

# 1. Einleitung

## 1.1. Das metabolische Syndrom

Der Lebensstil in Industrieländern ist gekennzeichnet durch eine hohe Verbreitung von Über- und Fehlernährung sowie körperlicher Inaktivität. Die Folge davon sind multiple Stoffwechselstörungen im Sinne eines metabolischen Syndroms.

**Definition.** Das metabolische Syndrom ist eine Anhäufung verschiedener Risikofaktoren und Erkrankungen, bestehend unter anderem aus Übergewicht beziehungsweise (bzw.) Fettleibigkeit (Adipositas), Insulinresistenz bzw. Diabetes mellitus Typ 2 (Diabetes Typ 2), Hypertonie und Fettstoffwechselstörungen. Diese Krankheiten treten häufig zusammen auf, so dass versucht wurde, gemeinsame pathogene Merkmale zu finden, die das kombinierte Auftreten dieser Gesundheitsstörungen besser beschreiben.

Bisher gibt es keine allgemeingültige Definition für das metabolische Syndrom. Häufig verwendet werden allerdings die Definitionen der *World Health Organisation* (WHO) [1] oder die des amerikanischen *National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)* [2]. Während nach der WHO-Definition das metabolische Syndrom als Summe von mindestens einem der Faktoren Diabetes, Insulinresistenz oder erhöhtem PlasmaGlucosespiegel sowie mindestens 2 der Faktoren *Body-Mass-Index* (BMI)  $> 30$ , *Waist-to-Hip ratio* (Verhältnis Taillen- zu Hüftumfang)  $> 0,85/0,9$  (weiblich/ männlich), Triglyzeride  $> 150$  mg/ dl, HDL-Cholesterin  $< 39/ 35$  mg/ dl (weiblich/ männlich), Blutdruck  $> 140/ 90$  mmHg und auftretende

Mikroalbuminurie klassifiziert wird, sieht das NCEP die Erkrankung als Summe von mindestens 3 der Faktoren Taillenumfang  $> 88/ 102$  cm (weiblich/männlich), Triglyzeride  $> 150$  mg/ dl, HDL-Cholesterin  $< 50/ 40$  mg/ dl (weiblich/männlich), Blutdruck  $> 130/ 85$  mmHg und Nüchternglucosespiegel von mehr als  $110$  mg/ dl an (siehe Abb.1.1).

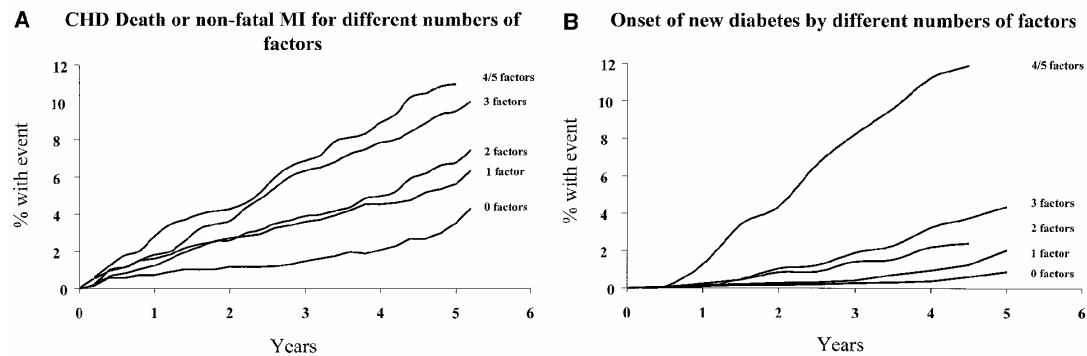
NCEP/ATP III Definition <sup>2</sup>	WHO Definition <sup>5</sup>
Three or more of the following: Waist circumference $> 102$ cm ( $> 40$ in) in men $> 88$ cm ( $> 35$ in) in women Triglycerides $\geq 150$ mg/dL HDL-C $< 40$ mg/dL in men $< 50$ mg/dL in women BP $\geq 130/85$ mm Hg FPG $\geq 110$ mg/dL	Diabetes, IGT, <sup>a</sup> IFG, <sup>b</sup> or insulin resistance plus 2 or more of the following: BMI $> 30$ kg/m <sup>2</sup> and/or WHR $> 0.90$ in men, $> 0.85$ in women  Triglycerides $\geq 150$ mg/dL and/or HDL-C $< 35$ mg/dL in men, $< 39$ mg/dL in women  BP $\geq 140/90$ mm Hg Microalbuminuria (UAE $\geq 20$ $\mu$ g/min or albumin:creatinine ratio $\geq 30$ mg/g)

<sup>a</sup>Normal fasting glucose plus plasma glucose  $\geq 120$  mg/dL 2 hours after 75-g glucose load.  
<sup>b</sup>Plasma glucose  $\geq 100$  and  $< 110$  mg/dL after overnight fast.  
Abbreviations: BMI = body mass index, BP = blood pressure, FPG = fasting plasma glucose, HDL-C = high-density lipoprotein cholesterol, IFG = impaired fasting glucose, IGT = impaired glucose tolerance, UAE = urinary albumin excretion, WHR = waist-to-hip ratio.

**Abbildung 1.1.:** Klassifizierung bzw. Kriterien des metabolischen Syndroms nach der WHO und dem NCEP [3].

**Epidemiologie.** Das metabolische Syndrom ist in den letzten 50 Jahren zu einer Massenerkrankung in allen Ländern mit Überernährung und niedrigem Niveau an körperlicher Aktivität geworden, das im Alter von 40 - 75 Jahren mehr als 15 % der Bevölkerung betrifft. Vor allem in den USA nimmt die Häufigkeit seit Jahren dramatisch zu. So weist nach der NCEP-Definition fast jeder 4. US-Amerikaner ein metabolisches Syndrom auf, was exemplarisch in der *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) untersucht wurde [4]. Auch in Mitteleuropa sind je nach Definition 20 - 30 % der Bevölkerung betroffen. Die Prävalenz des metabolischen Syndroms hängt vom Lebensalter, vom Geschlecht und vom ethnischen und sozialen Hintergrund ab und nimmt vor allem mit fortschreitendem Alter sowie bei übermäßiger Inaktivität und Ernährung zu [5]. Auch genetische Prädisposition lässt das Risiko steigen [6, 7].

**Folgen.** Die Auswirkungen des metabolischen Syndroms auf die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität sowie auf das Neuauftreten von Diabetes Typ 2 wurde in mehreren Studien untersucht. Die schon oben erwähnte Erhebung NHANES III wies eine signifikante Erhöhung des Auftretens von Herzinsuffizienz und Herzinfarkt sowie Schlaganfall in Patienten mit metabolischem Syndrom nach [4]. In einer Studie von Familien mit Vorkommen von Diabetes Typ 2 erhöhte das Auftreten des metabolischen Syndroms das Risiko für koronare Herzkrankheit (KHK), Herzinfarkt oder Schlaganfall um das 2- bis 3-fache [8]. In einer anderen Studie wurde eine Gruppe von finnischen Männern über mehrere Jahre beobachtet, die bisher keine kardiovaskulären Krankheiten, Diabetes oder Krebs aufwiesen. Bei den Männern, die während dieser Zeit ein metabolisches Syndrom entwickelten, war das Risiko für eine KHK um mehr als das 4-fache erhöht. In einer Folgeuntersuchung dieser Population erhöhte sich das Risiko eines neu entwickelten Diabetes Typ 2 sogar um das 5- bis 8-fache [9]. Ähnliche Ergebnisse wurden in einer Analyse der *West of Scotland Coronary Prevention Study* berichtet, in der das Auftreten des metabolischen Syndroms mit einem 1,8-fach erhöhten Risiko einer KHK und einem 3,5-fach erhöhten Risiko eines neu entwickelten Diabetes Typ 2 einherging. Dabei erhöhte jeder dazukommende Risikofaktor des Syndroms das Risiko der Krankheiten schrittweise und bei 4 - 5 Faktoren und Diabetes Typ 2 sogar synergistisch (Abbildung 1.2., [10]).



**Abbildung 1.2.:** Häufigkeit von Herztod und nichttödlichem Herzinfarkt (A) und neu aufgetretenem Diabetes Typ 2 (B) bei unterschiedlicher Anzahl von Risikofaktoren des metabolischen Syndroms [10].

Die oben aufgeführten Untersuchungen zeigen, dass sich während des Verlaufs des metabolischen Syndroms das Risiko einiger schwerwiegender Folgekrankheiten drastisch erhöht und sich sogar teilweise aufgrund des gegenseitigen negativen Einflusses der Einzelkrankheiten potenziert.

**Behandlung.** Für die Behandlung des metabolischen Syndroms existieren zur Zeit keine allgemeingültigen Richtlinien. Generell ist die beste und effektivste Methode, den Gefahren und Komplikationen des metabolischen Syndroms entgegenzuwirken, die Verbesserung des Lebensstils, was vor allem eine Steigerung der körperlichen Aktivität und eine verringerte Nahrungsaufnahme umfasst. So ist ein Ziel aller Therapieansätze, Gewicht zu verlieren und dadurch die Stoffwechsellage des Patienten zu verbessern [11, 12]. Da viele Risiken und Erkrankungen des metabolischen Syndroms miteinander verbunden sind, beeinflusst eine Gewichtsabnahme gleichzeitig mehrere Krankheitsbilder positiv [12]. Auch zwei kürzlich durchgeführte Studien belegen, dass die Gewichtsabnahme bei adipösen Patienten mit verringerter Glucosetoleranz zu einer Senkung der Inzidenz von Diabetes Typ 2, einem Hauptfaktor des metabolischen Syndroms, führt [13, 14].

