und / oder Retinopathie und / oder Neuropathie und / oder KHK sowie pAVK vorbekannt.

3 der Patienten (10%) wurden mittels Diät und Bewegung **therapiert**, 9 (30%) mit oralen Antidiabetika, 14 (46.7%) mit Insulin und 4 (13.3%) mit der Kombination aus Insulin und oralen Antidiabetika.

Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (n=30)	
Weiblich	11 (36.7 %)
Männlich	19 (63.3 %)
BMI (kg/m ²)	31.0 ± 2.3
Alter (Jahre)	62 ± 2.0
	<i>Lipoprotein-Metabolismus</i>
Gesamtcholesterin (mg/dl)	156 ± 5 [40--244]
Triglyzeride (mg/dl)	129 ± 6 [56-279]
HDL (mg/dl)	40 ± 1 [17-88]
LDL (mg/dl)	88 ± 3 [9-146]
	<i>Stoffwechsel-Metabolismus</i>
HbA _{1c} (%)	7.5 ± 0.3 [4.6 – 18.0]
Glukose nüchtern (mg/dl)	157 ± 9 [81-500]
	<i>Entzündungsmarker</i>
CRP (mg/l)	29 ± 4
WBC (/nl)	8.0 ± 0.3
	<i>Diabetische Komplikationen</i>
Ja	20 (33%)
Nein	10 (66%)
	<i>Antidiabetische Therapie</i>
Diät / Bewegung	3 (10 %)
Orale Therapie	9 (30 %)
Insulin	14 (46.7 %)
Insulin + orale Therapie	4 (13.3 %)

Tabelle 2. Charakteristika des Studienkollektives

3.2. Stimulationsexperimente bei T2D Monozyten

Stimulationsexperimente bei T2D Monozyten		
	T2D Monozyten (n=30)	Signifikanz <i>p</i>
<i>IL-6 (ng/ml)</i>		
Basal	1.3 ± 0.4 *	
CORS-26	2.3 ± 0.7	
LPS	87.5 ± 18.8 *	* <i>p</i> <0.001
LPS + CORS-26	56.8 ± 11.5	
<i>TNF (ng/ml)</i>		
Basal	0.1 ± 0.1 *	
CORS-26	0.1 ± 0.1	
LPS	20.7 ± 2.6 *	* <i>p</i> <0.001
LPS + CORS-26	23.2 ± 3.0	

Tabelle 3. Stimulationsexperimente bei T2D Monozyten

Die basale ***IL-6 Produktion*** bei T2D Monozyten betrug 1.3 ± 0.4 ng/ml. Nach Stimulation mit CORS-26 betrug sie 2.3 ± 0.7 ng/ml, nach Stimulation mit LPS 87.5 ± 18.8 ng/ml und nach Stimulation mit CORS-26 und LPS 56.8 ± 11.5 ng/ml.

Die basale ***TNF Produktion*** bei T2D Monozyten betrug 0.1 ± 0.1 ng/ml. Nach Stimulation mit CORS-26 betrug sie 0.1 ± 0.1 ng/ml, nach Stimulation mit LPS 20.7 ± 2.6 ng/ml und nach Stimulation mit CORS-26 und LPS 23.2 ± 3.0.

3.3. Korrelation der LPS-induzierten monozytären $\text{TNF}\alpha$ Sekretion mit dem Gesamtcholesterin.

a. Stimulation der Monozyten mit LPS

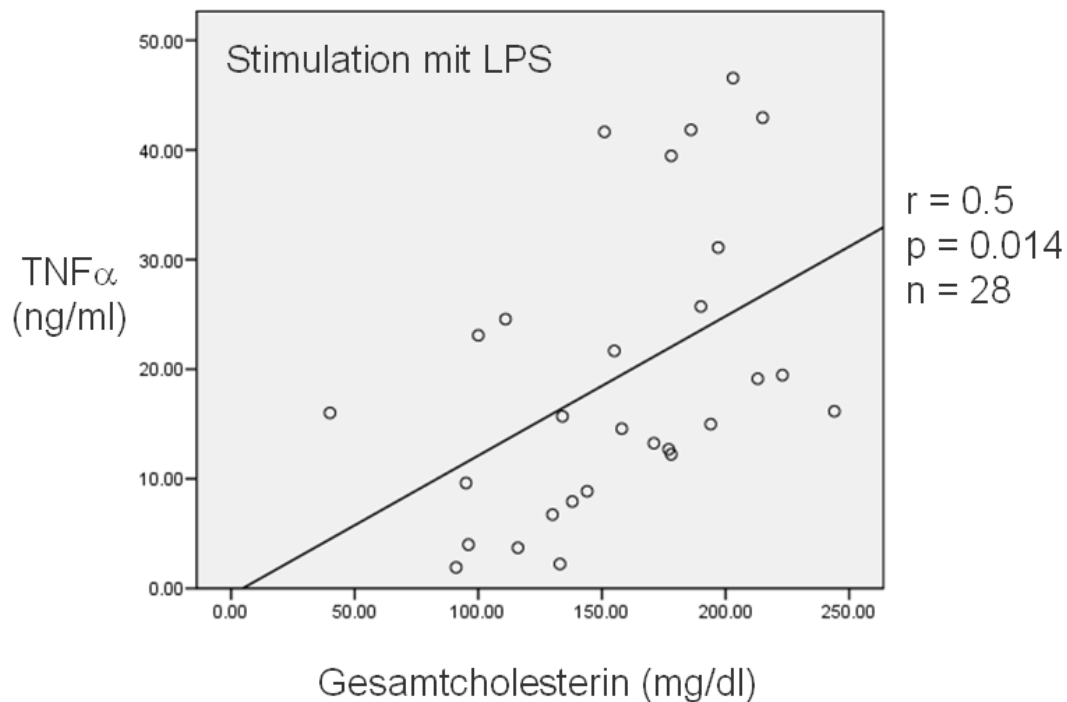


Abb. 11. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem Gesamtcholesterin nach Stimulation mit LPS

In den nicht stimulierten Kontrollmonozyten der Diabetiker war nur eine geringe $\text{TNF}\alpha$ -Sekretion von 0.1 ± 0.1 ng/ml messbar. Nach Stimulation mit LPS wurde eine $\text{TNF}\alpha$ -Konzentration von 20.7 ± 2.6 ng/ml gemessen.

Die LPS-induzierte Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ im Überstand von Monozyten korrelierte **signifikant** ($r=0,5$; $p=0,014$) mit dem Serum-Gesamtcholesterin (Abb. 11).

b. Ko-Stimulation der Monozyten mit CORS-26 und LPS

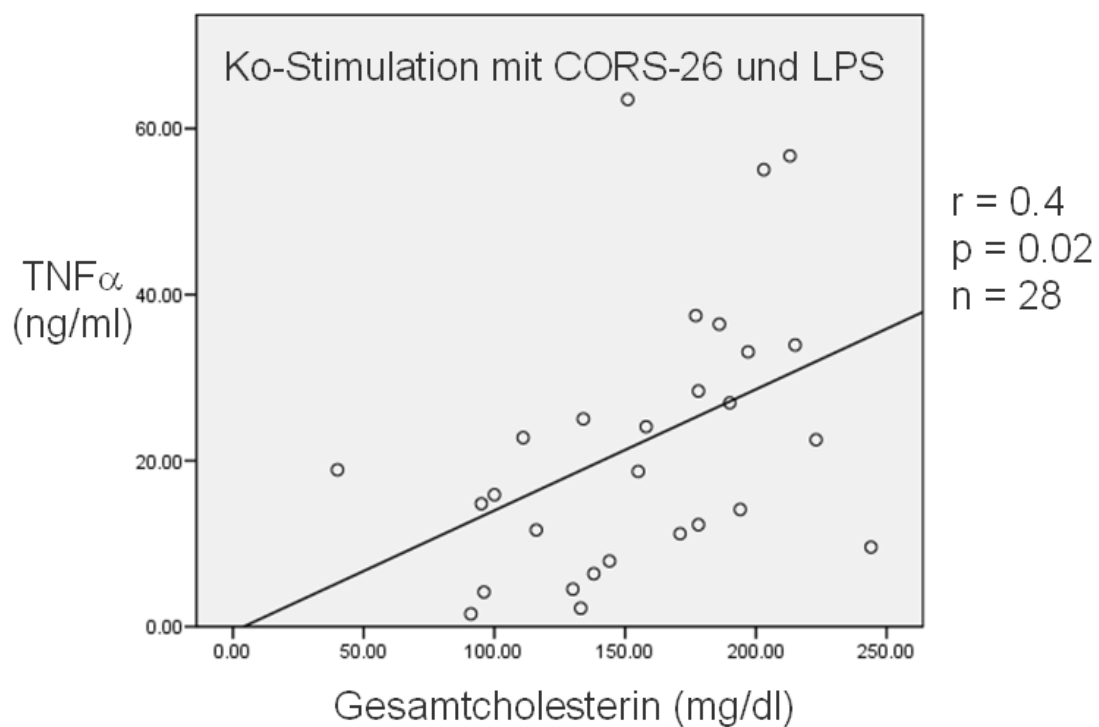


Abb.12. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem Gesamtcholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

Nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS wurde eine $\text{TNF}\alpha$ -Sekretion von 23.2 ± 3.0 ng/ml gemessen.

Die CORS-26- und LPS-ko-stimulierte Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ im Überstand von Monozyten korrelierte **signifikant** ($r=0,4$; $p=0,02$) mit dem Serum-Gesamtcholesterin (Abb. 12).

