

Aus dem  
CharitéCentrum 11 für Herz-, Kreislauf- und Gefäßmedizin  
Klinik für Kardiologie und Pulmologie  
Direktor: Prof. Dr. med. Heinz Peter Schultheiss

## **Habilitationsschrift**

# **Die Bedeutung der Adipozytokine für das Krankheitsbild der nicht ischämischen Kardiomyopathie**

zur Erlangung der Lehrbefugnis  
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Peter Bobbert**  
**geboren am 07.04.1978 in Barcelona**

Eingereicht: 09/2013

Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich

1. Gutachter/in: Herr Prof. Dr. N. Frey, Kiel.

2. Gutachter/in: Frau Prof. Dr. S. Pankuweit, Magdeburg

## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	1
1.1.	Kardiomyopathien	1
1.2.	Adipozytokine	4
1.2.1.	Adiponektin	5
1.2.2.	Leptin	6
1.2.3.	Resistin	6
1.2.4.	Retinol bindendes Protein 4	7
1.2.5.	Sonstige	7
1.3.	Tissue Faktor	8
1.4.	Zielsetzung	9
<b>2.</b>	<b>Eigene Arbeiten</b>	10
2.1.	Adiponektin reduziert die kardiale Inflammation und verbessert die hämodynamischen Verhältnisse bei Patienten mit einer DCMi. Bobbert, P. et al.; European Heart J. 2011 Mai; 32(9):1134-47.	10
2.2.	Die Expression von Leptin und Resistin ist bei Patienten mit einer nicht ischämischen Kardiomyopathie assoziiert mit einer klinischen Verschlechterung des Krankheitsbildes. Bobbert, P. et al.; European J. of Heart Failure. 2012 November; 14(11):1265-75	11
2.3.	Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie zeigen erhöhte RBP-4 Plasmakonzentrationen. Bobbert, P. et al.; European J. of Heart Failure. 2009 Dezember; 11(12):1163-8.	12
2.4.	Globuläres Adiponektin induziert erhöhte Prokoagulabilität in humanen Endothelzellen. Bobbert, P. et al.; Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2008 Februar; 44(2):388-94.	13
2.5.	Leptin und Resistin induzieren eine erhöhte Prokoagulabilität durch die Erhöhung der TF Expression bei Patienten mit diabetogener Stoffwechsellage. Bobbert, P. et al.; Cytokine. 2011 November; 56(2):332-7.	14
<b>3.</b>	<b>Diskussion</b>	15
3.1.	Das Krankheitsbild der nicht ischämischen Kardiomyopathie ist gekennzeichnet durch einen veränderten Expressionsgrad der Adipozytokine.	15
3.2.	Adiponektin inhibiert den Progress der inflammatorischen Kardiomyopathie.	16
3.3.	Leptin und Resistin sind assoziiert mit einer Progression der nicht ischämischen Kardiomyopathie.	17
3.4.	Erhöhte RBP-4 Plasmakonzentrationen sind assoziiert mit der Inzidenz eines Diabetes mellitus bei Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie.	18
3.5.	Adipozytokine induzieren eine differenzierte TF Expression.	19
<b>4.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	22
<b>5.</b>	<b>Literaturangaben</b>	23
<b>6.</b>	<b>Danksagung</b>	32
<b>7.</b>	<b>Erklärung</b>	33

## Abkürzungen

APN	Adiponektin
ARCM	Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie
BMI	Body Mass Index
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DCMi	Inflammatorische Kardiomyopathie
EMB	Endomyokardiale Biopsien
ERK1/2	Extrazellulär regulierte Kinasen 1/2
FAPN	„full-length“ Adiponektin
GAPN	Globuläres Adiponektin
HCM	Hypertrophe Kardiomyopathie
HMW	Hoch molekulare Form
HOMA	Homeostasis Model Assessment
HUVECs	Humane Endothelzellen der Umbilikalvene
IL	Interleukin
JNK	c-Jun N-terminale Kinasen
LMW	Niedrig molekulare Form
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVEDD	Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
MAP Kinasen	Mitogen aktivierte Protein Kinasen
MMW	Mittlere molekulare Form
NAD	Nikotinamidadenindiukleotid
Nampt	Nikotinamid-Phosphoribosyltransferase
PAI	Plasminogen Aktivator Inhibitor
PAR	Proteinase aktivierte Rezeptoren
RBP-4	Retinol bindendes Protein 4
RCM	Restriktive Kardiomyopathie
TF	Tissue Faktor
TNF $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor Alpha
t-PA	Gewebsspezifischer Plasminogenaktivator
WHO	Weltgesundheitsorganisation