Für den Teil der Patienten, die nicht in der Lage sind Gewicht zu reduzieren, sollten aggressivere Therapiestrategien incl. medikamentöser und operativer Optionen in Betracht gezogen werden [12].

Mit Hilfe dieser Ansätze sollten folgende Therapieziele erreicht werden:

Eine Absenkung des LDL-Cholesterinspiegels auf weniger als 130 mg/ dl, des Triglyzeridspiegels auf weniger als 150 mg/ dl, der Blutdrucke auf 120/ 80 mmHg oder weniger und des Glucosespiegels auf weniger als 110 mg/ dl sowie eine Erhöhung des HDL-Cholesterinspiegels auf mindestens 40 mg/ dl wären dabei ideal.

Auf die Behandlung der einzelnen Komponenten des metabolischen Syndroms wie zum Beispiel die der Insulinresistenz bzw. die des Diabetes kann hier auf Grund des inhaltlichen Fokus dieser Arbeit nicht eingegangen werden. Dafür sei auf verschiedene Richtlinien der entsprechenden Fachgesellschaften verwiesen [2, 15-17].

**Zusammenfassung.** Die oben aufgeführten Beispiele zeigen, dass die Prävalenz des metabolischen Syndroms noch immer rasant steigt und sich daraus viele schwerwiegende Folgekrankheiten entwickeln. Deswegen könnte sich die Erforschung und Prävention dieser Krankheit als eine der wichtigsten Herausforderungen für die physische und ökonomische Gesundheit unserer zukünftigen Gesellschaft entwickeln.

Dabei sollten die einzelnen Faktoren und Krankheiten nicht mehr einzeln betrachtet, sondern gemeinsam untersucht und behandelt werden. Das impliziert auch die Entwicklung von neuen Pharmaka, die möglichst mehrere Symptome und/ oder Ursachen des Syndroms gleichzeitig angehen und bekämpfen können.

## 1.2. Adipositas

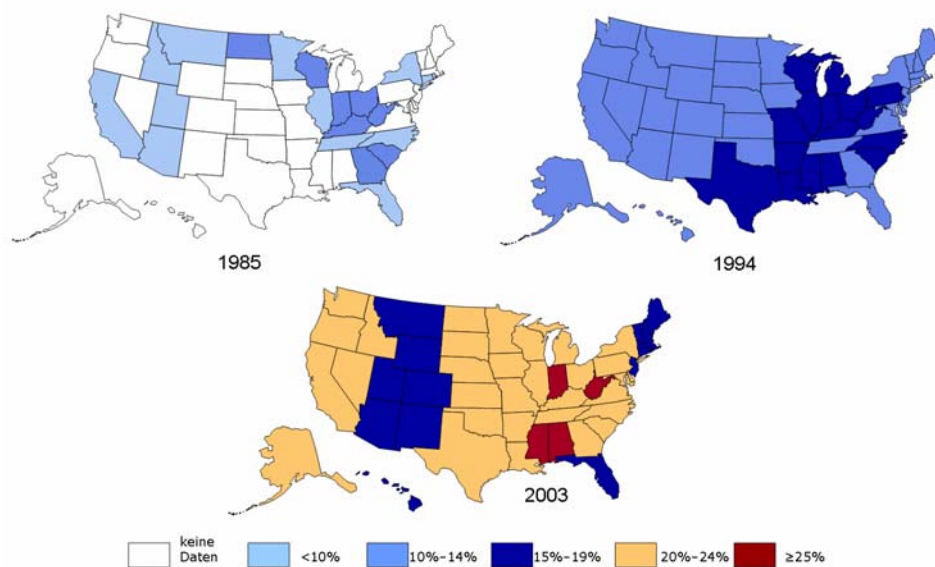
Die Adipositas und die oft mit ihr einhergehende Insulinresistenz sind wichtige Risikofaktoren des metabolischen Syndroms. Die Adipositas kann dabei auch als Motor der ihr assoziierten Krankheiten angesehen werden.

**Definition.** Die WHO definiert die Adipositas über den BMI, den Quotienten aus Körpergewicht (in kg) und quadrierter Körperhöhe (in m<sup>2</sup>) [18]. Dies basiert auf der Erkenntnis, dass das Risiko für Folgeerkrankungen mit steigendem BMI zunimmt. So werden Personen mit einem BMI (in kg/ m<sup>2</sup>) von 18,5 – 24,9 als *normalgewichtig*, von 25,0 und 29,9 als *übergewichtig* und ab 30 als *adipös* bezeichnet.

Neben dem BMI bestimmt die Akkumulation des viszeralen Fettgewebes das Risiko Adipositas-assoziiertes, metabolischer und kardiovaskulärer Erkrankungen [19]. Zur klinischen Bestimmung der Fettverteilung wird von der WHO der Taillenumfang vorgeschlagen, da er mit dem BMI, der viszeralen Fettmasse und dem kardiovaskulären Risiko korreliert [19]. Hier wird, wie schon bei den Kriterien der NCEP für das metabolische Syndrom, der Wert von 88/ 102 cm (weiblich/ männlich) als Grenzwert angesehen.

**Epidemiologie.** Auch hier lieferten die amerikanischen Erhebungen NHANES I - III wertvolle Informationen zur Prävalenz und Entwicklung dieser Krankheit. Obwohl es schon frühere Untersuchungen zur Inzidenz der Adipositas (BMI > 30) gab, wurde erstmals zwischen NHANES II (1982 - 1984) und NHANES III (1988 - 1994) [20] ein deutlicher Anstieg verzeichnet. Die Häufigkeit kletterte damit auf 25 % bei Frauen sowie 20 % bei Männern [21]. Weitere Zwischenergebnisse des amerikanischen *National Health Interview Survey* belegen, dass die Prävalenz in den letzten Jahren weiter gestiegen ist. Auch in den

europäischen Ländern ist der Anteil der adipösen Bevölkerung nicht viel geringer. So schwankt er bei den Frauen zwischen 15 und 44 % und bei den Männern zwischen 10-18 % [22] und liegt in Deutschland bei etwa 20 % für Frauen und Männer [23]. Die Abbildung 1.3. zeigt den dramatischen Anstieg der übergewichtigen Bevölkerung in den USA innerhalb der letzten 20 Jahre.



**Abbildung 1.3.:** Prozentualer Anteil der adipösen Bevölkerung (BMI > 30) der USA im Jahre 1985, 1994 und 2003.

Grafik der *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) nach Daten von Mokdad et al. [24-26].

**Folgen.** Da sich die Adipositas als ein Aspekt des metabolischen Syndroms darstellt, sind deren Folgen ähnlich. So steigt ab einem BMI von 30 das Risiko für Diabetes Typ 2 um das 5-fache im Vergleich zum Normalgewicht an und das für Hypercholesterinämie von 26 % auf 39 % [27]. Auch die Inzidenz der Hypertonie (Blutdruck > 140/ 90 mmHg) stieg bei NHANES III im Vergleich zur vorangegangenen Erhebung um 26 % bei Normalgewichtigen, um 48 % bei einem BMI von > 30 und sogar um 60 % bei einem BMI von > 35 [27]. Auch in Deutschland sind fast die Hälfte der adipösen Bevölkerung hyperten [23]. Da

auch das Risiko für eine KHK bei Fettleibigen auf das Doppelte erhöht ist, kann man zusammenfassend sagen, dass das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen ganz wesentlich vom BMI bestimmt wird [28, 29].

Weitere, weniger bekannte Folgeerscheinungen der Adipositas sind Hepathopathie [30], Myokardhypertrophie [31, 32] und Nephropathie [33, 34]. Auch die Insulinresistenz wird als häufige Begleiterscheinung der Adipositas für eine Reihe von Adipositas-assoziierten Folgeerkrankungen verantwortlich gemacht [35-37].

## 1.3. Insulinresistenz und Diabetes

### 1.3.1. Insulinresistenz

**Definition.** Wie die Adipositas ist auch die Insulinresistenz ein bedeutender Faktor des metabolischen Syndroms. Unter ihr versteht man die verminderte Wirksamkeit von Insulin am Zielorgan. Meistens bezieht sich diese Aussage auf die reduzierte Wirkung im Glucosestoffwechsel insbesondere auf die Glucoseverwertung nach Glucosezufuhr [38]. Insulinresistent sind sowohl Typ 2 Diabetiker, als auch Personen, die noch keine Symptome eines vollständig ausgebildeten Diabetes haben.