3.4. Korrelation der LPS-induzierten monozytären TNF_α Sekretion mit dem LDL-Cholesterin.

a. Stimulation mit LPS

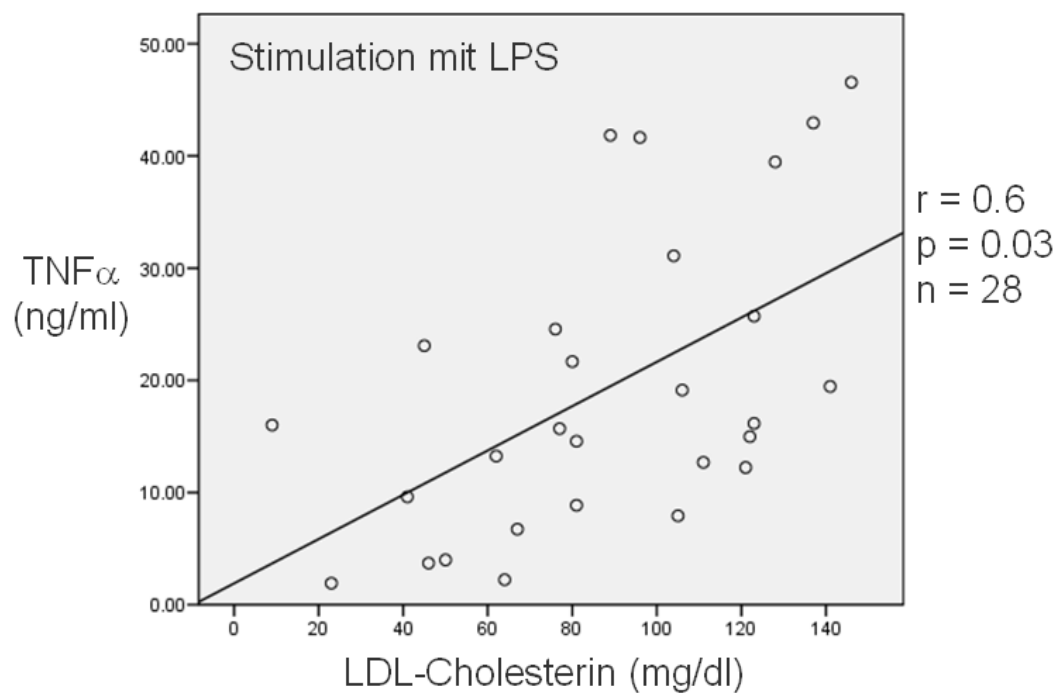


Abb. 13. Korrelation von TNF_α mit dem LDL-Cholesterin nach Stimulation mit LPS

Die LPS-induzierte Konzentration von TNF_α im Überstand von Monozyten korrelierte **signifikant** ($r=0,6$; $p=0,03$) mit dem LDL-Cholesterin (Abb. 13).

b. Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

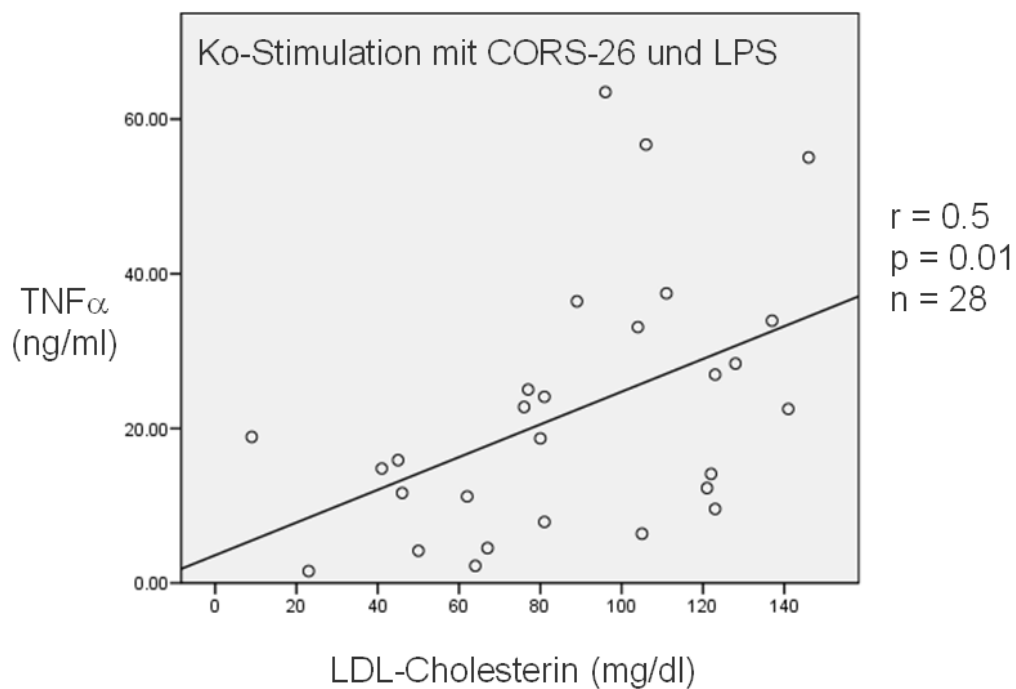


Abb. 14. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem LDL-Cholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

Die CORS-26- und LPS-ko-stimulierte Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ im Überstand von Monozyten korrelierte **signifikant** ($r=0,5$; $p=0,01$) mit dem LDL-Cholesterin (Abb. 14).

3.5. Korrelation des LPS-induzierten $\text{TNF}\alpha$ mit dem HDL-Cholesterin.

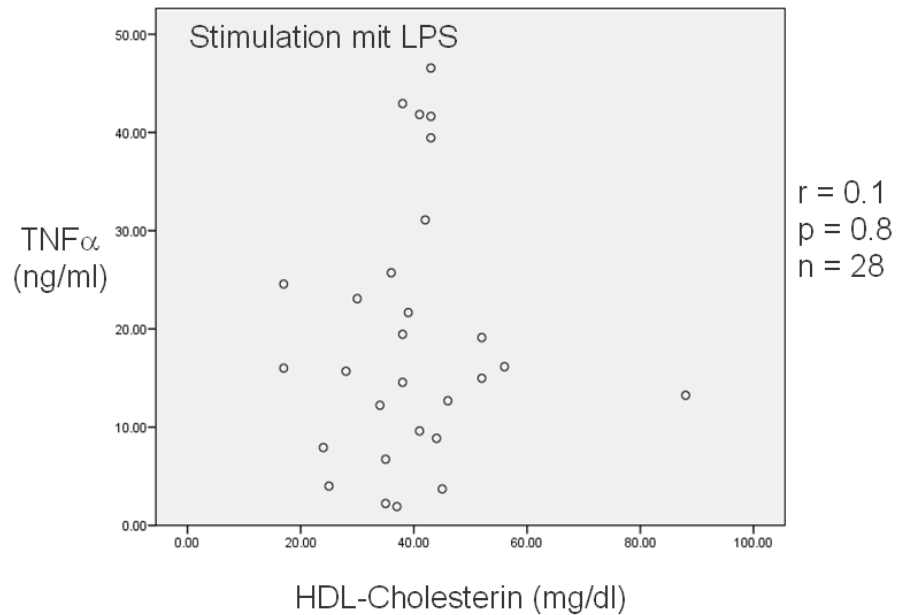


Abb. 15. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem HDL-Cholesterin nach Stimulation mit LPS

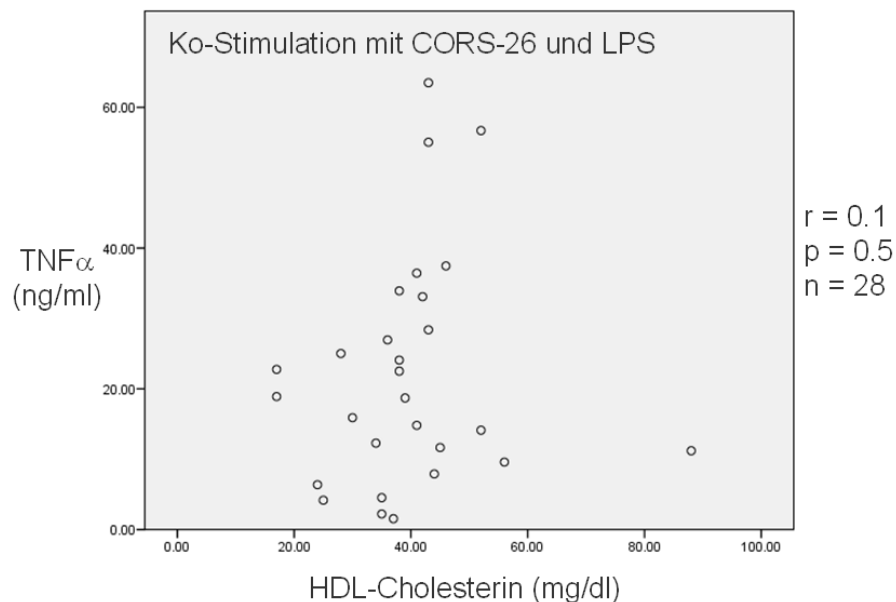


Abb. 16. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit dem HDL-Cholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

Es fand sich keine Korrelation der LPS- sowie der CORS-26- und LPS-induzierten $\text{TNF}\alpha$ -Konzentration mit dem HDL-Cholesterin (Abb. 15, Abb. 16).

3.6. Korrelation des LPS-induzierten $\text{TNF}\alpha$ mit den Triglyzeriden.

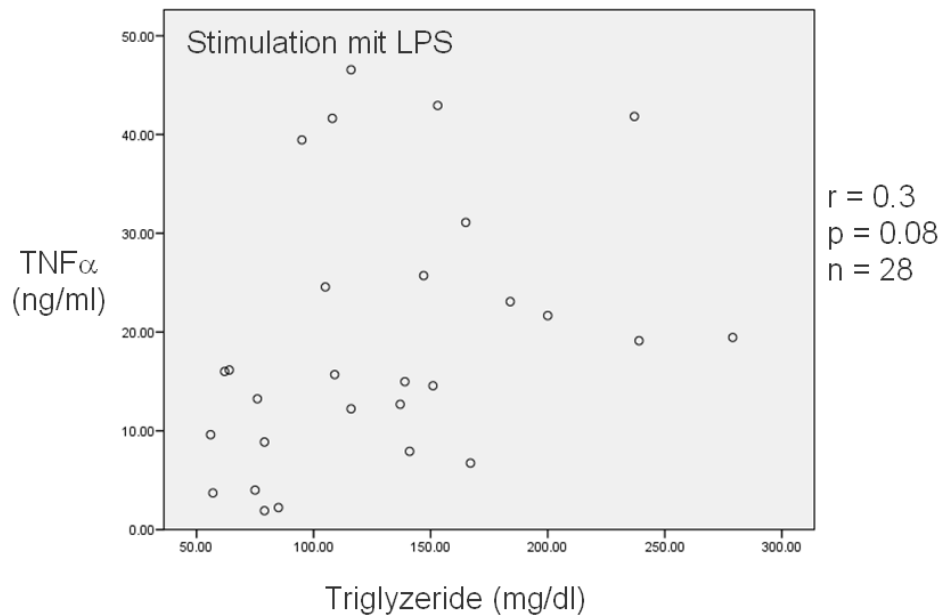


Abb. 17. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit den Triglyzeriden nach Stimulation mit LPS