## 1. Einleitung

### 1.1. Kardiomyopathien

Die Kardiomyopathie ist definitionsgemäß die Erkrankung des Herzmuskels. Sie stellt eine wesentliche Ursache für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz und das Auftreten eines plötzlichen Herztodes dar. Sie wird beschrieben als „eine heterogene Gruppe von Erkrankungen des Myokards mit mechanischer und/oder elektrischer Dysfunktion, die gewöhnlich (aber nicht unbedingt) eine inadäquate ventrikuläre Hypertrophie oder Dilatation aufweist und zahlreiche verschiedene, oft genetische Ursachen hat“<sup>1</sup>. Die Einteilung der unterschiedlichen Kardiomyopathietypen ist heterogen und wird insbesondere durch europäische und amerikanische Fachgesellschaften unterschiedlich vorgenommen. Im europäischen Raum dominiert die Differenzierung der Krankheitsbilder nach der WHO-Klassifikation<sup>2</sup>. Diese unterscheidet 5 einzelne Hauptformen der Kardiomyopathie: die dilatative Kardiomyopathie (DCM), die hypertrophe Kardiomyopathie (HCM), die restriktive Kardiomyopathie (RCM), die arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARCM) und die so genannten sonstigen Kardiomyopathien. Die Einteilung wird hierbei über hämodynamische, morphologische und elektrophysiologische Kriterien vorgenommen, die durch vielfältige invasive und nicht-invasive kardiologische Untersuchungen erhoben werden müssen. Neben dieser formalen Einteilung in die genannten 5 Hauptformen kann zusätzlich eine weitere spezifische Klassifikation der unterschiedlichen Kardiomyopathietypen hinsichtlich der Ätiologie des Krankheitsbildes vorgenommen werden. Zu diesen spezifischen Kardiomyopathieformen zählen unter anderem die inflammatorische Kardiomyopathie, die ischämische Kardiomyopathie, die hypertensive und valvuläre Kardiomyopathie, die metabolische und toxische Kardiomyopathie und die genetisch bedingten Typen der Kardiomyopathien. Die Begründung der weiteren Unterteilung der unterschiedlichen Kardiomyopathietypen hinsichtlich der Ätiologie liegt darin, dass spezifische Therapieansätze sich nicht nach morphologischen oder hämodynamischen Parametern sondern vielmehr nach den ursächlichen pathophysiologischen Mechanismen der Kardiomyopathie richten.

Die größte Gruppe unter den spezifischen Kardiomyopathien stellt aufgrund der hohen Prävalenz der koronaren Herzerkrankung in der westlichen Gesellschaft die ischämische Kardiomyopathie dar. Aufgrund eines akuten oder chronischen

Sauerstoffmangels im Myokard kommt es zu morphologischen Umbauprozessen des Herzmuskelgewebes, die ihrerseits zu einer Limitierung der Arbeitsleistung des Herzens führen. Neben der klassischen medikamentösen Herzinsuffizienztherapie steht bei diesem Krankheitsbild die invasive Behebung der koronaren Läsionen mittels Herzkatheteruntersuchungen im Vordergrund, um eine verbesserte Strömungsbedingung des Blutflusses im Myokard zu erreichen. Die therapeutische Behebung der zur Herzinsuffizienz führenden Ursache ist auch das Ziel bei der deutlich kleineren Gruppe der valvulären und hypertensiven Kardiomyopathien, bei denen einerseits operative und andererseits medikamentöse Optionen wahrgenommen werden können.

Weitaus komplizierter erweisen sich die Therapieansätze der spezifischen Kardiomyopathien, die nicht durch ischämische, chronisch hypertensive Ereignisse oder valvuläre Dysfunktionen induziert sind. Diese so genannten nicht ischämischen Kardiomyopathien haben, soweit überhaupt bekannt, vielfältige pathophysiologische Ursachen, die inflammatorisch, metabolisch, toxisch oder insbesondere auch genetisch bedingt sein können. Neben den metabolisch bedingten Muskelerkrankungen, bei denen ein zusätzlicher Therapieansatz in der Behandlung der Grunderkrankung wie zum Beispiel dem Diabetes mellitus, der Hämochromatose, unterschiedlicher Glykogenspeichererkrankungen oder der Hypothyreose liegt, sind die toxisch induzierten Kardiomyopathien gekennzeichnet durch Vermeidung einer weiteren Toxin-Exposition und die konservative medikamentöse Therapie<sup>3</sup>. Diese ist auch der wesentliche Therapiebestandteil der genetisch bedingten Kardiomyopathien, die zunehmend in den Fokus der wissenschaftlichen Arbeiten rücken. Die meisten familiär gehäuften und genetisch bedingten Kardiomyopathieformen werden autosomal dominant mit variabler Penetranz vererbt. Autosomal rezessive, X-chromosomale und mitochondriale Vererbungswege sind wesentlich weniger bei dem Krankheitsbild der Kardiomyopathie beschrieben<sup>4</sup>. Bei der Vielzahl der möglichen Defekte im humanen Genom sind im Gebiet der Kardiomyopathien Veränderungen der Sarkomerproteine Myosin, Aktin und Troponin am häufigsten beschrieben.