Die exakte Ermittlung einer Insulinresistenz ist aufwendig. Meist dient dazu die Glucose-*Clamp*-Technik, die das Verhältnis Insulin zu Glucose im Rahmen einer kombinierten Insulin-Glucose-Infusionstechnik bestimmt [39]. Eine vereinfachte Variante der *Clamp*-Technik sind die im Rahmen eines intravenösen Glucose-Toleranztestes in zeitlichen Abständen bestimmten Insulin- und Glucosespiegel, aus denen die Insulinresistenz berechnet wird [40]. Für die



Untersuchung im Rahmen von epidemiologischen Studien wird eine noch einfachere Methode angewandt, nämlich die Bestimmung des HOMA-Indexes (*Homeostasis Model Assessment*). Hierbei wird der Nüchtern-glucose- und der Nüchterninsulinspiegel bestimmt und über ein mathematisches Modell die Insulinresistenz und die  $\beta$ -Zellfunktion berechnet [41]. Der so ermittelte Index korreliert gut mit den über die *Clamp*-Technik erzielten Werten als Referenzmethode [42]. Liegen die Werte um 1, dann liegt keine Insulinresistenz vor und Werte um 2 werden als grenzwertig angesehen. Liegt der HOMA-Index über 2,5, wird von einer Insulinresistenz ausgegangen.

**Epidemiologie und Folgen.** Da die Insulinresistenz fast immer ein Charakteristikum des Diabetes Typ 2 ist bzw. zu ihm führt, sind die Prävalenz und die Folgen dieser Stoffwechselstörung mit dem des Diabetes Typ 2 vergleichbar.

### 1.3.2. Diabetes

**Definition.** Diabetes ist die Summe von unterschiedlichen Defekten des Kohlenhydratstoffwechsels als Folge einer gestörten Freisetzung und/ oder Wirkung von Insulin [43]. Die Erkrankung führt unweigerlich zur Hyperglykämie, welches das Markenzeichen dieser Krankheit darstellt und langzeitige Schädigungen, Dysfunktionen und Versagen von verschiedenen Organen, insbesondere Augen, Nieren, Nerven, Herz und Blutgefäßen, zur Folge hat.

Der Diabetes kann hauptsächlich in 2 Typen eingeteilt werden, in den Diabetes Typ 1 und in den Diabetes Typ 2. Beim Typ 1 liegt eine, meist immunogene, Störung der insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen in den Langerhansschen Inseln vor, die zu einer ungenügenden bis fehlenden Produktion bzw. Sekretion von Insulin führen. Der sehr häufige Typ 2, der weit über 90% aller Diabeteserkrankungen

ausmacht, resultiert unter anderem aus der oben genannten Insulinresistenz [1, 43].

Ein zur Zeit häufig verwendetes diagnostisches Kriterium eines Diabetes Typ 2 ist ein Nüchternglucosespiegel von mehr als 126 mg/ dl und ein, 2 Stunden nach einem oralen Glucose-Toleranztest ermittelter, Glucosespiegel von mehr als 200 mg/ dl [43].

**Epidemiologie.** Als assoziierte Krankheit des metabolischen Syndroms besitzt vor allem der Diabetes Typ 2 gegenüber anderen Krankheiten eine hohe Prävalenz und verursacht enorme Folgekosten für die Gesundheitssysteme. Hauptursache des Diabetes Typ 2 ist die Adipositas, was einmal mehr die Verknüpfung der einzelnen Krankheiten im metabolischen Syndrom verdeutlicht und eine ganzheitliche Betrachtung dieser notwendig macht.

Die Anzahl von diagnostizierten Diabetikern ist in den letzten 40 Jahren drastisch angestiegen. Während 1985 etwa 30 Millionen Diabetiker weltweit existierten [44], waren es 1995 schon 135 Millionen. Um 2025 werden vermutlich mehr als 300 Millionen Menschen betroffen sein [45]. Auch eine hohe Anzahl von nicht diagnostizierten Fällen wird angenommen.

In Deutschland lassen neuere epidemiologische Erhebungen den Schluss zu, dass die Diabetesprävalenz in den letzten 10 Jahren weiterhin angestiegen ist und gegenwärtig mit einer Zahl von 4,6 Millionen Diabetikern (5,6 % der Bevölkerung) zu rechnen ist [46].

**Folgen.** Unbehandelter Diabetes erhöht das Risiko für Folgeerkrankungen und reduziert die Lebenserwartung dramatisch. Vor allem kardiovaskuläre Endorganschäden, Nephropathien und Augenschäden treten bei Diabetikern vermehrt auf.

So hat ein 50-jähriger Diabetiker im Schnitt eine um 10 Jahre verringerte Lebenserwartung im Vergleich zum Nichtdiabetiker [47]. Auch andere Erhebungen stellten eine signifikante Senkung der Lebenserwartung beim Diabetiker fest, die unabhängig vom ethnischen und kulturellen Hintergrund sowie vom sonstigen kardiovaskulären Risiko war [48]. So wies eine Untersuchung an 116.000 Frauen ein erheblich gesteigertes Risiko von Herzinfarkt, Schlaganfall und Mortalität in der Diabetes-Gruppe auf, das durch Rauchen, Bluthochdruck und Adipositas noch weiter erhöht wurde [49].

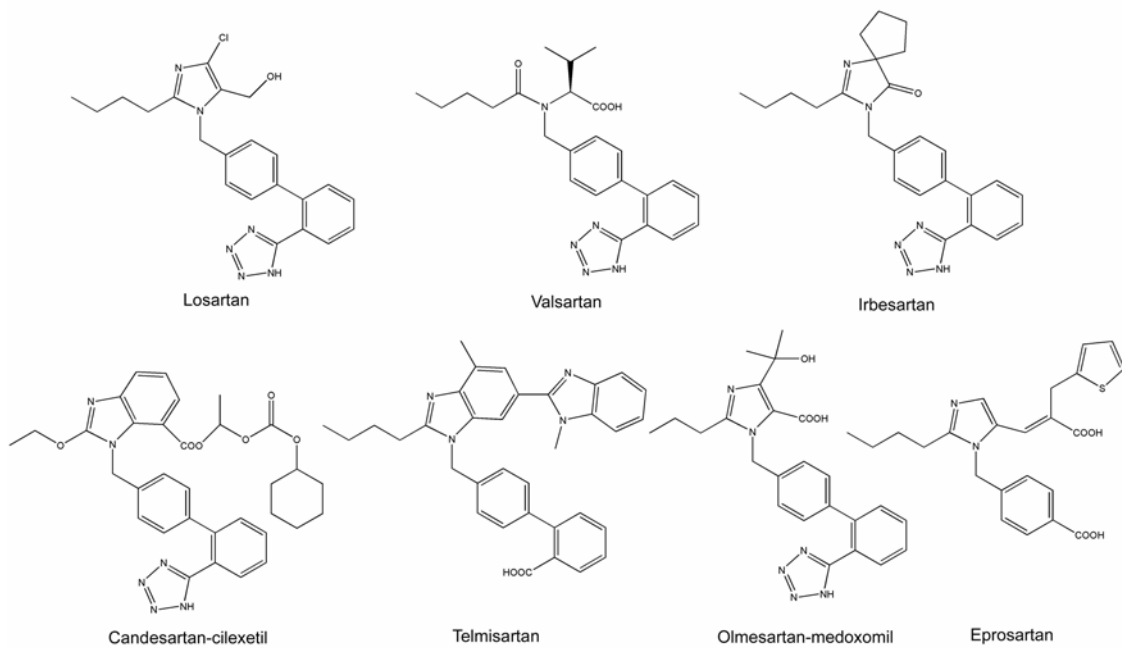
## 1.4. AT1-Antagonisten

**Historie und Entwicklung.** Die Angiotensinrezeptor-Typ 1 (AT1R)-Antagonisten (oder auch AT1-Antagonisten) bilden die jüngste Gruppe im Bereich der Antihypertensiva. Ihre Entwicklung geht in die 80er Jahre des letzten Jahrhunderts zurück.

Die ersten Überlegungen zur Antagonisierung der Wirkungen des Angiotensin II (Ang II) wurden jedoch schon 30 Jahre früher angestellt. Der amerikanische Biochemiker Leonard T. Skeggs Jr. und seine Mitarbeiter deuteten 1956 darauf hin, dass es mit Hilfe von Ang II - Peptid-Analoga möglich sein müsse, die durch Ang II vermittelte Vasokonstriktion auf glatte Gefäßmuskelzellen zu unterbinden [50]. Daraufhin wurden viele Verbindungen synthetisiert, die Anfang der siebziger Jahre in dem von Pals entwickelten Saralasin resultierten, einem Octapeptid, das sich vom Ang II nur in der ersten und letzten Aminosäure unterscheidet [51]. Die Notwendigkeit einer parenteralen Applikation, die kurze Halbwertszeit und die partiell agonistischen Eigenschaften des Saralasins limitierten dessen klinischen Nutzen jedoch stark.

Zehn Jahre später wurden dann die ersten nicht-peptidischen Strukturen mit spezifischer, jedoch schwacher AT<sub>1</sub>-Rezeptoraffinität von japanischen Forschern der Firma Takeda synthetisiert [52]. Diese Imidazolderivate wurden später von DuPont Pharmaceuticals optimiert, was zur Entwicklung von Losartan führte, dem ersten Vertreter dieser neuen Klasse von oral applizierbaren Wirkstoffen mit spezifischer und selektiver AT<sub>1</sub>-Rezeptoraffinität [53]. Losartan gelangte Mitte der Neunziger Jahre zur Marktreife und wurde in Deutschland 1995 unter dem Markennamen Lorzaar zur antihypertensiven Therapie zugelassen.