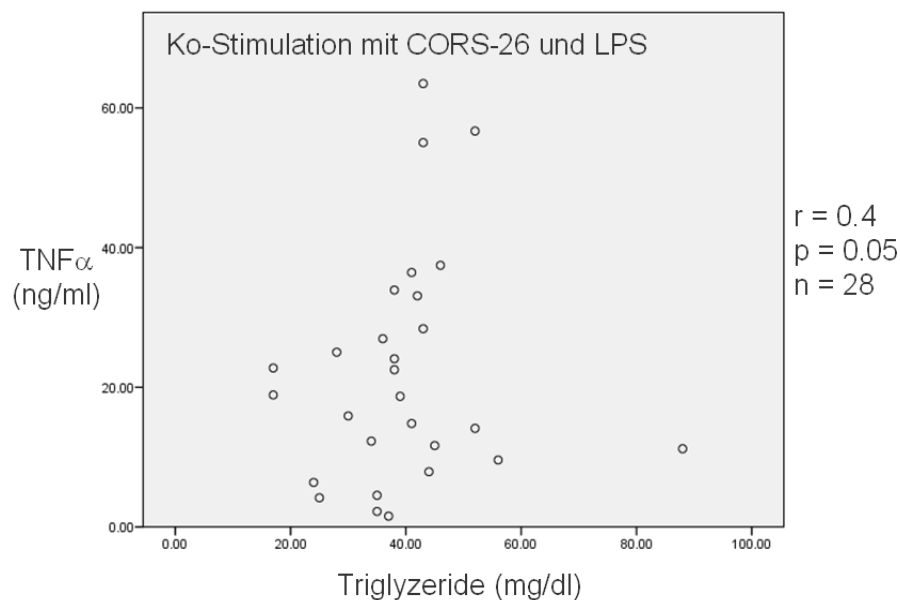


Abb. 18. Korrelation von $\text{TNF}\alpha$ mit den Triglyzeriden nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

Es fand sich keine Korrelation der LPS- sowie der CORS-26- und LPS-induzierten $\text{TNF}\alpha$ -Konzentration mit den Triglyzeriden (Abb. 17, Abb. 18).

3.7. Korrelation des LPS-induzierten IL-6 mit dem Gesamtcholesterin.

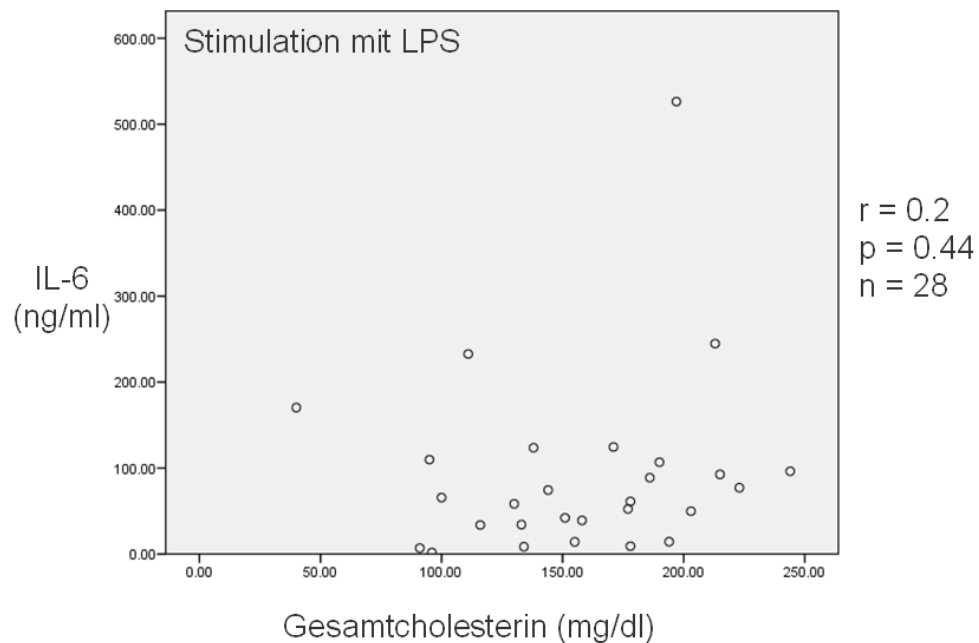


Abb. 19. Korrelation von IL-6 mit dem Gesamtcholesterin nach Stimulation mit LPS

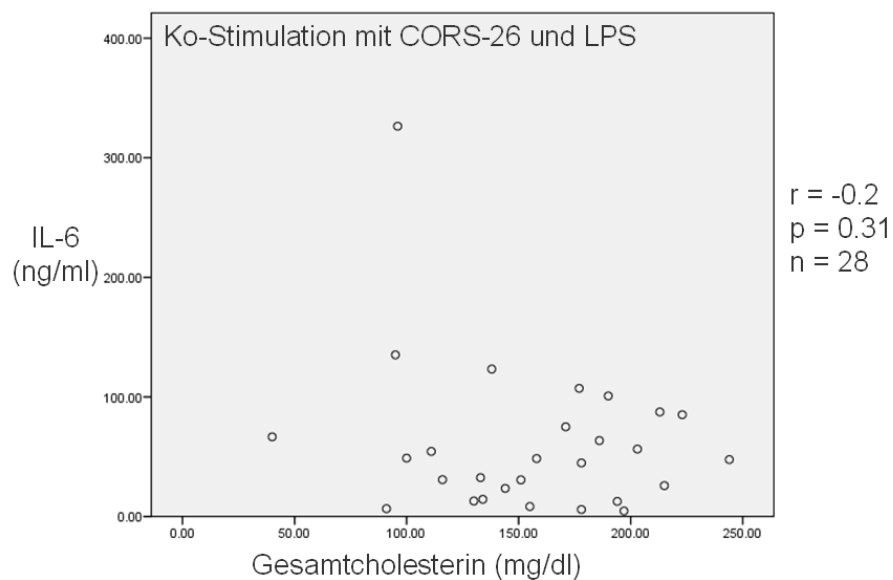


Abb. 20. Korrelation von IL-6 mit dem Gesamtcholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

Es fand sich keine Korrelation der LPS- sowie der CORS-26- und LPS-induzierten IL-6-Konzentration mit dem Gesamtcholesterin (Abb. 19, Abb. 20).

3.8. Korrelation des LPS-induzierten IL-6 mit dem LDL-Cholesterin.

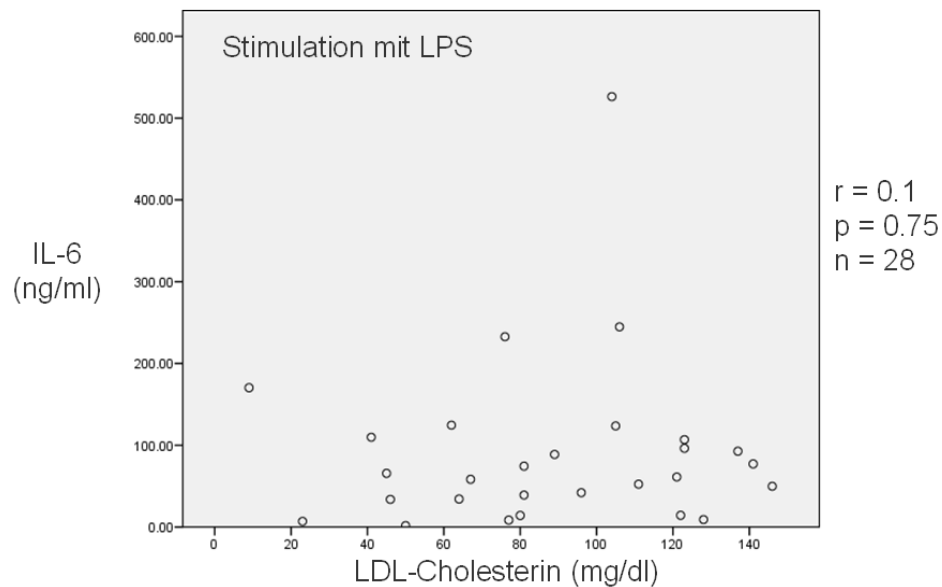


Abb. 21. Korrelation von IL-6 mit dem LDL-Cholesterin nach Stimulation mit LPS

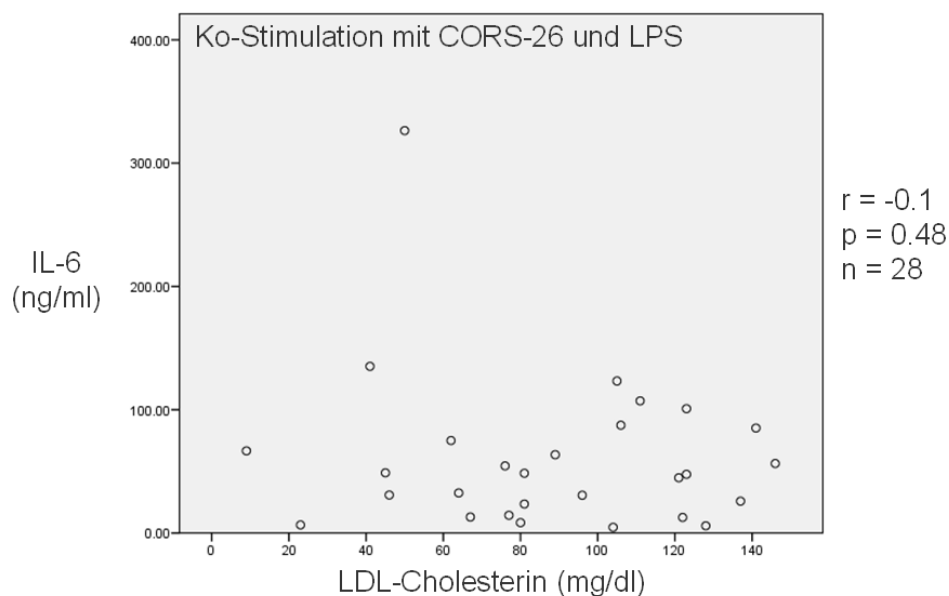


Abb. 22. Korrelation von IL-6 mit dem LDL-Cholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

Es fand sich keine Korrelation der LPS- sowie der CORS-26- und LPS-induzierten IL-6-Konzentration mit dem LDL-Cholesterin (Abb. 21, Abb. 22).