Eine eigenständige Gruppe der nicht ischämischen Kardiomyopathien stellt die inflammatorische Kardiomyopathie (DCMi) dar. Diese ist gekennzeichnet durch einen histologisch oder immunhistologisch nachgewiesenen Entzündungsprozess, der infektiös durch Viren, Bakterien, Protozoen, Pilze und Parasiten oder nicht infektiös

zum Beispiel bei systemischen Erkrankungen aus dem rheumatologischen Spektrum induziert sein kann. Die viral bedingte inflammatorische Kardiomyopathie stellt hierbei die größte Gruppe dar. Zu den so genannten kardiotropen Viren zählen unter anderem die Cocksackieviren, Adenoviren, das Parvovirus B19, das humane Herpesvirus Typ 6 und die Cytomegalieviren. Der Schweregrad der inflammatorischen Prozesse im Myokard wird histomorphologisch anhand der Dallas Kriterien bestimmt, die eine aktive von einer grenzwertigen und von einer fehlenden myokardialen Entzündung unterscheiden <sup>5</sup>. Ein möglicher therapeutischer Ansatz ergibt sich allerdings nicht allein durch die Klassifizierung anhand der Dallas Kriterien, so dass zusätzliche molekularbiologische und immunhistologische Charakterisierungen notwendig sind, um zum Beispiel auch ursächliche infektiöse Erreger zu identifizieren. Hierüber könnten intensivierete therapeutische Maßnahmen wie eine Immunsuppression, eine Immunadsorption oder eine spezifische antivirale Therapie eingeleitet werden.

Die Klärung der Ätiologie der Kardiomyopathien ist somit nicht allein für die spezifische Klassifizierung sondern auch für die Entscheidung zur Therapieeinleitung notwendig. Insbesondere im Bereich der nicht ischämischen Kardiomyopathien stellt die invasive Entnahme von endomyokardialen Biopsien (EMB) eine wesentliche diagnostische Säule dar <sup>6</sup>, um histologisch, immunhistologisch und molekularbiologisch die Ursache der pathologischen Veränderungen im Bereich des Myokards zu klären. Diese myokardialen pathologischen, teils inflammatorischen Prozesse führen sowohl zu einer kardialen als auch zu einer systemischen Expression von unterschiedlichen Zytokinen, Chemokinen und immunologischen Entzündungszellen, die über das Herz hinausgehende Wirkungen entfalten können <sup>7</sup>. Das Zusammenspiel aus kardial und extrakardial exprimierten Zytokinen und Chemokinen, die am Herzen und an weiterführenden Organsystemen Effekte vermitteln, führt zunehmend zu der Hypothese, dass für das Verstehen des komplexen Krankheitsbildes der nicht ischämischen Kardiomyopathie nicht nur kardiale sondern auch systemisch pathophysiologische Prozesse beschrieben werden müssen. Diese Hypothese ist die Voraussetzung aktueller wissenschaftlicher Arbeiten, die die Veränderungen extrakardialer Organsysteme im Rahmen einer Kardiomyopathie und deren direkten und indirekten Wirkungen auf myokardiale Prozesse untersuchen. Ein hierbei besonders untersuchtes Organsystem ist das

humane Fettgewebe mit seinen spezifischen Zytokinen, die als Adipozytokine bezeichnet werden.