**Struktur.** Strukturell leiten sich alle AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten von den initial entwickelten Imidazolderivaten ab (siehe Abbildung 1.4.). Ein Imidazolring und ein saurer Biphenyltetrazol-Substituent charakterisieren Losartan. Der Austausch des Imidazolringes entweder mit einer acylierten Aminosäure (Valsartan) [54], einem Imidazolrest (Irbesartan) [55], oder einem Carboxybenzimidazol (Candesartan) [56], führt zu weiteren AT<sub>1</sub>-Antagonisten. Die Angliederung einer Carboxylsäure wie zum Beispiel einer Biphenylcarboxylgruppe und die Substitution eines zweiten Phenylimidazolrestes an Position 6 des ersten Heterozyklus ergeben Telmisartan [57]. Olmesartan ist ein Imidazolcarboxylsäurederivat [58] und Sapisartan ein Imidazolcarboxylsäureamid [59]. Der AT<sub>1</sub>-Antagonist Eprosartan ist der Einzige, der weder einen Biphenyl- noch einen Tetrazolring aufweist. Er wurde ebenfalls durch Erweiterung der Takeda-Ausgangsstruktur mit einem Transacrylsäurerest erhalten [60].



**Abbildung 1.4.:** Strukturformeln der zugelassenen AT1-Antagonisten.

**Renin-Angiotensin-System.** Die AT1-Antagonisten greifen in das Renin-Angiotensin-System (RAS) ein, das eines der bedeutendsten hormonellen Systeme der Blutdruck- und Volumenregulation darstellt. In diesem System spaltet nach einem Stimulus zunächst die in der Niere gebildete Protease Renin vom, aus der Leber stammenden  $\alpha$ 2-Globulin, Angiotensinogen (AGT) das Dekapeptid Angiotensin I (Ang 1-10, Ang I) ab, welches keine wesentliche physiologische Wirkung besitzt. Vom Ang I wird durch die zinkhaltige Peptidase *Angiotensin-Converting-Enzyme* (ACE) das stark vasokonstriktiv wirkende Oktapeptid Angiotensin II (Ang 1-8, Ang II) abgespalten, was dann mit etwa der gleichen Affinität an den AT1R und an den Angiotensin-AT2-Rezeptor (AT2R) bindet. Darüber hinaus entsteht durch Einwirkung einer Aminopeptidase (in der Grafik nicht abgebildet) aus Ang II das Angiotensin III (Ang 2-8, Ang III), das ebenfalls, wenngleich auch mit verminderter Potenz, vasokonstriktiv wirkt. Ang II und Ang III stimulieren in gleich starker Weise die Aldosteronsekretion in

der Nebennierenrinde. Ein weiteres Angiotensinpeptid, das Ang 1-7, ist in seiner Funktion noch umstritten [61].

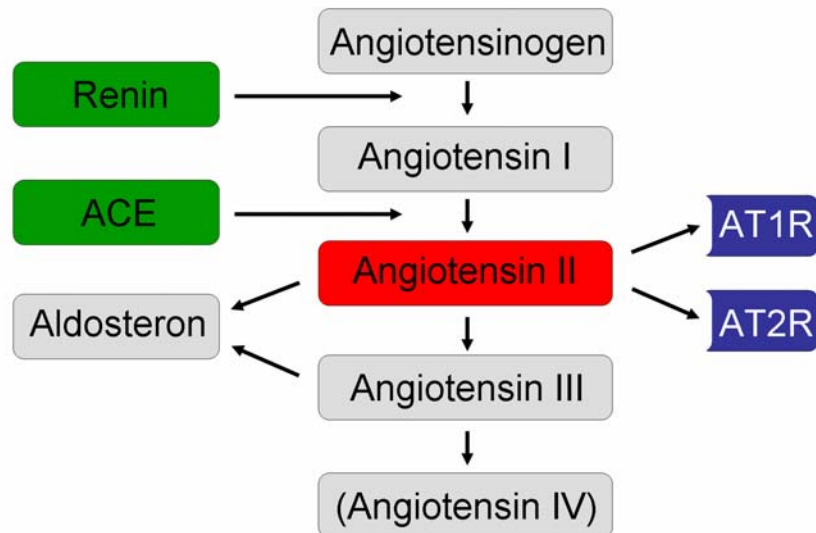


Abbildung 1.5.: Wirkungskaskade des RAS.

**Wirkungen.** Ang II übt seine physiologischen und pathophysiologischen Wirkungen über die beiden Angiotensinrezeptoren aus: den AT1R und den AT2R.

Alle AT1-Antagonisten blockieren spezifisch und selektiv die Bindung von Ang II an den AT1R und damit alle durch diesen Rezeptor vermittelten Wirkungen des Ang II [62, 63]. Die über den AT1R vermittelten Wirkungen des Ang II sind: Vasokonstriktion, renale Salz- und Wasserretention, Reninsuppression, Sympathikusmodulation, zentralnervöse Stimulation des Durstgefühls sowie die Stimulation des Zellwachstums in den Blutgefäßen, im Herz und in der Niere, welches zu pathologischen Strukturveränderungen dieser Organe hinsichtlich einer Mediahypertrophie, Neo-Intimabildung und Atherosklerose, linksventrikulärer Hypertrophie oder Nephrosklerose beitragen kann [62, 63].

Über den AT2R werden folgende Wirkungen vermittelt: Antiproliferation, Zelldifferenzierung, Regeneration, Apoptose und wahrscheinlich auch eine Natriuresis und Vasodilatation. Der AT2R kann somit in vielen Fällen als Gegenspieler des AT1R bezeichnet werden. Unter einer Therapie mit AT1-Antagonisten fällt die über den AT1R vermittelte negative Rückkopplung zur Reninproduktion weg. Höhere Plasmakonzentrationen von Ang II sind die Folge, die vermutlich zu einer vermehrten Stimulation des nicht blockierten AT2R führen und somit zu den o.g. organprotektiven Eigenschaften dieser Substanzklasse beitragen [62-64]. Somit durchbricht die Blockade des AT1R eine Vielzahl von pathogenen Wirkungen des Ang II, deren Folgen unter anderem auch als *kardiovaskuläres Kontinuum* zusammengefasst werden (siehe Abbildung 1.6.), und trägt so maßgeblich zur Prävention kardiovaskulärer Ereignisse bei.

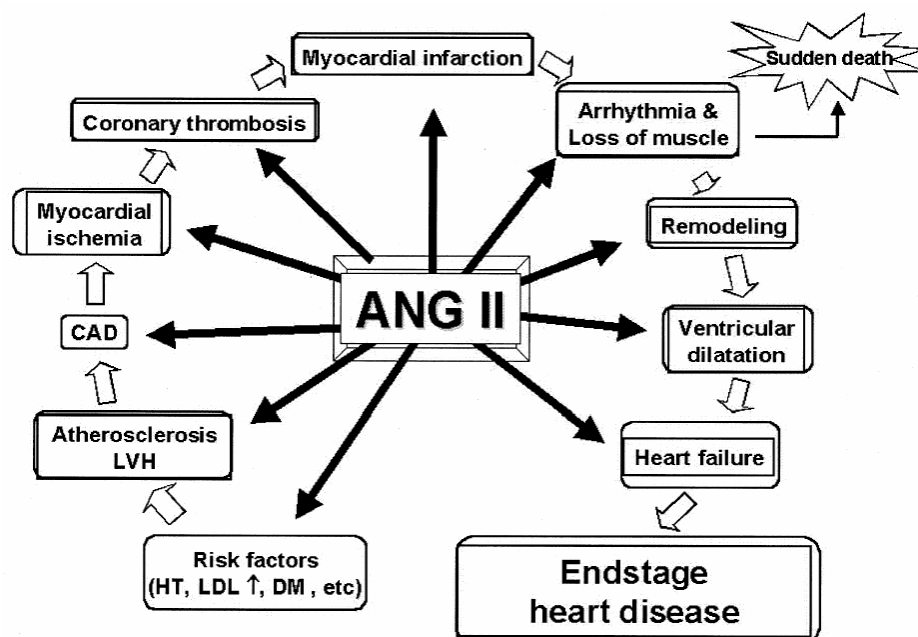


Abbildung 1.6.: Das durch Ang II geförderte kardiovaskuläre Kontinuum [65, 66].

CAD = *Coronary Artery Disease*; DM = *Diabetes Mellitus*; HT = *Hypertension*; LDL = *Low-Density-Lipoprotein*; LVH = *Left Ventricular Hypertrophy*.

In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass AT1-Antagonisten mit der gleichen Effizienz wie die ACE-Hemmer den Blutdruck zu senken vermögen [67-71]. Eine so genannte *Rebound-Hypertonie*, die aufgrund von erhöhten Ang II-Spiegeln nach dem Absetzen der Therapie denkbar wäre, wurde nicht beobachtet.

Bei den AT1-Antagonisten handelt es sich um eine hervorragend verträgliche Substanzklasse. Sie rufen keine charakteristischen Nebenwirkungen hervor und die Verträglichkeit liegt bei fast allen Studien auf Plazeboniveau [61].