3.9. Korrelation des LPS-induzierten IL-6 mit dem HDL-Cholesterin.

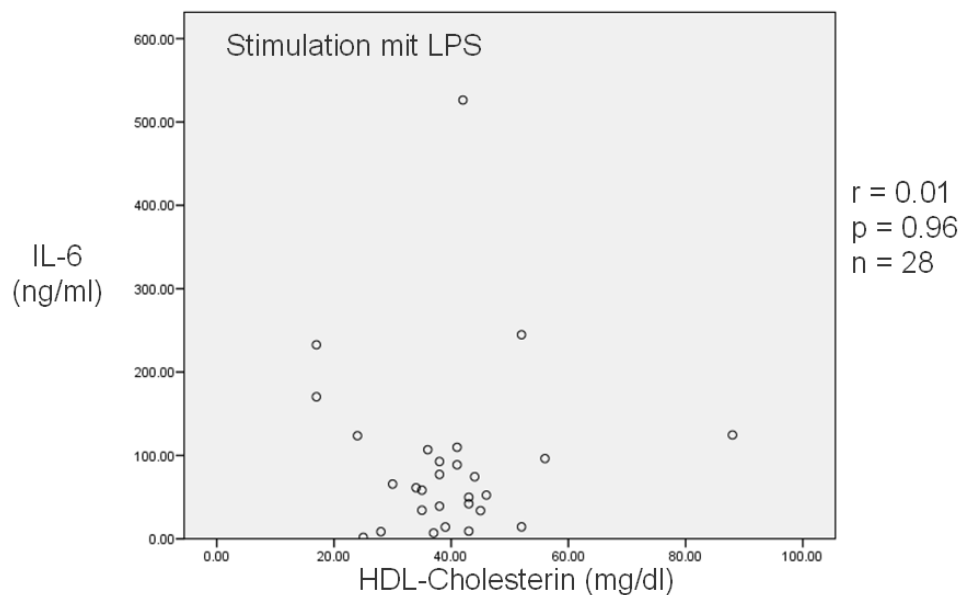


Abb. 23. Korrelation von IL-6 mit dem HDL-Cholesterin nach Stimulation mit LPS

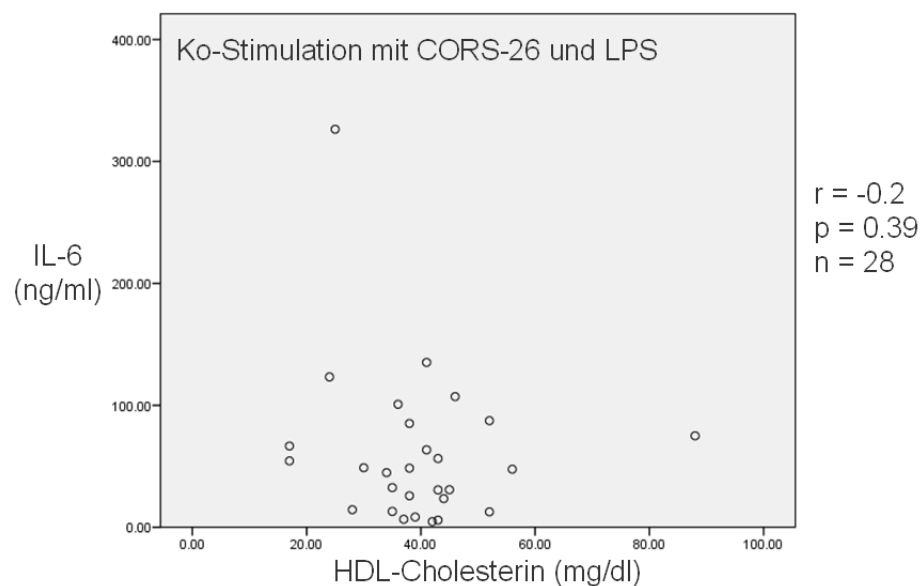
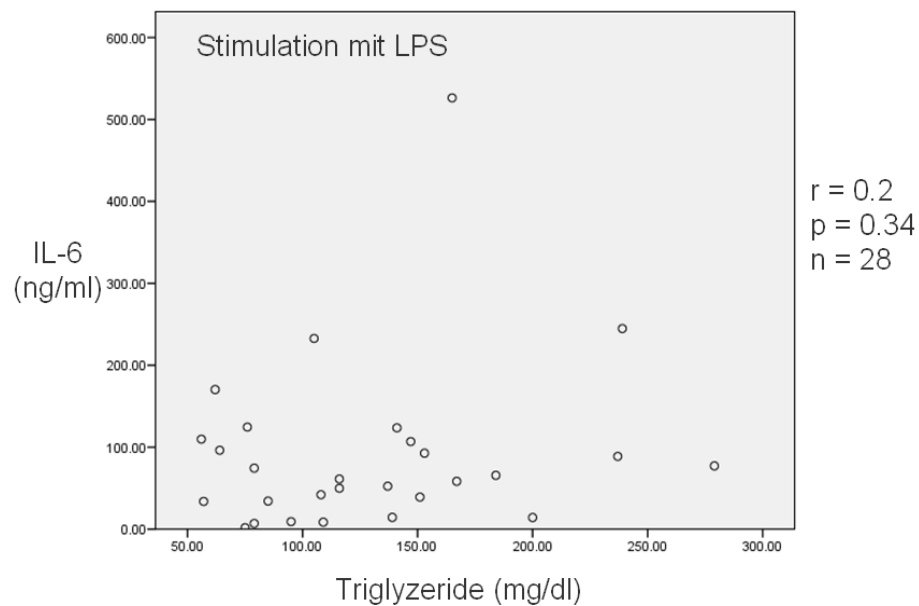
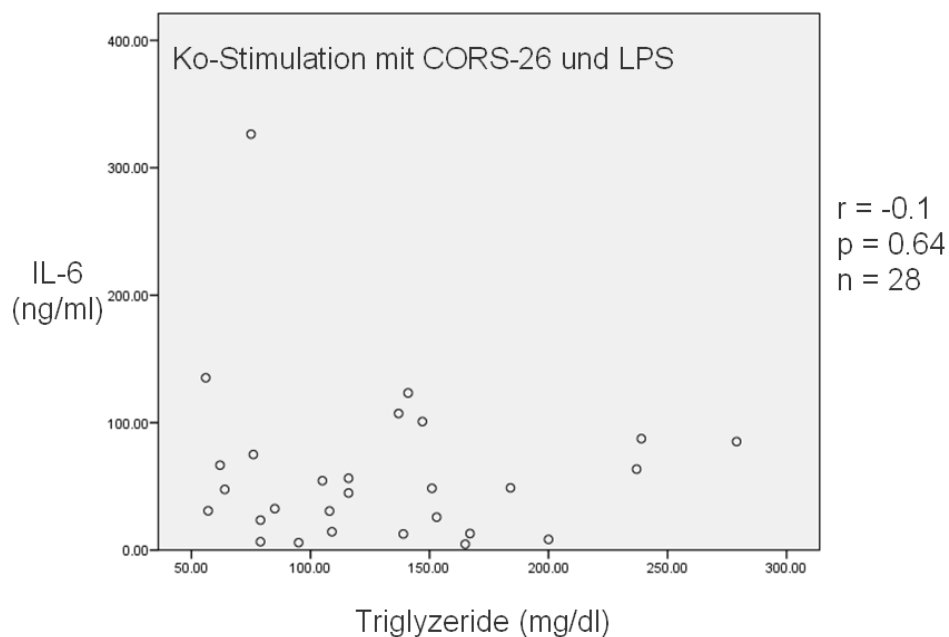


Abb. 24. Korrelation von IL-6 mit dem HDL-Cholesterin nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

Es fand sich keine Korrelation der LPS- sowie der CORS-26- und LPS-induzierten IL-6-Konzentration mit dem HDL-Cholesterin (Abb. 23, Abb. 24).

3.10. Korrelation des LPS-induzierten IL-6 mit den Triglyzeriden.**Abb. 25.** Korrelation von IL-6 mit den Triglyzeriden nach Stimulation mit LPS**Abb. 26.** Korrelation von IL-6 mit den Triglyzeriden nach Ko-Stimulation mit CORS-26 und LPS

Es fand sich keine Korrelation der LPS- sowie der CORS-26- und LPS-induzierten IL-6-Konzentration mit den Triglyzeriden (Abb. 25, Abb. 26).

3.11. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die LPS-induzierte Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ im Überstand der Monozyten korrelierte signifikant mit dem Serum-Gesamtcholesterin sowie mit dem Serum-LDL-Cholesterin. Diese positive Korrelation wurde dabei nicht von CORS-26 beeinflusst.
2. Es bestand keine Korrelation der LPS- sowie der LPS- und CORS-26-induzierten Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ mit den Triglyzeriden oder dem Serum-HDL-Cholesterin.
3. Die LPS- sowie die LPS- und CORS-26-induzierte IL-6 Konzentration zeigte keine Korrelation mit den Lipoproteinen.

4. Diskussion

4.1. Fettgewebe, Monozyten und die Verbindung zwischen Stoffwechsel und Immunität.

Adipositas und das metabolische Syndrom werden als ein „chronischer und niedrig-aktiver Entzündungsstatus“ angesehen (5). Es wird zunehmend deutlich, dass das Fettgewebe Energiemetabolismus mit Immunfunktion verbindet (58).

Die Adipozyten produzieren Adipozytokine, die als pro- und anti-inflammatorische **Immunregulatoren** des Fettgewebes wirken. Weiterhin werden Chemokine sowie klassische Zytokine, z.B. Interleukin-6 (IL-6) und Tumor Nekrose Faktor (TNF), von Adipozyten sezerniert. Ferner werden neue Moleküle sezerniert, die mit dem angeborenen Immunsystem assoziiert sind. Diese Moleküle werden der C1qTNF-Related-Protein (CTRP) Superfamilie zugeordnet (Tabelle 4).