## 1.2. Adipozytokine

Adipozytokine sind Botenstoffe, die entweder nur spezifisch oder zumindest teilweise im Fettgewebe gebildet werden, um lokal an Adipozyten oder systemisch über den Blutkreislauf ubiquitär Effekte zu vermitteln. Die klassische Rolle des Fettgewebes wurde lange Zeit lediglich in der Bedeutung des passiven Energiespeichers gesehen, da Adipozyten ohne Einschränkung ihrer Funktion in hohem Maße Fettsäuren in Form von Triglyceriden speichern können, um diese bei Bedarf im Rahmen der Lipolyse unter Einfluss von Insulin umgehend freizusetzen<sup>8</sup>. Diese ursprüngliche Bedeutung wird nun ergänzt durch eine Vielzahl von hormonellen und metabolischen Interaktionen mit anderen Organsystemen, die insbesondere durch die so genannten Adipozytokine induziert sind<sup>9</sup>. Diese ubiquitär wirkenden Zytokine unterstreichen die Bedeutung des humanen Fettgewebes als endokrin aktives Organ, das aus Adipozyten und den Stromazellen wie Endothelzellen, Perizyten und Makrophagen besteht. Das Fettgewebe wird je nach der Entwicklung seiner Adipozyten in weißes und braunes Fettgewebe unterteilt. Während das weiße Fettgewebe aus univakuolären großen Adipozyten besteht und seine Aufgabe als Depot-, Speicher-, Isolier- und Baufett erfüllt, bilden die kleineren, plurivakuolären braunen Adipozyten das braune Fettgewebe, dessen hauptsächliche Funktion in der Thermogenese liegt<sup>10, 11</sup>. Die besondere Bedeutung als endokrin aktives Organ wurde insbesondere durch die wissenschaftlichen Arbeiten über das Zusammenspiel des Fettgewebes bei der Pathogenese des metabolischen Syndroms deutlich, das wiederum chronische Entzündungsprozesse im Fettgewebe induziert. Diese chronische Inflammation führt innerhalb des Fettgewebes zu pathologischen Expressionsmustern der Adipozytokine, die lokal im Fettgewebe als auch systemisch an Organsystemen wie dem Herzen, der Nieren und des Gehirns im Rahmen des metabolischen Syndroms Wirkungen entfalten<sup>12</sup>. Unterschiedliche Adipozytokine sind bereits beschrieben. Zu den Bedeutenden zählen das Adiponektin (APN), Leptin, Resistin, das Retinol bindende Protein 4 (RBP4) und weitere wie das Endotrophin, Omentin oder Chimerin.

### 1.2.1. Adiponektin

Adiponektin ist ein 30 kDa großes und aus 244 Aminosäuren bestehendes Protein, das erstmals 1995 beschrieben wurde und im humanen Plasma Homomultimere aus 3, 6, 12 oder 18 Einheiten bildet und aufgrund der unterschiedlichen Größe in der Quartärstruktur in eine niedrig molekulare- (LMW), mittlere molekulare- (MMW) und hoch molekulare Form (HMW) unterteilt wird<sup>13-15</sup>. Zudem kann durch proteolytische Prozesse ein globuläres Abspaltprodukt (gAPN) generiert werden, das im Gegensatz zur vollen Form des APN (fAPN) eigenständige Wirkungen entfalten kann<sup>16</sup>. Neben dem Fettgewebe, das den größten Anteil an der Adiponektinexpression hat, können weitere Zellsysteme wie Herzmuskelzellen dieses Adipozytokin synthetisieren<sup>17, 18</sup>. Bislang sind 2 Adiponektin Rezeptoren (APN-R1 und APN-R2) beschrieben, die ubiquitär exprimiert werden, wobei der Rezeptor 1 wesentlich von Skelettmuskelzellen und der Rezeptor 2 von Leberzellen synthetisiert werden<sup>19, 20</sup>. Die physiologische Bedeutung wird dem Adiponektin insbesondere im Bereich des Glukosestoffwechsels zugeschrieben<sup>21</sup>. Patienten mit einer diabetogenen Stoffwechsellage zeigen erniedrigte Plasmakonzentrationen des HMW Adiponektins<sup>22</sup>. Adiponektin erhöht die Insulinsensitivität durch die Reduzierung der hepatischen Glukoseproduktion und durch eine erhöhte Oxidation von Fettsäuren in Leber- und Skelettmuskelzellen<sup>23</sup>. Neben der Bedeutung im Glukosestoffwechsel werden dem Adiponektin immunmodulatorische, antiproliferative und antiapoptotische Wirkungen zugeschrieben.

Auch im kardiovaskulären Bereich wird Adiponektin als bedeutend angesehen. So konnte in deskriptiven Studienmodellen eine erhöhte Inzidenz koronarer Herzerkrankungen bei erniedrigten Adiponektinplasmaspiegeln beschrieben werden<sup>24</sup>. Dem gegenüber steht eine fragliche Assoziation der Adiponektinplasmakonzentrationen mit dem Schweregrad oder der Inzidenz der Herzinsuffizienz. Einerseits wurden erhöhte Konzentrationen des Adiponektins im Plasma bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz oder erhöhtem Risiko für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz gezeigt<sup>24, 25</sup>. Diese Ergebnisse konnten aber andererseits nicht in größeren Beobachtungsstudien bestätigt werden<sup>26, 27</sup>, so dass veränderte Expressionen des Adiponektins im Rahmen einer bestehenden Herzinsuffizienz am ehesten aufgrund einer dieser Erkrankung einhergehenden Körpergewichtsveränderungen erklärt wurden<sup>28</sup>. Weiterführende Studien konnten zudem eine negative Korrelation der plasmatischen Expression des Adiponektins mit

kardiovaskulären Risikofaktoren wie der arteriellen Hypertonie und dem BMI darstellen<sup>29</sup>.