**AT1-Antagonisten in der Prävention.** Neben dem vorteilhaften Einfluss der AT1-Antagonisten auf die Blutdrucksenkung und der damit verbesserten Prognose kardiovaskulärer Endorganschäden wie Herzinfarkt, Schlaganfall oder Artherosklerose, konnten in letzter Zeit auch immer mehr Hinweise auf vorbeugende Eigenschaften dieser Stoffklasse gesammelt werden.

So laufen derzeit mehrere Studienprogramme die prüfen, ob die präventive Gabe von AT1-Antagonisten bei Patienten das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse verringert, die lediglich Risikofaktoren hinsichtlich dieser besitzen, jedoch noch keine Symptome wie zum Beispiel Einschränkung der Pumpfunktion oder Myokardhypertrophie aufweisen. In diesen Studien wird ein breites Spektrum von Ereignissen wie zum Beispiel Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt, Schlaganfall, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Diabetes mellitus und Nephropathie miteinbezogen. Die größte derzeit laufende Studie zum Thema ist der ONTARGET (*The ONgoing Telmisartan Alone and in combination with Ramipril Global Endpoint Trial*) TRANSCEND (*Telmisartan RANdomized assessment Study in Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibitor-intolerant Patients with Cardiovascular Disease*)-Versuch, in dem Telmisartan in der Prävention bei Patienten mit hohem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen an etwa 30.000 Teilnehmern untersucht wird [72].



Eine Fragestellung zurzeit durchgeführter und ein wichtiges Resultat bereits abgeschlossener Studien [z.B. *Losartan Intervention For Endpoint Reduction in Hypertension* (LIFE), *Candesartan in Heart Failure-Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity* (CHARM), *The Valsartan Antihypertensive Long-term Use Evaluation-Study* (VALUE)] war die Entdeckung, dass AT1-Antagonisten einen positiven Einfluss auf die Senkung des Neuauftretens von Diabetes Typ 2 besitzen.

Die erste dieser Untersuchungen war die LIFE-Studie, in der eine Losartan- mit einer Atenolol-Therapie in 9124 Hypertonikern mit einer elektrokardiographisch-dokumentierten, linksventrikulären Hypertrophie verglichen wurde [73]. Die Patienten wurden im Mittel über 4 Jahre verfolgt und die Medikation in beiden Armen der Studie unter Hinzunahme von Diuretika (12.5mg HZT, obligat) und anderen Antihypertensiva (fakultativ) erhöht, um einen Zielblutdruck von 140/ 90 mmHg zu erreichen. Beide Behandlungsarme senkten den Blutdruck in praktisch identischem Ausmaß. In der Losartangruppe fand sich jedoch im Gegensatz zu den mit Atenolol behandelten Patienten ein um 13% niedrigeres relatives Risiko ( $p < 0,021$ ) für den kombinierten primären Endpunkt kardiovaskuläre Mortalität und Morbidität (Herzinfarkt oder Schlaganfall). Außerdem verringerte Losartan die Inzidenz für einen Schlaganfall (25 %) und war effektiver als Atenolol in der Reduktion der linksventrikulären Hypertrophie. Auch ein Trend zu einer niedrigeren Gesamtmortalität war zu erkennen. Die Nebenwirkungen waren gering und vergleichbar.

In dieser Studie wurde in der Losartan-Gruppe eine um 25 % niedrigere Inzidenz eines neu entwickelten Diabetes mellitus gegenüber der in der Atenolol-Gruppe verzeichnet.

Die CHARM-Studie ist ebenfalls eine große Erhebung an 7.600 Patienten, deren Ziel die Untersuchung der Wirksamkeit von AT1-Antagonisten zur Behandlung der Herzinsuffizienz war [74]. Die Patienten erhielten randomisiert entweder bis zu 32 mg/ Tag Candesartan oder Placebo zusätzlich zu einer eventuellen Standardtherapie bestehend aus  $\beta$ -Blockern, Diuretika, Digitalis, Spironolacton oder ACE-Hemmern. Die Patienten wurden in drei Teilkohorten aufgeteilt. Es wurde in der Teilstudie *CHARM-Added* Candesartan mit Placebo als Zusatztherapie zu ACE-Hemmern, in der Teilstudie *CHARM-Alternative* Candesartan mit Placebo bei Patienten, die unter einer ACE-Hemmerintoleranz leiden und in der Teilstudie *CHARM-Preserved* Candesartan mit Placebo bei Patienten mit erhaltener, linksventrikulärer Auswurfraction (LVEF > 40 %) verglichen.

Es wurde gezeigt, dass Candesartan sowohl die Anzahl der kardiovaskulären Todesfälle, als auch die Hospitalisationsrate bei Patienten mit Herzinsuffizienz und eingeschränkter systolischer Auswurfraction signifikant zu reduzieren vermochte und zwar unabhängig davon, ob diese Patienten zusätzlich einen ACE-Hemmer einnahmen oder nicht.

Auch hier kam es zu einer im Vergleich zur Placebo-Gruppe um 20 % niedrigeren Inzidenz eines neu entwickelten Diabetes mellitus in der Candesartan-Gruppe.

Die zur Zeit aktuellste, große Untersuchung mit ähnlichem Ergebnis bezüglich der Prävention eines Diabetes mellitus, ist die VALUE-Studie, die den Einfluss des AT1-Antagonisten Valsartan mit dem des Calciumkanalblockers Amlodipin auf kardiovaskuläre Ereignisse hin vergleicht [75]. über 15000 hypertone Patienten mit hohem kardiovaskulärem Risiko wurden mit einer Dosis von entweder 80 mg Valsartan oder 5 mg Amlodipin täglich behandelt, welche nach einem Monat auf 160 mg bzw. 10 mg pro Tag erhöht wurde. Beide Gruppen

erhielten zusätzlich 12,5 mg/ Tag Hydrochlorothiazid (nach 3 Monaten auf 25 mg erhöht). Wenn nötig, wurden auch ACE-Hemmer und Calciumkanalblocker hinzu gegeben, um einen Zielblutdruck von 140/ 90 mmHg zu erreichen. Die Gabe von Valsartan bzw. Amlodipin erfolgte randomisiert und doppelblind, während die zusätzlichen Antihypertensiva offen zur Therapie hinzugefügt wurden. Hinsichtlich des primären kombinierten Endpunkts *kardiale Morbidität und Mortalität* und *Gesamt mortalität* konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Valsartan- und der Amlodipin-Gruppe festgestellt werden. Die Amlodipin-Gruppe hatte jedoch eine signifikant geringere Rate an Herzinfarkten. Die Blutdrucksenkung war unter Amlodipin-Therapie vor allem in der Anfangsphase um mehrere mmHg ausgeprägter als unter Valsartan-Therapie und erst zum Ende der Studie wurden vergleichbare Blutdruckwerte in beiden Gruppen erzielt.

Auch in dieser Untersuchung konnte als ein eindeutiger Vorteil des AT1-Antagonisten eine statistisch signifikante Senkung der Inzidenz von neu aufgetretenem Diabetes Typ 2 von etwa 20 % gegenüber der Amlodipin-Gruppe gezeigt werden.

Zusätzlich zu den in klinischen Studien gezeigten antidiabetischen Effekten von AT1-Antagonisten konnte auch in Tiermodellen der positive Einfluss der AT1-Antagonisten auf die Insulinsensitivität nachgewiesen werden.

So gaben Henriksen et al. adipösen, insulinresistenten *Zucker Fatty* (ZF)-Ratten 50 mg Irbesartan je kg Körpergewicht und Tag für 3 Wochen und stellten mit Hilfe eines oralen Glucose-Toleranztestes eine signifikante Erniedrigung der Glucose- und Insulinantwort fest. Außerdem konnte eine erhöhte Insulin-stimulierte Glucoseaufnahme in die Skelettmuskulatur und ein signifikant, erniedrigter Glucose-Insulin-Index und damit eine Verbesserung der Insulinsensitivität nachgewiesen werden. Sogar eine akute Gabe von 25 bzw.

50 mg Irbesartan je kg Körpergewicht 1 Stunde vor dem oralen Glucose-Toleranztest induzierte eine, durch Messung des Glucose-Insulin-Index gemessene, signifikant verbesserte Insulinsensitivität und eine Steigerung der Insulin-vermittelten Glucoseaufnahme in den Skelettmuskel [76].

In einem anderen Tiermodell für Typ 2 Diabetes wurden *KK-Ay/ Ta* Mäusen 1 mg Valsartan pro kg Körpergewicht und Tag für 2 Wochen über osmotische Minipumpen verabreicht [77]. Diese Behandlung, die den systolischen Blutdruck nicht beeinflusste, resultierte in einer signifikanten Erhöhung der Insulin-stimulierten Glucoseaufnahme in den Skelettmuskel und in einer Verringerung der Glucose- und Insulinspiegel nach Glucosegabe während eines oralen Glucose-Toleranztestes und verbesserte so die Insulinsensitivität dieser Tiere.