Studien zeigen, dass Adipozyten Komponenten des innate Immunsystems wie Adipokine, Zytokine, Komplementfaktoren und Toll-like-Rezeptoren (TLR's) exprimieren (Tabelle 4) (59, 60). Das Komplement-System bekämpft eindringende Erreger, eliminiert sie jedoch nur unvollständig. Bisher wurde die Expression der Komplementfaktoren B, C3a, D, H, C1q und des Properdins im Fettgewebe nachgewiesen. Der erste Schritt zur Aktivierung des *alternative pathway* findet im Fettgewebe statt, durch Zusammenwirken von Faktor B, C3 und Faktor D und die Produktion von C3a/Acylation Stimulating Protein (C3a/ASP) (61). Acylation stimulating protein (ASP) oder C3adesArg ist das Spaltprodukt des Anaphylatoxins C3a (nach Abspaltung des C-terminalen Arginin Restes). Es stimuliert die Triglyzerid-Synthese und hat somit einen potentiellen anabolischen Effekt auf das Fettgewebe durch die Speicherung von Glukose und freien Fettsäuren (62;63). ASP interagiert mit dem C5L2 Rezeptor und stimuliert die Triglyzerid- Synthese und den Glukose Transport (64). C3a ist ein Anaphylatoxin, das C-terminale Arginin entscheidet, ob es als Immun- oder Stoffwechselsignal wirkt. Die doppelte Rolle des Fettgewebes (Metabolismus und Immunität) hängt zusammen mit der doppelten Rolle des Komplements in Bezug auf das Fettgewebe: einerseits ist die Komplement-Produktion ein Bestandteil der Triglyzeridsynthese, andererseits stellt Komplement eine Komponente des Immunsystems dar, das durch lokale oder systemische Entzündung aktiviert wird (63).

Adipokine	Zytokine	Komplementfaktoren	CTRP's	TLR's
Adiponektin	TNF α	C1q	CTRP-1	TLR-1
Leptin	IL-6	C3a	CTRP-2	TLR-2
Resistin	IL-1	C3adesArg	CTRP-3	TLR-3
Visfatin	CCL2 (MCP1)	B	CTRP-4	TLR-4
		D	CTRP-5	TLR-6
		H	CTRP-6	TLR-8
		Properdin	CTRP-7	TLR-9

Tabelle 4. Das Fettgewebe als Teil des Immunsystems (6, 9, 24)

Präadipozyten und reife Adipozyten exprimieren eine Reihe von funktionellen **Toll-like Rezeptoren** (TLRs) (60). Die TLRs erkennen Pathogene, initiieren Signalwege für die Bildung wichtiger proinflammatorischer Signale für die Immunabwehr und haben eine Schlüsselrolle in der angeborenen Immunantwort (65). Die mesenchymalen Stammzellen exprimieren TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6 und TLR9 (66). Die reifen Adipozyten und die vaskulären Bindegewebszellen exprimieren alle TLRs außer TLR5 und TLR7 (60). Die Präadipozyten und die Adipozyten reagieren nach Expression der TLRs auf spezielle Stimuli mit der Produktion von Zytokinen, z.B. IL-6. Die Präadipozyten können rasch (innerhalb von 4h) auf einen LPS-Stimulus mit der Sekretion von IL-6 und Chemokinen CCL2, CCL5 und CCL11 reagieren (67). Die basale und LPS-induzierte IL-6 Produktion ist höher in Präadipozyten, die basale und LPS-induzierte MCP-1 Produktion ist höher in reifen Adipozyten (60). Metabolische Veränderungen, wie Hyperglykämie, Insulinresistenz und erhöhte Spiegel an freien Fettsäuren, die während Infektionen festgestellt werden, könnten ihre Ursache in einem funktionellen TLR-Pathway im Fettgewebe haben. Zusammenfassend klassifiziert die Expression funktioneller TLRs in Adipozyten das Fettgewebe als ein neues Mitglied des angeborenen Immunsystems, fähig zum Ansprechen auf mikrobielle Produkte.

Die Verbindung zwischen Immunsystem und Stoffwechsel wird zusätzlich durch die BMI-abhängige Infiltration des Fettgewebes mit **Makrophagen** deutlich. Die Blutmonozyten transformieren sich nach Diapedese in das viszerale Fettgewebe in Makrophagen (41). Die proinflammatorischen Zytokine werden sowohl von den Adipozyten als auch von den Makrophagen sezerniert.

Die Makrophagen, die das Fettgewebe infiltrieren, produzieren TNF und stimulieren den TNF-Rezeptor der Adipozyten, was die Aktivierung des NFκB zu Folge hat. Die TNF-induzierte NFκB Aktivierung der Adipozyten führt zu Lipolyse mit Freisetzung von Fettsäuren. Die Fettsäuren wirken als parakrine

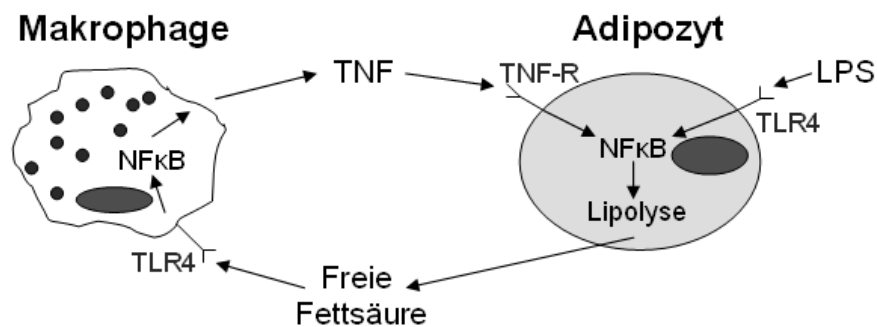


Abb. 27. Zusammenspiel von Makrophagen und Adipozyten

TLR4 Liganden und induzieren den NFκB-Signalweg in Makrophagen, was die Makrophagen zur Produktion proinflammatorischer Zytokine stimuliert. Die Adipozyten exprimieren TLR4 und die LPS-induzierte Stimulation führt zu Produktion proinflammatorischer Zytokine durch die Adipozyten (Abb. 27).

Die Expression immunregulatorischer Produkte vom Fettgewebe weist auf eine potentielle regulatorische Rolle des Fettgewebes bei Infektionen hin. Tatsächlich zeigen adipöse Patienten ($\text{BMI} > 40 \text{ kg m}^2$) auf der Intensivstation eine erhöhte Mortalität, häufiger auftretende Komplikationen und einen längeren Aufenthalt (68). Desweiteren zeigen neue Daten eine Rolle von Adipozytokinen, besonders des Resistins und Leptins, bei der Entstehung extrapankreatischer Nekrosen bei Patienten mit akuter Pankreatitis (69).

Das Fettgewebe sezerniert nicht nur die Adipozytokine sondern auch ihre spezifischen Rezeptoren - ein Zeichen, das das Fettgewebe Quelle sowie Ziel dieser Produkte ist. Die Existenz eines „adipozytären Immunsystems“, das die Adipozyten und Monozyten / Makrophagen sowie die Adipozytokine und das Komplement umfasst, sollte weiterhin untersucht werden.

4.2. Diabetes mellitus Typ 2, eine Erkrankung des angeborenen Immunsystems?

Diabetes mellitus Typ 2, eine chronische Störung des Stoffwechsels, ist durch eine Kombination aus Insulinresistenz der Zielgewebe, z.B. des Skelettmuskels, der Leber und des Fettgewebes sowie einer Störung der Insulinsekretion gekennzeichnet (70). Die Insulinresistenz entsteht in Wechselwirkung mit Umweltfaktoren wie Übergewicht und Bewegungsmangel und genetischer Prädisposition. Typ-2-Diabetes manifestiert sich oft im Zusammenhang mit klinischen und biochemischen Eigenschaften im Rahmen des sogenannten metabolischen Syndroms. Das metabolische Syndrom ist durch Hyperglykämie, Dyslipidämie, viszerale Adipositas, arterielle Hypertonie und Atherosklerose charakterisiert.

Die Theorie, dass die Entzündung an der Pathogenese des Typ-2-Diabetes beteiligt ist, ist nicht neu. 1876 hat Ebstein in der deutschen wissenschaftlichen Literatur berichtet, dass eine erhöhte Dosierung von Salicylat die Glukosurie bei diabetischen Patienten verbessert (71). Pickup und Crook haben im Jahr 1998 eine speziellere pathophysiologische Hypothese publiziert. Diabetiker weisen erhöhte Konzentrationen von Entzündungsmarkern auf, wie Sialinsäure, α 1- Glykoprotein, Amyloid A, CRP und Kortisol sowie eine Dyslipidämie (Hypertriglyzeridämie und erniedrigtes HDL-Cholesterin), die eine Besonderheit der akuten Phase-Reaktion ist. Die Vermutung einer langfristigen Zytokin-induzierten akuten Phase-Reaktion bei Typ-2-Diabetes als Teil eines immunologischen Ansprechens wurde bei Pickup und Crook angestellt. Beim Typ-2-Diabetes lösen der Lebensstil und Umweltfaktoren, besonders bei Personen mit einer Hypersensibilität des akuten immunologischen Ansprechens, eine Erkrankung statt *repair* auf (72).

Im folgenden sind die Anzeichen für eine Rolle des angeborenen Immunsystems bei Diabetes mellitus Typ 2 zusammengefasst (73;74).

- Die Entzündungsmarker korrelieren positiv mit den Charakteristika des metabolischen Syndroms und prognostizieren die Entwicklung des Typ-2-Diabetes.
- Die Dyslipidämie, die charakteristisch für den Typ-2-Diabetes ist, ist eine akute Phase Antwort auf Verletzung und Erkrankung. Die Entzündung ist involviert in die Atherogenese, ein Charakteristikum des Typ-2-Diabetes.
- Die Zytokin-Mediatoren der akuten Phase Antwort führen zu Diabetes-assoziierten Abnormitäten, wie Insulinresistenz, gestörte Insulinsekretion, beschleunigte Atherosklerose, erhöhte kapilläre Permeabilität.
- Gen-Polymorphismen in PRRs (pattern-recognition receptor) des Immunsystems, wie TLR4 (LPS-Rezeptor), beeinflussen das immunologische Ansprechen sowie die Prävalenz des Typ-2-Diabetes oder des metabolischen Syndroms und der Atherosklerose.
- Anti-inflammatorische Medikamente reduzieren die Glykämie und reduzieren die Marker des angeborenen Immunsystems.
- Anti-inflammatorische Medikamente können das Risiko für die Entwicklung des Typ-2-Diabetes reduzieren.
- Viele bekannte Risikofaktoren für Typ-2-Diabetes aktivieren immunologische Signalwege (z.B. Adipositas, Bewegungsmangel, Nikotinabusus, psychologischer Stress).