### 1.2.2. Leptin

Leptin ist ein 16 kDa großes Adipozytokin, das 1994 erstmals beschrieben wurde und hauptsächlich durch Adipozyten synthetisiert wird<sup>30</sup>. Darüber hinaus können gastrointestinale, Skelettmuskel- und Gehirnzellen Leptin exprimieren. Die Wirkung dieses Adipozytokins wird durch einen der IL-6 Rezeptorfamilie gehörendem Leptin Rezeptor vermittelt<sup>31</sup>.

Die Leptinexpression ist genauso wie die des Insulins verringert bei reduzierter Nahrungszufuhr, was zu einer Steigerung des Hungergefühls und zu einer Reduzierung der Aktivität des sympathischen Nervensystems und der körpereigenen Wärmeproduktion führt<sup>32</sup>. Die Konzentration des Leptins sowohl im Plasma als auch im Fettgewebe ist positiv korreliert mit dem Körpergewicht, was eine chronisch erhöhte Leptinexpression bei adipösen Patienten erklärt<sup>33</sup>. Diese ist die Voraussetzung für die Entwicklung einer so genannten Leptinresistenz, die bei Adipositas die verminderte Wirkung des Leptins auf die Skelettmuskulatur induziert<sup>34, 35</sup>.

Im kardiovaskulären Bereich scheint es eine Assoziation zwischen der Entwicklung einer Herzinsuffizienz und der Expression von Leptin zu geben<sup>36</sup>. Zudem konnte Leptin als unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer koronaren Herzerkrankung identifiziert werden<sup>37</sup>, was durch eine angioproliferative und prothrombogene Wirkung erklärt werden könnte<sup>38, 39</sup>.

### 1.2.3. Resistin

Das 12,5 kDa große Peptidhormon Resistin wurde 2001 erstmals als ein in Adipozyten gebildetes Adipozytokin beschrieben, das eine Adipositas induzierte Insulinresistenz induzieren könnte<sup>40</sup>. Das im Strukturaufbau dem Adiponektin ähnliche Resistin ist insbesondere als Hexamer im humanen Plasma nachweisbar<sup>41</sup>. Die eigentliche Bedeutung des Resistins in humanen pathophysiologischen Prozessen ist weitgehend ungeklärt. Insbesondere seine Rolle im Bereich des Glukosestoffwechsels ist hierbei beschrieben. Führt einerseits die Überexpression von Resistin zu einem Anstieg der Blutzuckerspiegel und zur erhöhten hepatischen Glukoseproduktion, induzieren reduzierte Resistinexpressionsmuster eine erhöhte

Insulinwirkung an Leberzellen, was eine Hemmung der Adipositas assoziierten Hyperglykämie bewirken kann<sup>42-44</sup>.

Im Gebiet der kardiovaskulären Erkrankungen sind Assoziationen der plasmatischen Resistinkonzentrationen mit der Inzidenz koronarer Herzerkrankungen und der Entwicklung einer Herzinsuffizienz beschrieben<sup>26, 45</sup>.

#### **1.2.4. Retinol bindendes Protein 4**

Das RBP4 ist ein 21 kDa großes Adipozytokin, das in Adipozyten und Hepatozyten synthetisiert und gespeichert werden kann<sup>46</sup>. Aufgrund signifikant erhöhter Plasmakonzentrationen dieses Adipozytokins bei Patienten mit einem Diabetes mellitus werden dem RBP4 diabetogene Wirkungen zugeschrieben. Neben der positiven Assoziation der RBP4 Spiegel im Plasma mit der Insulinresistenz bei diabetogener Stoffwechsellage sind weitere signifikante positive Korrelationen im Rahmen eines metabolischen Syndroms beschrieben<sup>47</sup>.

#### **1.2.5 Sonstige**

Weitere Adipozytokine sind das Endotrophin, Omentin oder Chimerin. Zudem wird die Nikotinamid-Phosphoribosyltransferase (Nampt) teilweise der Klasse der Adipozytokine zugeordnet. Dieses wurde zunächst als ein 52 kDa großes Zytokin mit der Bezeichnung Visfatin beschrieben, das Insulin-mimetische Effekte durch aktivierende Bindungsmöglichkeiten an den Insulinrezeptor bewirken kann<sup>48</sup>. Diese primär beschriebene Rolle der Nampt wurde allerdings verworfen und durch die Beschreibung der Nampt als Schlüsselenzym zur Nikotinamidadenindinukleotid (NAD)-Synthese ersetzt<sup>49</sup>. Nampt kann von vielen humanen Zellsystemen synthetisiert werden, so dass entsprechend des Syntheseortes in Publikationen unterschiedliche Bezeichnungen für das Protein existieren. Spricht man einerseits vom so genannten „pre-B cell colony-enhancing factor (PBEF)“ bei Expression durch Leukozyten, so wird andererseits Nampt auch als Visfatin bezeichnet, wenn die Betonung auf das Fettgewebe als Ursprung der Synthese liegt.