In einem weiteren Versuch bekamen ZF-Ratten und ihre schlanken Artgenossen, die *Zucker Lean* (ZL) Ratten, eine Standarddiät sowie eine Trinklösung mit oder ohne Zusatz von 0,01 % des AT1-Antagonisten Olmesartan für 4 Wochen ad libitum [78]. Die ZF-Ratten hatten eine höhere Nahrungsaufnahme jedoch ähnliche Trinkraten im Vergleich zu den ZL-Ratten. Nach der Behandlung hatten die ZF-Ratten gegenüber den ZL-Ratten ein deutlich höheres Gewicht, einen weitaus niedrigeren, nach Bergmann et al. [79] berechneten, Insulinsensitivitätsindex (SI) und eine niedrigere Glucoseseffektivität (SG), die mit höheren Glucose-Plasmaspiegeln einherging. Dies deutete auf eine ausgeprägte Insulinresistenz der ZF Ratten hin. Olmesartan reduzierte in allen Gruppen den Blutdruck um ein ähnliches Maß. In einem intravenösen Glucose-Toleranztest konnte ermittelt werden, dass die mit Olmesartan behandelten ZF-Ratten sowohl im basalen Zustand, als auch nach Glucosegabe deutlich niedrigere Glucose- und Insulinspiegel aufwiesen als die nicht mit Olmesartan behandelten ZF-Ratten. Olmesartan erhöhte demnach auch wesentlich den SI und die SG. Im Gegensatz dazu hatte Olmesartan

weder im basalen Zustand, noch während des Glucose-Toleranztestes, einen Einfluss auf den SI oder die SG der ZL-Ratten, die nicht insulinresistent waren.

Die oben aufgeführten Studien und Experimente stellen eindeutige Belege für die Verringerung der Inzidenz von neu diagnostiziertem Typ 2 Diabetes bzw. für die Steigerung der Insulinsensitivität durch AT1-Antagonisten dar. Die zu Grunde liegenden molekularen Mechanismen dieses Effektes sind jedoch noch weitgehend unbekannt.

## 1.5. Adiponektin

In den letzten Jahren hat die immer umfangreicher werdende Datenlage über die Funktionen des Fettgewebes zu einem Umdenken in dem Verständnis dieses Gewebetyps geführt. Es ist heute generell akzeptiert, dass das Fettgewebe, zusätzlich zu dessen Funktion als Energiespeicherdepot, ein wichtiges und sehr aktives, endokrines Organ darstellt. Es produziert und sezerniert eine Reihe von Hormonen, Zytokinen und anderen Substanzen, die wichtige Funktionen in der Regulation der metabolischen Homöostase, der Immunantwort und anderer physiologischer Prozesse einnehmen. Auch die Insulinsensitivität wird stark von verschiedenen, im Fettgewebe produzierten Zytokinen, die dementsprechend auch Adipozytokine genannt werden, beeinflusst. Diese weisen auf eine mögliche molekulare Verbindung zwischen Adipositas und einer reduzierten Sensitivität verschiedener Zielgewebe auf Insulin hin. Eines dieser Adipozytokine ist das Adiponektin, das im Gegensatz zu allen anderen Adipozytokinen als insulin sensitivierend gilt [80].

**Entdeckung.** Adiponektin wurde zuerst als ein, von differenzierten, murinen 3T3-L1-Adipozyten exprimiertes und sezerniertes Protein nachgewiesen [81], was mit Hilfe einer cDNA subtraktiven Sammlung angereicherter, während der Differenzierung hochregulierter mRNA, erreicht wurde. Die mRNA-Konzentration des Adipozytokins war in den differenzierten 3T3-L1 Adipozyten etwa 100 mal höher als in der undifferenzierten Form der Zellen und wurde nur in Adipozyten gefunden. Das Protein wurde wegen seines ähnlichsten Homologons, dem Komplementfaktor C1q und wegen der Größe von 30 kDa in der *Sodiumdodecylsulfat - Polyacrylamidgelelektrophorese* (SDS - PAGE) *Adipocyte complement-related protein of 30 kDa* (ACRP30) genannt.

Anschließend berichteten verschiedene Gruppen unabhängig voneinander und mit unterschiedlichen Bezeichnungen über die Isolation der murinen und der humanen Form des Adiponektins [82-85]. Die verschiedenen Namen werden immer noch unterschiedlich und speziesabweichend in der Literatur verwendet, wobei sich die Bezeichnung Adiponektin für die humane Form des ACRP30 durchzusetzen scheint und demzufolge hier auch weiterhin verwendet wird.

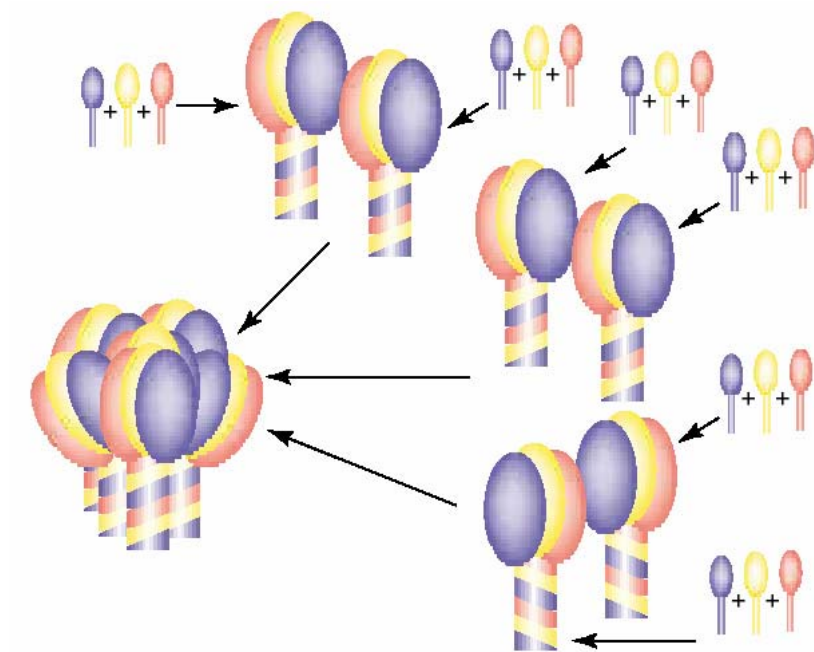
So wurde es auch unter dem Namen AdipoQ durch differentielle Darstellung von murinen mRNAs nicht-adipogener 3T3-C2 Fibroblasten, undifferenzierter 3T3-F442A Präadipozyten und differenzierter 3T3-F442A Adipozyten kloniert [82]. Die cDNA des humanen Homologons des Adiponektins wurde ursprünglich von Maeda et al. als *Adipose Most Abundant Gene Transcript 1* (APM1) identifiziert, da es das, während der Sequenzierung randomisierter Sammlungen von cDNA-Klonen, am häufigsten vorkommende Transkript in weiblichem, humanem Fettgewebe war [83]. Daraufhin wurde von der gleichen Gruppe das entsprechende Genprodukt des APM1, das Adiponektin, entdeckt [84]. Auch Nakano et al. reinigten unabhängig von anderen Arbeitsgruppen das Protein direkt aus humanem Plasma auf, während sie nach Serumproteinen mit Affinität zu Gelatine-Zellulose-Harzen, die ähnlich den kollagen-

bindenden Proteinen waren, suchten und nannten es entsprechend *Gelatin-Binding Protein of 28 kDa* (GBP28) [85].

**Struktur und Rezeptoren.** Adiponektin, das Genprodukt des APM1, ist das humane Homologon des ACRP30 bzw. des AdipoQs. Es ist ein, in relativ hoher Konzentration vorkommendes (2-10 µg/ ml), etwa 30 kDa großes, Plasmaprotein, welches ausschließlich im Fettgewebe produziert wird [84].

Humanes Adiponektin enthält 244 Aminosäuren und wird durch das 4517 Basenpaare lange APM1 kodiert [83]. Das Protein besteht aus einer Signalsequenz, einer Kollagen-Wiederholungsdomäne am N-Terminus und einem globulären Bereich am C-Terminus, welcher Sequenzhomologie zum Kollagen VIII und X und zum Komplementfaktor C1q aufweist [83, 86]. Die Kristallstruktur des globulären Bereichs ist ähnlich der Struktur des Tumornekrose-Faktors  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), obwohl die Primärstruktur beider Proteine keine Homologie aufweist [87]. Diese Ähnlichkeit deutet auf eine Verbindung zwischen den Mitgliedern der TNF- $\alpha$ -Familie und dem Adiponektin inclusive dessen Analoga hin. Der N-terminale Bereich enthält 22 Wiederholungen der Aminosäuresequenz Gly-X-Y bzw. Gly-X-Pro, welche Proteine gemein haben, die kollagenartige Tripel-Helices bilden [83].

So formen 3 Moleküle Adiponektin ein an der kollagenen Domäne eng verknüpftes Homotrimer, welches die Grundstruktur des *in vivo* vorkommenden Adiponektins bildet. Monomere des Adiponektins wurden bisher nicht unter natürlichen Bedingungen beobachtet. Mehrere Trimere (2-6) können sich weiterhin zu Oligomeren assoziieren, die in Form von Komplexen höherer Ordnung im Plasma zirkulieren ([87], Abbildung 1.7.).