Evolutionäre Zusammenhänge hinsichtlich der engen Verbindung zwischen Immunität und Stoffwechsel sind auch beschrieben. Funktionelle Strukturen, die metabolische und immunologische Schlüssel-Funktionen kontrollieren, haben sich aus gemeinsamen ancestors entwickelt. So enthält z.B. das fat body des Drosophila, welches Homologie zur Leber, zum hämatopoetischen System und zum Fettgewebe der Säugetiere aufweist, auch immunologische Komponenten. Im Verlauf der Evolution entwickelte das menschliche und tierische Fettgewebe auch immunologische und inflammatorische Funktionen.

Diese primitiven Mechanismen und metabolischen Adaptierungen, die entscheidend für das Überleben des Menschen waren, sind diejenigen, die den Mensch in den heutigen „obesigenic environment“ (mit hochkalorischen Nahrungsmitteln, Stress und Bewegungsmangel) bedrohen (75).

4.3. Einfluss des Lipidstoffwechsels auf die proinflammatorische Aktivierbarkeit von Monozyten bei Diabetes mellitus.

Es gibt drei triftige Gründe für die Untersuchungen der Korrelation zwischen Monozyten Aktivierung und Lipidstoffwechsel:

1. Die Serum Lipoproteine können effektiv LPS binden und somit seine Toxizität und inflammatorische Effekte reduzieren (76;77).
2. Die Vorteile einer lipidsenkenden medikamentösen Therapie bei kardiovaskulären Erkrankungen lassen sich nicht nur durch das lipidsenkende Potential dieser Medikamenten erklären.
3. Für Statine sind neben der LDL-senkenden Wirkung auch anti-inflammatorische Effekte beschrieben.

In diesem Zusammenhang wurde vermutet, dass die Serum Lipoproteine die LPS-induzierte Monozyten Aktivierung und Zytokin Produktion kontrollieren (76).

Die Cholesterin- und Triglyzeridreichen Lipoproteine können die bakteriellen Lipopolysaccharide (LPS, Endotoxin) binden und inhibieren. Erhöhte Konzentrationen von inflammatorischen Zytokinen, Anfälligkeit für Infekte, zytokininduzierte katabolische Stoffwechsellaage und erhöhte Mortalität können eine Folge niedriger Lipoproteinkonzentrationen sein. LPS stimuliert die Produktion proinflammatorischer Zytokine in Immunzellen, und die inflammatorische immunologische Aktivierung könnte ein negativer Rückkopplungs-Mechanismus zur weiteren Reduktion der Lipoproteine sein (78). Experimentelle Studien zeigten, dass Lipoproteine, wie LDL, VLDL, HDL, Lp(a), Triglyzeride und Chylomikrone die LPS Bioaktivität modulieren können (79).

LPS wird mit Hilfe eines spezifischen LPS-binding Proteins transferiert und die Bindung mit Lipoproteinen reduziert seine Bioaktivität und seine proinflammatorische Wirkung. LPS kann alternativ mittels Interaktion mit dem TLR4 (entweder direkt oder nach Bindung mit mCD14) (s. Kapitel 1.4.2) eine proinflammatorische Zytokinproduktion ermöglichen (Abb. 28) (78).

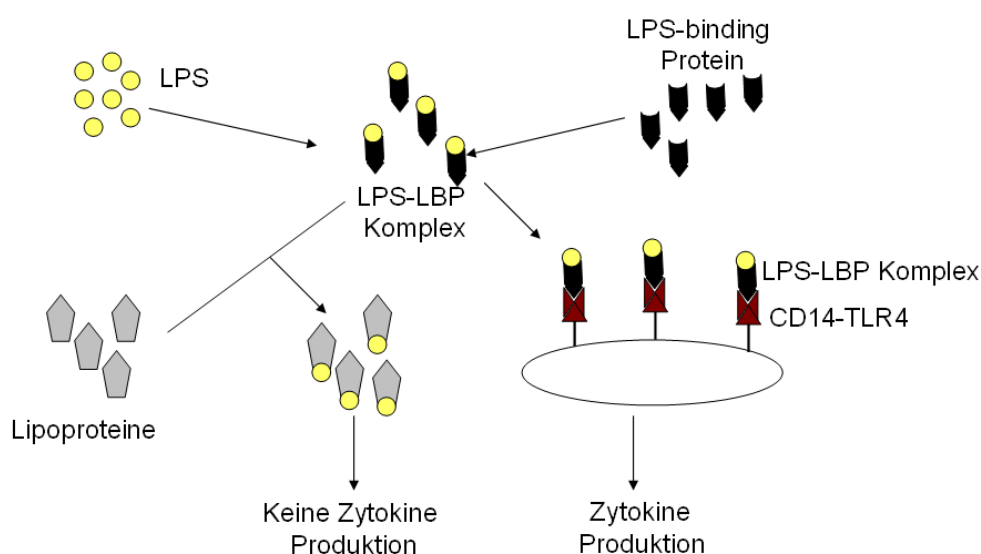


Abb. 28. Die Interaktion zwischen LPS und den Serum-Lipoproteinen

Oxidiertes LDL hemmt die TNF Expression in Makrophagen (77) und HDL neutralisiert die LPS Aktivität (80). Die reduzierte LPS Toxizität nach Lipoproteinbindung wurde in mehreren Studien gezeigt. In Übereinstimmung hiermit führt die Hypolipoproteinämie zur erhöhten LPS-induzierten Letalität bei Tieren. Niedrige Lipoproteinkonzentrationen bei Menschen erhöhen das Todesrisiko bei Infektionen. Die Funktion der Lipoproteine wird aufgrund einer Erhöhung der LPS-Clearance nach der Entstehung der LPS-Lipoprotein Komplexe und der Verhinderung der LPS-Bindung an die Zellen als protektiv angesehen (79).

Die LPS-Aufnahme von LDL-Lipoproteinen, die während eines akuten Infekts als nützlich gilt, kann während eines chronischen Infekts eventuell schädlich sein. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die LPS-Bindung an LDL

und VLDL eine toxische Aktivität auslöst, die langfristig in der Entwicklung der Atherosklerose eine pathogenetische Rolle spielt. LDL schützt das Endothel vor akuter LPS Toxizität bei Formation der LPS-LDL Komplexe, jedoch wandern die Komplexe durch das Endothel und erhöhen (mittels unbekannter Mechanismen) die chemotaktische Aktivität der Monozyten. Der Transport der LDL-LPS Komplexe in die arterielle Wand hat eine inflammatorische und atherosklerotische Reaktion zur Folge (81). Desweiteren wurde ein stimulierender Effekt des nativen HDL auf die LPS-induzierte Monozyten Aktivierung beschrieben.

Die Makrophagen spielen eine Schlüsselrolle in der Entwicklung eines atherogenen Plaques (s. Kapitel 1.4.3). Der Hauptmechanismus zur Schaumzellen-Bildung ist die Akkumulation von Cholesterylestern aus dem LDL in den Makrophagen. Verschiedene modifizierte LDL-Formen sind beschrieben, einschließlich oxLDL, *acetylated* LDL und *aggregated* LDL. Die Inkubation der Makrophagen mit niedrigen oxLDL-Konzentrationen schützt die Zellen vor Apoptose und induziert die Zellproliferation. Im Gegensatz dazu induzieren erhöhte oxLDL Konzentrationen und eine verlängerte Inkubationszeit den Zelltod. Die oxLDL-Effekte sind abhängig von der Intensität der LDL Oxidation und der oxLDL-Konzentration. Niedrige Konzentrationen erhöhen die inflammatorische Aktivierung der Makrophagen, erhöhte Konzentrationen hemmen das inflammatorische Ansprechen. Studien zeigten, dass die proinflammatorische LPS-induzierte Aktivierung der Makrophagen nach oxLDL Beladung der Makrophagen erhöht war und die erhöhte NFκB Aktivierung zur Folge hatte (82). Eine andere Studie zeigte, dass IL-1β und TNF-α die Schaumzellbildung aus Makrophagen fördern, zum Teil unter Hemmung Lipidstoffwechsels der Makrophagen (83).

Im Anbetracht der zahlreichen Interaktionen zwischen den Komponenten des Lipoprotein-Stoffwechsels und der Monozyten Aktivierung, war es unser Ziel zu prüfen, ob die LPS-induzierte proinflammatorische Aktivierung der

Monozyten abhängig vom LDL, HLD, Gesamtcholesterin und Triglyzeriden bei Typ-2-Diabetikern ist.

Während die LPS-induzierte IL-6 Konzentration keine Korrelation mit den Lipoproteinen zeigte, korrelierte die LPS-induzierte Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ im Überstand der Monozyten signifikant mit dem Serum-Gesamtcholesterin sowie mit dem Serum-LDL-Cholesterin. Diese positive Korrelation wird dabei nicht von CORS-26 beeinflusst. Es besteht keine Korrelation der LPS-induzierten Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ mit den Triglyzeriden oder dem Serum-HDL-Cholesterin. Diese Daten argumentieren für eine proinflammatorische Rolle des Serum-Gesamtcholesterins und des Serum-LDL-Cholesterins. Darüber hinaus, kann die Serum-Gesamtcholesterin- und die Serum-LDL-Cholesterin-Konzentration bei Typ-2-Diabetikern die Höhe der LPS-induzierten Monozyten Aktivierung bestimmen.

In diesem Zusammenhang ist es wichtig, die Anwendungen einer lipidsenkenden medikamentösen Therapie zu diskutieren. Die Statine (oder HMG-CoA Reduktase Inhibitoren) sind weitverbreitet in der Behandlung der Hypercholesterinämie und der Atherosklerose. Weiter haben sie protektive Effekte bei Bakteriämie und Sepsis gezeigt, die nicht nur durch das lipidsenkende Potential dieser Medikamente erklärt werden können (84;85). Die größte Beobachtungsstudie bzgl. einer Statin-Therapie bei Sepsis und Multiorganversagen stammt von Hackan et al. und zeigte, dass die Statin-Therapie bei Patienten mit Atherosklerose mit einem reduziertem Risiko für Sepsis verbunden war (86).