Unabhängig des Syntheseortes kommt Nampt im Organismus als extrazelluläre (eNampt) und intrazelluläre Form (iNampt) vor. Hierbei kann es durch Aufnahme in den und Abgabe aus dem intrazellulären Raum zum Austausch von eNampt und iNampt kommen. Dies stellt den entscheidenden Mechanismus dar, durch den Nampt exprimierende Zellsysteme wie die des Fettgewebes mit Zellsystemen, die

entweder nicht oder nur unvollständig Nampt synthetisieren können, in Verbindung stehen. Die initial beschriebene antidiabetogene Wirkung der Nampt wurde daher nicht durch agonistische Effekte am Insulinrezeptor sondern vielmehr durch die NAD induzierte verstärkte Insulinsynthese erklärt. Diese neuen Beobachtungen führten dazu, dass Nampt nicht mehr als klassisches Adipozytokin angesehen und lediglich eNampt weiterhin in Arbeiten als Visfatin bezeichnet wird.

### **1.3. Tissue Faktor**

Der Tissue Faktor (TF) ist ein 47kDa großes transmembranäres Protein, das insbesondere seine Bedeutung im Bereich der Hämostase besitzt. Der auch als Thromboplastin bezeichnete TF aktiviert über die Bindung des aktivierten Gerinnungsfaktors VIIa den Faktor X, was den entscheidenden Startmechanismus für die extrinsische Koagulationskaskade darstellt<sup>50</sup>. Über die Aktivierung des Faktors X, der zusammen mit Faktor V, Kalzium und Phospholipiden den Prothrombinaktivator-Komplex bildet, wird die Bildung von Thrombin aus Prothrombin induziert, was wiederum in die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin mündet. Fibrin als Endprodukt dieser Koagulationskaskade ist das Protein, das mittels seiner Interaktionen mit dem zellulären Koagulationssystem zu einer Stabilisierung von Blutgerinnseln führt. Der TF wird wegen seiner Bedeutung im Bereich der Blutgerinnung insbesondere von Fibroblasten der Gefäßadventitia exprimiert, damit es bei Gefäßverletzungen durch den direkten Kontakt des TF mit dem zirkulierenden Blut schnell zu einer Initiierung der Blutgerinnungskaskade mit nachfolgendem Wundverschluss kommt.

Der TF übernimmt des Weiteren zusätzliche Aufgaben bei der Vermittlung allgemeiner physiologischer und pathophysiologischer Signale. So wird TF nicht nur durch Fibroblasten sondern auch durch weitere Zellsysteme wie den Kardiomyozyten synthetisiert und exprimiert<sup>51</sup>. Unter schweren inflammatorischen Bedingungen wie bei der Entwicklung und dem Vorliegen einer DCMi fällt die TF-Expressionsrate in Kardiomyozyten signifikant ab, was einerseits zu einer verminderten Zellintegrität im Bereich des Herzens unter septischen Kreislaufbedingungen führt und andererseits möglicherweise protektiv durch ein verringertes Risiko für die Entwicklung intravasaler Thromben wirken kann<sup>52</sup>. Zusätzlich scheint TF durch chemotaktische Wirkungen unter inflammatorischen Bedingungen zu einer Aktivierung von

neutrophilen Granulozyten im Myokard zu führen<sup>53</sup>. Patienten mit dem Krankheitsbild einer DCM zeigen auch eine reduzierte Expression des TF durch myokardiale Zellen, was insbesondere über eine verminderte Zellintegrität zu einer reduzierten Kontraktionskraft des Herzens führen kann<sup>54</sup>. Dies spiegelt sich auch bei Patienten mit chronischem Bluthochdruck und resultierender Hypertrophie des Herzmuskulatur wider<sup>51, 55</sup>. Aufgrund dieser beschriebenen Wirkungen des TF im Bereich des Myokards wird dem TF nicht nur eine Bedeutung in der Vermittlung hämostatischer Signale sondern vielmehr auch in der Koordinierung inflammatorischer und morphologischer Prozesse zugeschrieben.