**Abbildung 1.7.:** Organisation der Adiponektin-Moleküle zu Homotrimeren und Oligomeren *in vivo* [88].

Es sind bisher 2 Rezeptoren für das Adiponektin bekannt, die kürzlich von Yamauchi et al. kloniert wurden [89]. Sie besitzen 7 Transmembrandomänen und unterscheiden sich strukturell und funktionell von den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Der Adiponektinrezeptor 1 (AdipoR1) kommt vor allem im Muskel vor und bindet überwiegend das C-terminale, globuläre Fragment des Adiponektins und nur wenig das Gesamtprotein. Der Adiponektinrezeptor 2 (AdipoR2) ist reichlich in der Leber zu finden und bindet beide Formen des Adiponektins ähnlich gut. Außerdem sind beide Rezeptoren auch in 3T3-L1 Adipozyten exprimiert [90].

**Metabolische Effekte.** Erste Hinweise des Einflusses des Adiponektins auf den Energiestoffwechsel kamen von der Beobachtung, dass dessen Expression in adipösen und leptindefizienten *ob/ob* Mäusen sowie in einer kleinen Kohorte von adipösen Menschen erniedrigt war [82]. Dieser Befund konnte in Studien an adipösen, Hochfett-diät-gefütterten *db/db* Mäusen [80], an Affen [91] und



auch in größeren Gruppen von Menschen [84, 92, 93] bestätigt werden. Auch eine strenge, negative Korrelation zwischen dem BMI und den Adiponektin-Plasmaspiegeln in einer Gruppe von Japanern konnte durch Arita gezeigt werden [84].

Interessanterweise wies die gleiche Studie nach, dass die Adiponektinspiegel zwischen den einzelnen nicht-adipösen Individuen stark variieren und dass sie bei Frauen höher sind als bei Männern. Eine andere japanische Arbeitsgruppe fand in einer Studie an adipösen Patienten mit vergleichbarem BMI, dass solche, die zusätzlich noch diabetisch waren, noch stärker erniedrigte Adiponektinkonzentrationen aufwiesen. In der adipös-diabetischen Subgruppe, in der auch noch eine koronare Herzkrankheit (KHK) diagnostiziert wurde, wurden die niedrigsten Adiponektinspiegel gemessen [92]. Auch hier hatten die Frauen gegenüber den Männern höhere Spiegel.

Weitere Untersuchungen führten zur Entdeckung neuer negativer Korrelationen zwischen den Adiponektin-Plasmaspiegeln und den Plasmaspiegeln des Nüchterninsulins, der Triglyzeride sowie der Nüchtern- und Postprandialglucose [92, 94].

**Beeinflussung der Insulinsensitivität.** Die signifikanteste und engste Verbindung war jedoch die negative Korrelation zwischen den Adiponektin-Plasmaspiegeln, der Insulinresistenz und der Hyperinsulinämie [94]. Sie war sogar stärker als die zur Körperfettmasse, denn adipöse Tiere mit hohen Adiponektin-Plasmaspiegeln waren insulinsensitiver als schlanke Tiere mit niedrigeren Adiponektinkonzentrationen.

In der schon erwähnten Studie an Rhesusaffen [91] konnte auch die Änderung der Adiponektinspiegel während der Entwicklung von Adipositas und Diabetes studiert werden. Es ist nicht überraschend, dass das Voranschreiten der

Fettleibigkeit der Tiere mit einer Verschlechterung der Insulinsensitivität einherging. In dieser Studie konnten überzeugend die immer niedriger werdenden Adiponektin-Plasmaspiegel gezeigt werden, die interessanterweise schon vor der klinisch manifesten Hyperglykämie und dem maximalen Ausmaß der Fettleibigkeit fielen.

Im Kontrast zum Status der Fettleibigkeit und der Insulinresistenz steigen die Adiponektinspiegel mit zunehmender Gewichtsabnahme [92, 93] und verringerter Nahrungsaufnahme [95].

Bemerkenswert ist auch das Ansteigen der Adiponektinspiegel im Zusammenhang mit der Verbesserung der Insulinsensitivität durch Behandlung mit Thiazolidindionen (TZDs), den als Agonisten des nukleären Peroxisom-Proliferator-aktivierten-Rezeptors- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) wirkenden, sogenannten *Insulinsensitizern*. Diese wichtige Entdeckung konnte sowohl an *db/db* - Mäusen [80, 95] als auch an insulinresistenten Menschen [96] gezeigt werden. Sogar die Adiponektinkonzentration gesunder Patienten konnten durch TZDs gesteigert werden, die ansonsten keine anderen Wirkungen in dieser Gruppe hervorriefen [97]. Im Gegensatz dazu konnten PPAR $\alpha$ -Agonisten oder Metformin die Adiponektinspiegel nicht verändern [98]. Trotz der bekannten Gewichtszunahme unter TZD-Behandlung, die im Gegensatz zum beobachteten Gewichtsverlust unter Adiponektinbehandlung steht [99], sind die oben erwähnten Studien Hinweise dafür, dass die Verbesserung der Insulinsensitivität durch die TZD-Behandlung zumindest zum Teil auf die gesteigerte Adiponektinkonzentration zurückzuführen ist.

Der Zusammenhang zwischen der Adiponektinkonzentration und der Insulinsensitivität konnte auch in die andere Richtung nachvollzogen werden. So verursachte die Behandlung von differenzierten 3T3-L1 Adipozyten [100] und primären, humanen Adipozyten [96] mit TNF $\alpha$ , welches im Zusammenhang mit

der Entwicklung der Insulinresistenz steht, eine Senkung der entsprechenden ACRP30- bzw. Adiponektinspiegel. Auch hier ist die Frage noch offen, ob TNF $\alpha$  direkt über die Senkung der Adiponektinkonzentration die Insulinresistenz hervorruft. Diese Vermutung wird zumindest durch Experimente unterstützt, die zeigten, dass die Insulinresistenz vielmehr eine enge negative Korrelation mit den Adiponektin-Plasmaspiegeln, als mit der Fettmasse aufweist. So entwickelten lipoatrophische Mäuse, in denen das Fettgewebe stark unterentwickelt war, ebenso wie adipöse Tiere, eine Insulinresistenz und Hyperinsulinämie, die jeweils mit niedrigen Adiponektinspiegeln einhergingen [80, 101, 102] und machten damit die nur sekundäre Bedeutung der Fettmasse bezüglich der Entwicklung einer Insulinresistenz deutlich.

Fasst man die oben erwähnten Studien über die Beeinflussung der Adiponektin-Plasmaspiegel zusammen, kann man sagen, dass die Adiponektinkonzentrationen sehr eng mit der Insulinsensitivität korrelieren und dass sie durch insulinsensitivierende TZDs herauf- bzw. durch Insulinresistenzverursachende Hormone herunterreguliert werden. Ob das Adiponektin während der Entwicklung der Insulinresistenz nur ein passiv beeinflusster Faktor ist oder ob es aktiv in das Geschehen eingreift, konnte noch nicht vollständig geklärt werden. Daten, die eher Letzteres vermuten lassen, werden nachfolgend besprochen.

Erste Hinweise auf einen aktiven Einfluss des Adiponektins auf die Insulinsensitivität lieferte die bereits erwähnte Studie von Fruebis et al. [99]. Sie konnten zeigen, dass das C-terminale globuläre Fragment des Adiponektins in der Lage ist, die Glucosekonzentration im Plasma durch gesteigerte Fettsäureoxidation im Muskel zu reduzieren. Dieser Effekt konnte durch zwei andere Untersuchungen bestätigt werden, die dazu noch zeigten, dass das C-terminale, globuläre Fragment des Adiponektins dabei viel potenter als das Gesamtprotein war [80, 103]. In der Leber verbessert wiederum das

Gesamtprotein und nicht das C-terminale Fragment die Insulin-induzierte Verhinderung der Glucoseabgabe ins Plasma *in vivo* und *in vitro* [95, 103]. Weiterhin beeinflusst Adiponektin die Insulinsensitivität und den Metabolismus von Fettzellen parakrin, da nachgewiesen werden konnte, dass das C-terminale, globuläre Adiponektinfragment in der Lage war, die durch TNF $\alpha$  oder suboptimale Insulinspiegel erniedrigte Glucoseaufnahme in die Fettzellen wieder zu verbessern [104].

Die eindrucksvollsten Beweise für eine aktive Rolle des Adiponektins in der Beeinflussung der Insulinsensitivität lieferten allerdings Experimente an Adiponektin-*Knockout* (KO)-Mäusen. Sie wiesen unter normaler Diät keinen besonderen Phänotyp auf, wurden aber unter Hochfett-diät sehr schnell insulinresistent und hatten deutlich erhöhte Insulin- und Glucosespiegel. Die nachträgliche Supplementierung des Adiponektins durch Adenovirus-Transfektion konnte diesen Zustand stark verbessern [105].