Die Statine zeigen außer ihren lipidsenkenden Effekte auch pleiotrope Effekte, einschließlich immunomodulatorischer, antiinflammatorischer, antioxidativer, endotheliumschützender und antimikrobieller Eigenschaften. Niessner et al. zeigte, dass die Therapie mit Statinen bei gesunden Freiwilligen die monozytäre, LPS-induzierte TLR4 und TLR2 Aktivierung abschwächte (87). Steiner et al. zeigten, dass Simvastatin bei gesunden

Freiwilligen die LPS-induzierte Erhöhung von CRP und MCP-1 hemmt (88). Spitzer et al. haben die Hypothese aufgestellt, dass die Fähigkeit der Statine die Entzündung abzuschwächen, aus deren Fähigkeit, die LDL-Rezeptoren zu erhöhen, entsteht. Die Erhöhung der LDL-Rezeptoren fördert die Internalisierung der Lipoprotein-gebundenen LPS-TLR Komplexe und hat die Vermittlung proinflammatorischer Signalwege (bzw. Hemmung der NF κ B Translokation) zur Folge, die mit einer Verminderung der proinflammatorischen Zytokine enden (89). Fluvastatin hat nicht nur die LPS-induzierte TNF-Konzentration reduziert, sondern auch das Outcome des LPS-induzierten Organversagens bei Mäusen verbessert (90). Okopien et al. zeigten eine reduzierte monozytäre TNF α -Expression bei Patienten unter Behandlung mit Fluvastatin (91). Diese Daten bestätigen unsere Beobachtung, das LDL-Cholesterin positiv mit der LPS-stimulierten TNF-Konzentration korreliert.

5. Zusammenfassung

Adipositas und metabolisches Syndrom werden als ein „chronischer und niedrig-aktiver Entzündungsstatus“ angesehen. Adipozytokine beeinflussen die proinflammatorische Aktivierung der Monozyten, die bei T2DM gestört ist. Neulich wurden Strukturhomologe des Adiponektins identifiziert, die der CTRP Superfamilie zugeordnet werden, wie das CORS-26. Unsere Hypothese war, dass CORS-26 eine anti-inflammatorische Wirkung auf humane Monozyten aufweist. Unser Ziel war es zu prüfen, ob die LPS-induzierte proinflammatorische Aktivierung der Monozyten bei Typ 2 Diabetikern von Parametern des Lipid-Stoffwechsels abhängig ist und ob dies durch das neue Adiponektin-Paralogon CORS-26 beeinflusst werden kann. Es wurden 30 Patienten mit bekanntem T2DM eingeschlossen. Die Isolierung der peripheren Monozyten aus dem peripheren Blut erfolgte mittels einer CD14-vermittelten magnetischen Separation und für jedes Experiment wurden 3×10^6 Monozyten verwendet. Nach LPS- ($1\mu\text{g/ml}$), CORS-26- ($1\mu\text{g/ml}$) und Ko-Stimulation mit LPS und CORS-26 wurde die Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ und IL-6 im Überstand von Monozyten mittels ELISA bestimmt. Während die LPS-induzierte IL-6 Konzentration keine Korrelation mit den Serum-Lipoproteinen zeigte, korrelierte die LPS-induzierte Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ im Überstand der Monozyten signifikant mit dem Serum-Gesamtcholesterin sowie mit dem Serum-LDL-Cholesterin. Diese positive Korrelation wurde dabei nicht von CORS-26 beeinflusst. Es bestand keine Korrelation der LPS-induzierten Konzentration von $\text{TNF}\alpha$ mit den Triglyzeriden oder dem Serum-HDL-Cholesterin. Diese Daten sprechen für eine proinflammatorische Rolle des Serum-Gesamtcholesterins und des Serum-LDL-Cholesterins, dessen Konzentration bei Typ-2-Diabetikern das Ausmass der LPS-induzierten Monozyten-Aktivierung bestimmen kann. Somit beeinflusst der Lipoproteinmetabolismus und damit evtl. auch die Ernährung die Funktionsfähigkeit des innate Immunsystems beim T2DM. Dieser Mechanismus erklärt möglicherweise die über eine bloße Lipidsenkung hinausgehenden protektiven Effekte von Statinen.

6. Literaturverzeichnis

- (1) Siiteri PK. Adipose tissue as a source of hormones. *Am J Clin Nutr* 1987; 45(1 Suppl):277-282.
- (2) Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259(5091):87-91.
- (3) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372(6505):425-432.
- (4) Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6):2548-2556.
- (5) Lehrke M, Lazar MA. Inflamed about obesity. *Nat Med* 2004; 10(2):126-127.
- (6) Schäffler A, Müller-Ladner U, Schölmerich J, Büchler C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr Rev* 2006; 27(5):449-467.
- (7) Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, Smith SC, Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(2):e13-e18.
- (8) Schäffler A, Schölmerich J, Büchler C. The role of 'adipotropins' and the clinical importance of a potential hypothalamic-pituitary-adipose axis. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006; 2(7):374-383.
- (9) Ahima RS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14 Suppl 5:242S-249S.
- (10) Chaldakov GN, Stankulov IS, Hristova M, Ghenev PI. Adipobiology of disease: adipokines and adipokine-targeted pharmacology. *Curr Pharm Des* 2003; 9(12):1023-1031.
- (11) Muoio DM, Newgard CB. Obesity-related derangements in metabolic regulation. *Annu Rev Biochem* 2006; 75:367-401.
- (12) Guerre-Millo M. Adipose tissue and adipokines: for better or worse. *Diabetes Metab* 2004; 30(1):13-19.
- (13) Ghai R, Waters P, Roumenina LT et al. C1q and its growing family. *Immunobiology* 2007; 212(4-5):253-266.
- (14) Kishore U, Gaboriaud C, Waters P et al. C1q and tumor necrosis factor superfamily: modularity and versatility. *Trends Immunol* 2004; 25(10):551-561.

-
- (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) Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26(3):439-451.
 - (17) Schäffler A, Schölmerich J, Salzberger B. Adipose tissue as an immunological organ: Toll-like receptors, C1q/TNFs and CTRPs. *Trends Immunol* 2007; 28(9):393-399.
 - (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) 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.
 - (20) Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1996; 271(18):10697-10703.
 - (21) Iwaki M, Matsuda M, Maeda N et al. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes* 2003; 52(7):1655-1663.
 - (22) Yamauchi T, Kamon J, Ito Y et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003; 423(6941):762-769.
 - (23) 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.
 - (24) Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(10):772-783.
 - (25) 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.
 - (26) Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K et al. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes* 2002; 51(9):2734-2741.
 - (27) 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.
 - (28) 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.

- (29) Hara K, Horikoshi M, Yamauchi T et al. Measurement of the high-molecular weight form of adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2006; 29(6):1357-1362.
- (30) Maeda N, Shimomura I, Kishida K et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 2002; 8(7):731-737.
- (31) 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.
- (32) 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.
- (33) Ouchi N, Kihara S, Arita Y et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999; 100(25):2473-2476.
- (34) Schäffler A, Weigert J, Neumeier M, Schölmerich J, Büchler C. Regulation and function of collagenous repeat containing sequence of 26-kDa protein gene product "cartonectin". *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15(2):303-313.
- (35) Schäffler A, Ehling A, Neumann E et al. Genomic organization, promoter, amino acid sequence, chromosomal localization, and expression of the human gene for CORS-26 (collagenous repeat-containing sequence of 26-kDa protein). *Biochim Biophys Acta* 2003; 1630(2-3):123-129.
- (36) Weigert J, Neumeier M, Schäffler A et al. The adiponectin paralog CORS-26 has anti-inflammatory properties and is produced by human monocytic cells. *FEBS Lett* 2005; 579(25):5565-5570.
- (37) Akiyama H, Furukawa S, Wakisaka S, Maeda T. Cartducin stimulates mesenchymal chondroprogenitor cell proliferation through both extracellular signal-regulated kinase and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathways. *FEBS J* 2006; 273(10):2257-2263.
- (38) Maeda T, Abe M, Kurisu K, Jikko A, Furukawa S. Molecular cloning and characterization of a novel gene, CORS26, encoding a putative secretory protein and its possible involvement in skeletal development. *J Biol Chem* 2001; 276(5):3628-3634.
- (39) Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112(12):1785-1788.
- (40) Grimble RF. Inflammatory status and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5(5):551-559.
- (41) Curat CA, Miranville A, Sengenès C et al. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes* 2004; 53(5):1285-1292.

- (42) Neels JG, Olefsky JM. Inflamed fat: what starts the fire? *J Clin Invest* 2006; 116(1):33-35.
- (43) Charriere G, Cousin B, Arnaud E et al. Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem* 2003; 278(11):9850-9855.
- (44) Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27 Suppl 3:S53-S55.
- (45) Ghanim H, Aljada A, Hofmeyer D, Syed T, Mohanty P, Dandona P. Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. *Circulation* 2004; 110(12):1564-1571.
- (46) Cipelletta C, Ryan KE, Hanna EV, Trimble ER. Activation of peripheral blood CD14+ monocytes occurs in diabetes. *Diabetes* 2005; 54(9):2779-2786.
- (47) Morohoshi M, Fujisawa K, Uchimura I, Numano F. Glucose-dependent interleukin 6 and tumor necrosis factor production by human peripheral blood monocytes in vitro. *Diabetes* 1996; 45(7):954-959.
- (48) Guha M, Bai W, Nadler JL, Natarajan R. Molecular mechanisms of tumor necrosis factor alpha gene expression in monocytic cells via hyperglycemia-induced oxidant stress-dependent and -independent pathways. *J Biol Chem* 2000; 275(23):17728-17739.
- (49) Shanmugam N, Reddy MA, Guha M, Natarajan R. High glucose-induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells. *Diabetes* 2003; 52(5):1256-1264.
- (50) Chacon MR, Vendrell J, Miranda M et al. Different TNFalpha expression elicited by glucose in monocytes from type 2 diabetes mellitus patients. *Atherosclerosis* 2007; 194(2):e18-e25.
- (51) Hatanaka E, Monteagudo PT, Marrocos MS, Campa A. Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes. *Clin Exp Immunol* 2006; 146(3):443-447.
- (52) Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signal* 2001; 13(2):85-94.
- (53) Arkan MC, Hevener AL, Greten FR et al. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med* 2005; 11(2):191-198.
- (54) Tabata T, Mine S, Kawahara C, Okada Y, Tanaka Y. Monocyte chemoattractant protein-1 induces scavenger receptor expression and monocyte differentiation into foam cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 305(2):380-385.
- (55) Gartner V, Eigentler TK. Pathogenesis of diabetic macro- and microangiopathy. *Clin Nephrol* 2008; 70(1):1-9.