#### **1.4. Zielsetzung**

Das Ziel dieser Arbeit ist die Beschreibung der Rolle der Adipozytokine am Krankheitsbild der nicht ischämischen Kardiomyopathie. Hierbei sollen insbesondere folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- 1) Wie verändert sich der Expressionsgrad der Adipozytokine lokal am Herzen und systemisch im Plasma bei dem Krankheitsbild einer nicht ischämischen Kardiomyopathie?
- 2) Haben Adipozytokine einen signifikanten Einfluss auf die hämodynamischen und inflammatorischen Parameter bei der Entwicklung einer nicht ischämischen Kardiomyopathie?
- 3) Können sich verändernde Expressionsgrade von Adipozytokinen zu Begleiterkrankungen führen, die typischerweise bei Patienten mit dem Beschwerdebild einer Herzinsuffizienz auftreten?
- 4) Beeinflussen Adipozytokine insbesondere durch die Regulierung der TF Expression das humane Gerinnungssystem?

## 2. Eigene Arbeiten

### 2.1. Adiponektin reduziert die kardiale Inflammation und verbessert die hämodynamischen Verhältnisse bei Patienten mit einer DCMi.

Bobbert, P., Scheibenbogen, C., Jenke, A., Kania, G., Wilk, S., Krohn, S., Stehr, J., Kühl, U., Rauch, U., Eriksson, U., Schultheiss, HP., Poller, W., Skurk C. Adiponectin expression in patients with inflammatory cardiomyopathy indicates favourable outcome and inflammation control. *European Heart J.* 2011 Mai; 32(9):1134-47.

<http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehq498>

In dieser Arbeit wurden die Regulation der Expression und die Wirkung des Adipozytokins Adiponektin bei Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie untersucht.

173 Patienten mit einer DCMi wurden in einer klinischen Studie eingeschlossen und verglichen mit 30 gesunden Patienten und 30 Patienten mit einer DCM, um die kardiale und systemische APN Expression und deren Assoziationen mit hämodynamischen und inflammatorischen Parametern zu bestimmen. Des Weiteren erfolgte die Charakterisierung der APN Wirkung mit Hilfe eines der humanen DCMi vergleichbaren Mausmodels und *in vitro* bei Kardiomyozyten und Fibroblasten der Ratte.

Patienten mit einer DCMi ( $6,8 \pm 3,9 \mu\text{g/ml}$ ) zeigten signifikant erhöhte Plasmaspiegel von APN im Vergleich zu Patienten mit einer DCM ( $5,4 \pm 3,6 \mu\text{g/ml}$ ) und zu gesunden Kontrollpatienten ( $4,76 \pm 2,5 \mu\text{g/ml}$ ). DCMi Patienten mit hohen APN Plasmaspiegeln zeigten im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten deutlich verbesserte hämodynamische Parameter wie der LVEF im Vergleich zu DCMi Patienten mit niedriger APN Expression. Zudem war APN in einer multivariaten linearen Regressionsanalyse als unabhängiger prognostischer Faktor assoziiert mit signifikant verminderter kardialer Inflammation bei DCMi Patienten im Verlauf. Hierzu passend zeigten sich im Myokarditis- Tiermodel erhöhte APN Spiegel. Eine Induktion der APN Expression bewirkte hierbei eine Reduktion inflammatorischer Mediatoren. Im Zellmodell konnte darüber hinaus durch eine erhöhte APN Expression die TNF $\alpha$  induzierte NF-kappa B Aktivierung genauso wie die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies inhibiert werden.

Zusammenfassend stellte diese Arbeit die Bedeutung des APN als prognostisch günstigen Faktor zur Inhibition kardialer Inflammation und zur Verbesserung der hämodynamischen Verhältnisse bei Patienten mit einer DCMi dar.

## **2.2. Die Expression von Leptin und Resistin ist bei Patienten mit einer nicht ischämischen Kardiomyopathie assoziiert mit einer klinischen Verschlechterung des Krankheitsbildes.**

Bobbert, P., Jenke, A., Bobbert, T., Kühl, U., Rauch, U., Lassner, D., Scheibenbogen, C., Poller, W., Schultheiss, HP., Skurk, C. High leptin and resistin expression in chronic heart failure: adverse outcome in patients with dilated and inflammatory cardiomyopathy. *European J. of Heart Failure*. 2012 November; 14(11):1265-75

<http://dx.doi.org/10.1093/eurjhf/hfs111>

Das Ziel dieser Arbeit war die Klärung der Bedeutung von Leptin und Resistin für den klinischen Verlauf des Krankheitsbildes der nicht ischämischen Kardiomyopathie.

Hierfür wurden in einer prospektiven klinischen Studie 120 Patienten (16 gesunde Kontrollpatienten; 52 Patienten mit DCM; 52 Patienten mit DCMi) eingeschlossen, um kardiale Expressionsmuster und systemische Plasmakonzentrationen von Leptin und Resistin mit hämodynamischen und inflammatorischen Parametern bei Studieneinschluss und in einer Verlaufsbeobachtung nach 6 Monaten zu assoziieren. Zudem wurde *in vitro* in Kardiomyozyten die TNF $\alpha$ -, IL-6- und NF-kappa B-Expression sowie die Induktion von reaktiven Sauerstoffspezies nach Aktivierung durch Leptin und Resistin bestimmt.