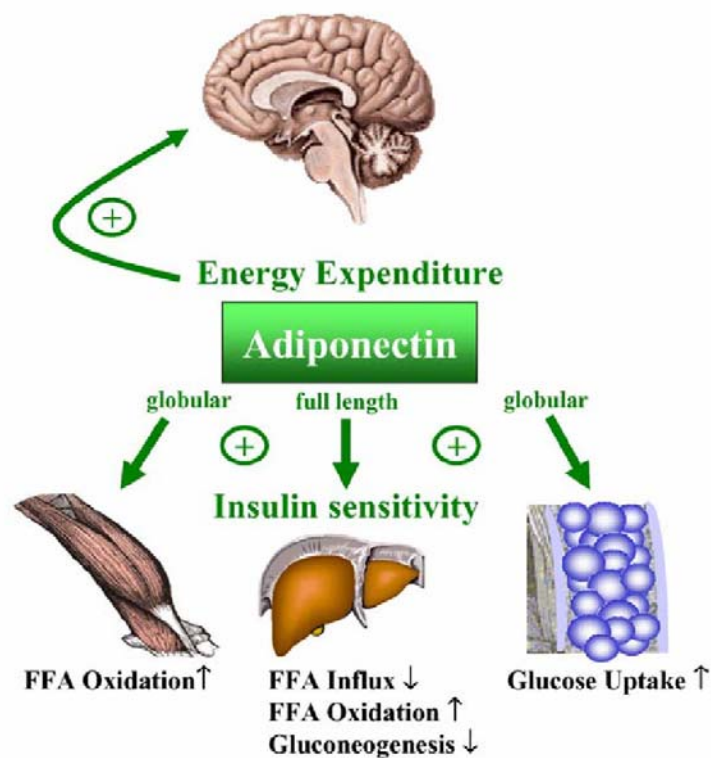


Abbildung 1.8.: Mechanismen der Insulinsensitivierung durch Adiponektin [106].

Über die molekularen Mechanismen der insulinsensitivierenden Wirkung des Adiponektins wurde in letzter Zeit ebenfalls Einiges publiziert. Zunächst bindet entweder das C-terminale, globuläre Fragment oder das Gesamtprotein am AdipoR1 oder AdipoR2. Die Aktivierung der Adenosinmonophosphat-Kinase (AMPK), gefolgt von der Inhibition des Acetyl-Coenzym-A (AcetylCoA) und der Stimulation des PPAR $\alpha$  scheint für die Adiponektinwirkungen essentiell zu sein [103, 107]. So führt die Aktivierung der AMPK in der Leber zu verringerten Konzentrationen glucoseproduzierender Enzyme wie der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase und der Glucose-6-phosphatase [80, 103]. Im Muskel fördert Adiponektin die Produktion von Proteinen, wie zum Beispiel dem CD36, der Acyl-Coenzym-A-Oxidase, dem *Uncoupling*-Protein-2 und PPAR $\alpha$ , die mit dem Fettsäuretransport und der Fettsäureoxidation zu tun haben, was in einer vermehrten Fettverbrennung und einem höherem Energieverbrauch resultiert [80, 103].

**Weitere Wirkungen.** Adiponektin wird neben seinen tiefgreifenden insulinsensitivierenden Wirkungen auch mehr und mehr als ein anti-inflammatorisches und vasoprotektives Adipozytokin angesehen.

So hemmt Adiponektin die Expression mehrerer Proteine, die an der Pathogenese der Atherosklerose beteiligt sind [92]. Außerdem wird die TNF $\alpha$ -stimulierte Adhäsion von Monozyten an endotheliale Zellen durch Adiponektin inhibiert [92]. Ein weiterer wichtiger Effekt des Adiponektins ist die direkte Stimulation der Stickstoffmonoxid (NO)-Produktion in humanen und bovinen Aorten-Endothelzellen [108, 109] sowie die Förderung ihrer Differenzierung [110]. Neben den gut untersuchten Wirkungen des Adiponektins auf die Endothelzellfunktion hemmt das Zytokin sowohl die Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen der humanen Aorta [111, 112], als auch die Differenzierung von, aus Monozyten entstandenen, Makrophagen zu Schaumzellen [113, 114].

Auch in diesem Zusammenhang lieferten Studien an Adiponektin-KO-Mäusen die eindeutigsten Beweise für die Rolle des Adipozytokins als endogener Vasoprotektor. So wiesen die KO-Mäuse im Vergleich zu ihren Wildtyp-Kontrolltieren eine verdickte Neointima auf [115] und zeigten eine verstärkte Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen nach einer mechanischen Verletzung ihrer Arterien [112]. Interessanterweise konnte wiederum die Situation durch Transfektion des Adiponektins mit einem adenoviralen Vektor verbessert werden. Dabei zeigte sich zum Beispiel eine Abschwächung der Neointimaproliferation [112].

Die Signalkaskaden, über die das Adiponektin die Endothel- und Gefäßfunktion beeinflusst, sind größtenteils noch nicht bekannt. So sind beide Adiponektinrezeptoren in Endothelzellen exprimiert [108, 116]. Des Weiteren hängt die erhöhte NO-Produktion [109] und die Differenzierung der Endothelzellen [110] von der Aktivierung der AMPK durch Adiponektin ab. Auch mit der Erforschung der, der AMPK nachgelagerten, Signaltransduktionswege wurde bereits begonnen und einige in Frage kommende Signalmoleküle wurden vorgeschlagen [109, 110, 117].

**Adiponektin und das Renin-Angiotensin-System.** Zur Regulation des Adiponektins durch das RAS oder umgekehrt ist erst wenig bekannt. Eine Grundlage für eine mögliche Verbindung lieferte die Entdeckung eines lokalen RAS im Fettgewebe. Schon 1987 konnte Angiotensinogen (AGT)-mRNA im braunen Fettgewebe gefunden werden [118]. Nach und nach konnten auch alle weiteren Komponenten des RAS in verschiedenen Fettgeweben und Spezies nachgewiesen werden [119]. Auch beide Angiotensinrezeptoren wurden nach der ersten Beschreibung in Adipozytenmembranen des epididymalen Rattenfettgewebes im Jahre 1993 [120] mehrfach in Fettgeweben entdeckt [121-123].

## 1.6. Zielsetzung

Die oben aufgeführten Daten und Erkenntnisse weisen der Erforschung, Prävention und Therapie des metabolischen Syndroms eine große Bedeutung zu. Auf Grund der gegenseitigen Beeinflussung der einzelnen Faktoren dieser Krankheit sollte die Entwicklung neuer Pharmaka und die Suche nach neuen Indikationen schon bekannter Wirkstoffe möglichst mehrere Teilerkrankungen bzw. Symptome berücksichtigen.

Ein wichtiger Aspekt dabei ist die Behandlung des Bluthochdrucks. Dabei haben die AT1-Antagonisten bewiesen, dass sie effizient und nebenwirkungsarm den Blutdruck zu senken vermögen. Außerdem konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass sie zusätzlich in der Lage sind, das Auftreten eines weiteren Faktors des metabolischen Syndroms, nämlich das des Diabetes Typ 2, zu senken. Die molekularen Mechanismen dieser Eigenschaft sind allerdings noch weitgehend unbekannt.

Außerdem ist mittlerweile durch viele Arbeiten bekannt, dass die Plasmakonzentration des Adipozytokins Adiponektin sehr eng mit der Insulinsensitivität korreliert und dass ein Adiponektinmangel mit einer ausgeprägten Insulinresistenz einhergeht, welche durch die nachträgliche Supplementierung des Adipozytokins wieder verbessert werden kann. Über die Beeinflussung des Adiponektins durch das RAS liegen bisher erst wenige Studien vor.

Somit war es das Ziel dieser Arbeit, den Einfluss des RAS auf die Adiponektinexpression zu untersuchen. Dabei sollte die Bedeutung einer Regulation für die durch AT1R-Blockade erzielte Verbesserung der Insulinsensitivität analysiert werden.

Vor diesem Hintergrund ergab sich folgende Hypothese:

**Die durch AT1R-Blockade erzielte Verbesserung der Insulinsensitivität wird über die Modulation des Adipozytokins Adiponektin reguliert.**

Diese sollte durch folgende Untersuchungen überprüft werden:

**1.)**

Effekte der Ang II-Stimulation sowie der RAS-Blockade auf die Protein- und mRNA-Expression von Adiponektin sollten in Adipozyten der Maus untersucht werden. Bei einer Ang II- oder RAS-Blockade-vermittelten Regulation des Adiponektingens sollten des Weiteren Promotoranalysen von diesem Gen durchgeführt werden.

**2.)**

Zelluläre Signaltransduktionewege, welche an der Ang II- und/ oder RAS-Blockade-vermittelten Regulation von Adiponektin beteiligt sind, sollten identifiziert werden. Dabei standen die Ang II-Rezeptoren AT1R und AT2R und der PPAR $\gamma$  im Mittelpunkt. Diese Untersuchungen sollten mit pharmakologischen Agonisten und Inhibitoren durchgeführt.

**3.)**

Zur Untersuchung des Einflusses der, durch RAS-Blockade regulierten, Expression von Adiponektin auf die durch AT1-Antagonisten vermittelte Verbesserung der Insulinsensitivität sollten insulinresistente Ratten mit einem AT1R-Antagonisten behandelt werden. Anschließend sollte im Fettgewebe dieser Tiere die Expression von Adiponektin bestimmt und diese Expressionsmuster mit deren metabolischen Serumparametern korreliert werden.