- (56) van Oostrom AJ, van Wijk JP, Sijmonsma TP, Rabelink TJ, Castro CM. Increased expression of activation markers on monocytes and neutrophils in type 2 diabetes. *Neth J Med* 2004; 62(9):320-325.
- (57) Corrales JJ, Almeida M, Burgo RM, Hernandez P, Miralles JM, Orfao A. Decreased production of inflammatory cytokines by circulating monocytes and dendritic cells in type 2 diabetic men with atherosclerotic complications. *J Diabetes Complications* 2007; 21(1):41-49.
- (58) Lyon CJ, Law RE, Hsueh WA. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology* 2003; 144(6):2195-2200.
- (59) Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Mizuno K, Matsuzawa Y, Matsubara K. Analysis of an expression profile of genes in the human adipose tissue. *Gene* 1997; 190(2):227-235.
- (60) Kopp A, Büchler C, Neumeier M et al. Innate Immunity and Adipocyte Function: Ligand-specific Activation of Multiple Toll-like Receptors Modulates Cytokine, Adipokine, and Chemokine Secretion in Adipocytes. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17(4):648-56.
- (61) Choy LN, Spiegelman BM. Regulation of alternative pathway activation and C3a production by adipose cells. *Obes Res* 1996; 4(6):521-532.
- (62) Cianflone K, Maslowska M, Sniderman AD. Acylation stimulating protein (ASP), an adipocyte autocrine: new directions. *Semin Cell Dev Biol* 1999; 10(1):31-41.
- (63) Patrick M, Luckett J, Yue L, Stover C. Dual role of complement in adipose tissue. *Mol Immunol* 2009; 46(5):755-760.
- (64) MacLaren R, Cui W, Cianflone K. Adipokines and the immune system: an adipocentric view. *Adv Exp Med Biol* 2008; 632:1-21.
- (65) Parker LC, Prince LR, Sabroe I. Translational mini-review series on Toll-like receptors: networks regulated by Toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clin Exp Immunol* 2007; 147(2):199-207.
- (66) Hwa CH, Bae YC, Jung JS. Role of toll-like receptors on human adipose-derived stromal cells. *Stem Cells* 2006; 24(12):2744-2752.
- (67) Poulain-Godefroy O, Froguel P. Preadipocyte response and impairment of differentiation in an inflammatory environment. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356(3):662-667.
- (68) Yaegashi M, Jean R, Zuriqat M, Noack S, Homel P. Outcome of morbid obesity in the intensive care unit. *J Intensive Care Med* 2005; 20(3):147-154.
- (69) Schäffler A, Landfried K, Volk M et al. Potential of adipocytokines in predicting peripancreatic necrosis and severity in acute pancreatitis: pilot study. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22(3):326-334.

- (70) Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* 2005; 365(9467):1333-1346.
- (71) Ebstein W. Zur Therapie des Diabetes mellitus, insbesondere über die Anwendung des Salicylsauren Natron bei dem demselben. *Berlin KlinWochenschrift* 1876; 13:337-340.
- (72) Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia* 1998; 41(10):1241-1248.
- (73) Pickup JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(3):813-823.
- (74) Fernandez-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev* 2003; 24(3):278-301.
- (75) Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112(12):1785-1788.
- (76) Flegel WA, Wolpl A, Mannel DN, Northoff H. Inhibition of endotoxin-induced activation of human monocytes by human lipoproteins. *Infect Immun* 1989; 57(7):2237-2245.
- (77) Hamilton TA, Ma GP, Chisolm GM. Oxidized low density lipoprotein suppresses the expression of tumor necrosis factor-alpha mRNA in stimulated murine peritoneal macrophages. *J Immunol* 1990; 144(6):2343-2350.
- (78) Rauchhaus M, Coats AJ, Anker SD. The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *Lancet* 2000; 356(9233):930-933.
- (79) Vreugdenhil AC, Snoek AM, van 't V, Greve JW, Buurman WA. LPS-binding protein circulates in association with apoB-containing lipoproteins and enhances endotoxin-LDL/VLDL interaction. *J Clin Invest* 2001; 107(2):225-234.
- (80) Pajkrt D, Doran JE, Koster F et al. Antiinflammatory effects of reconstituted high-density lipoprotein during human endotoxemia. *J Exp Med* 1996; 184(5):1601-1608.
- (81) Navab M, Hough GP, Van Lenten BJ, Berliner JA, Fogelman AM. Low density lipoproteins transfer bacterial lipopolysaccharides across endothelial monolayers in a biologically active form. *J Clin Invest* 1988; 81(2):601-605.
- (82) Groeneweg M, Kanters E, Vergouwe MN et al. Lipopolysaccharide-induced gene expression in murine macrophages is enhanced by prior exposure to oxLDL. *J Lipid Res* 2006; 47(10):2259-2267.
- (83) Persson J, Nilsson J, Lindholm MW. Interleukin-1beta and tumour necrosis factor-alpha impede neutral lipid turnover in macrophage-derived foam cells. *BMC Immunol* 2008; 9:70.

-
- (84) Dell'Omo G, Bandinelli S, Penno G, Pedrinelli R, Mariani M. Simvastatin, capillary permeability, and acetylcholine-mediated vasomotion in atherosclerotic, hypercholesterolemic men. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68(4):427-434.
 - (85) Schmidt H, Hennen R, Keller A et al. Association of statin therapy and increased survival in patients with multiple organ dysfunction syndrome. *Intensive Care Med* 2006; 32(8):1248-1251.
 - (86) Hackam DG, Mamdani M, Li P, Redelmeier DA. Statins and sepsis in patients with cardiovascular disease: a population-based cohort analysis. *Lancet* 2006; 367(9508):413-418.
 - (87) Niessner A, Steiner S, Speidl WS et al. Simvastatin suppresses endotoxin-induced upregulation of toll-like receptors 4 and 2 in vivo. *Atherosclerosis* 2006; 189(2):408-413.
 - (88) Steiner S, Speidl WS, Pleiner J et al. Simvastatin blunts endotoxin-induced tissue factor in vivo. *Circulation* 2005; 111(14):1841-1846.
 - (89) Spitzer AL, Harris HW. Statins attenuate sepsis. *Surgery* 2006; 139(3):283-287.
 - (90) Chen CH, Lee RP, Wu WT, Liao KW, Hsu N, Hsu BG. Fluvastatin ameliorates endotoxin induced multiple organ failure in conscious rats. *Resuscitation* 2007; 74(1):166-174.
 - (91) Okopien B, Krysiak R, Kowalski J et al. Monocyte release of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in primary type IIa and IIb dyslipidemic patients treated with statins or fibrates. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46(3):377-386.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Regensburg, 30. März 2009

Margarita Bala

Teile dieser Arbeit wurden in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikationen:

Andrea Kopp, Margarita Bala, Johanna Weigert, Christa Büchler, Markus Neumeier, Charalampos Aslanidis, Jürgen Schölmerich, Andreas Schäffler. Effects of LPS and CTRP-3 on cytokine release from human primary monocytes of patients with type 2 diabetes mellitus are associated with cholesterol metabolism (Obesity, eingereicht).

Poster:

Margarita Bala, Andrea Kopp, Johanna Weigert, Christa Büchler, Markus Neumeier, Jürgen Schölmerich, Andreas Schäffler. Einfluss des Lipoproteinmetabolismus auf die Monozytenaktivierung bei Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus. 115. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin. Wiesbaden 18. – 22. April 2009.

Danksankung

An erster Stelle möchte ich mich bei Prof. Dr. Jürgen Schölmerich für das Vertrauen, die Motivation und die freundliche Aufnahme in seiner Klinik bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer und Doktorvater Prof. Dr. Andreas Schäffler für die Aufnahme in seiner Arbeitsgruppe und die Ermöglichung dieser Dissertation, die spannende Themenstellung, seine ausgezeichnete Betreuung, Beratung und Unterstützung sowie die raschen Rückmeldungen.

Ganz herzlich möchte ich Andrea Kopp und Kerstin Winkler sowie allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für die Hilfsbereitschaft und die optimale Zusammenarbeit danken, die eine wichtige Voraussetzung für das Entstehen und das Gelingen der Arbeit war. Meinen freundlichen Dank an Dr. Jens Hansen und Dr. Sandra Siedenbergl für das Korrekturlesen dieser Arbeit und die hilfreichen Anmerkungen. Meinen großen Dank an Dr. Falitsa Mandraka für ihre moralische Unterstützung und die viele spannende Diskussionen. Mit ihrer Erfahrung und wertvollen Ratschläge hat sie zur schnelleren Vollendung dieser Arbeit beigetragen. Nicht zuletzt danke ich alle die teilnehmende Patienten, Studenten und Mitarbeiter der Klinik, ohne die diese Arbeit nicht möglich wäre.

Schließlich möchte ich mich bei meiner Familie und meinen lieben Freunden bedanken. Insbesondere meine Eltern Ioannis und Tiveria, meine Großmutter Margarita und meinen Bruder Giorgos, die mir all die Jahre zur Seite standen und stehen.

Meinen Dank an alle Personen, die mich im Laufe dieser Doktorarbeit unterstützt und motiviert haben und dazu beigetragen haben, das dieses Projekt mir sehr großen Spaß und Freude gemacht hat!

Vor- und Zuname	Margarita Bala
Geburtsdatum	13. Dezember 1982
Geburtsort	Pyli, Griechenland

1988-1994	Grundschule Pyli, Griechenland
1994-1997	1. Gymnasium, Trikala, Griechenland
1997-2000	7. Lyzeum, Trikala, Griechenland

09/2000 - 07/2006 Medizinstudium an der Aristoteles Universität von Thessaloniki, Medizinische Fakultät, Griechenland.

09/2005 – 06/2006 Praktisches Jahr (Thessaloniki, Griechenland)

→ 3 Monate Innere Medizin (Ippokratio Krankenhaus).

→ 3 Monate Chirurgie (Ippokratio Krankenhaus).

→ 3 Wochen Gynäkologie, Geburtshilfe und reproduktive Endokrinologie (Papageorgiou Krankenhaus).

→ 3 Wochen Neurologie (AHEPA Krankenhaus).

→ 6 Wochen Pädiatrie (Ippokratio Krankenhaus).

07/2006 Staatsexamen in Medizin, Medizinische Fakultät, Aristoteles Universität Thessaloniki, Griechenland.

10/2006	Griechische Approbation (Präfektur Trikala).
05/2007	Deutsche Approbation (Bezirksregierung Köln).

Seit 08/2007 Assistenzärztin, Medizinische Klinik und Poliklinik I,
Universitätsklinikum Regensburg.