Wir konnten eine signifikante Erhöhung der Plasmakonzentration der beiden Adipozytokine bei DCM- und DCMi- Patienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe zeigen (DCM: Leptin:  $13,12 \pm 17,2$  ng/ml, Resistin:  $6,87 \pm 2,25$  ng/ml; DCMi: Leptin:  $13,63 \pm 16$  ng/ml, Resistin:  $7,27 \pm 2,2$  ng/ml; Kontrolle: Leptin:  $7,34 \pm 5,7$  ng/ml, Resistin:  $4,4 \pm$  ng/ml). Mittels einer multivariaten linearen Regressionsanalyse konnte eine signifikante Assoziation beider Adipozytokine mit verschlechterten hämodynamischen Parametern im Verlauf gezeigt werden. Eine Assoziation der Zytokine mit inflammatorischen Parametern stellte sich nicht dar. *In vitro* bewirkte Leptin und Resistin eine NF-kappa B-Aktivierung und eine erhöhte intrazelluläre Induktion von reaktiven Sauerstoffspezies. Zudem führte die Exposition von Leptin und Resistin zu einer NF-kappa B abhängigen erhöhten Expression von TNF $\alpha$  und IL-6.

Zusammenfassend konnte diese Arbeit darstellen, dass erhöhte Plasmakonzentrationen von Leptin und Resistin bei Patienten mit einer nicht ischämischen Kardiomyopathie assoziiert waren mit einem verschlechterten klinischen Verlauf des Krankheitsbildes.

### **2.3. Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie zeigen erhöhte RBP4 Plasmakonzentrationen.**

Bobbert, P., Weithäuser, A., Andres, J., Bobbert, T., Kühl, U., Schultheiss, HP., Rauch, U., Skurk, C. Increased plasma retinol binding protein 4 levels in patients with inflammatory cardiomyopathy. *European J. of Heart Failure*. 2009 Dezember; 11(12):1163-8.

<http://dx.doi.org/10.1093/eurjhf/hfp153>

RBP4 ist ein prodiabetogenes Adipozytokin, dessen Expressionsmuster positiv assoziiert ist mit der Höhe der Insulinresistenz bei Patienten mit einem Diabetes mellitus. Patienten mit einer nicht ischämischen Kardiomyopathie haben ein erhöhtes Risiko, im Verlauf eine Insulinresistenz mit begleitender diabetogener Stoffwechsellage zu entwickeln. Das Ziel der Arbeit war die Klärung der Bedeutung des RBP4 als Adipozytokin bei der Entwicklung eines Diabetes mellitus im Rahmen einer nicht ischämischen Kardiomyopathie.

Sowohl bei Patienten mit einer DCM (n=53) und einer DCMi (n=54) als auch bei gesunden Kontrollpatienten wurden die Plasmakonzentrationen von RBP4, Interleukin 2, 8 und 10 und die Insulinexpression gemessen. Zudem wurde *in vitro* in 3T3-L1 Adipozyten die mRNA Expression von RBP4 nach Exposition mit Interleukin 8 analysiert.

Patienten mit einer DCMi zeigten im Vergleich zur DCM- und der gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöhte RBP4 Plasmakonzentrationen (DCMi:  $52,95 \pm 20,42$  µg/ml; DCM:  $35,54 \pm 23,08$  µg/ml; Kontrolle:  $27,3 \pm 18,51$  µg/ml), die positiv korreliert waren mit der Plasmaexpression von IL-8 ( $r=0,416$ ,  $p<0,05$ ). Zudem waren die Plasmakonzentrationen von Insulin (DCMi:  $14,01 \pm 10,36$  µU/ml; DCM:  $9,38 \pm 5,55$  µU/ml; Kontrolle:  $8,33 \pm 5,82$  µU/ml) und der HOMA Index (DCMi:  $3,41 \pm 2,65$ ; DCM:  $2,19 \pm 1,28$ ; Kontrolle:  $1,94 \pm 1,39$ ) bei Patienten mit einer DCMi signifikant erhöht. *In vitro* zeigte sich ein signifikanter Anstieg der RBP4 mRNA Expression in Adipozyten nach einer Aktivierung durch IL-8.

Zusammenfassend zeigten sich signifikant erhöhte RBP4 Plasmakonzentrationen bei Patienten mit einer DCMi, die positiv assoziiert waren mit IL-8 und der Insulinexpression. Diese Beobachtung unterstützt die Hypothese, das RBP4 als Adipozytokin eine essentielle Rolle bei der Entwicklung einer diabetogenen Stoffwechsellage in Patienten mit einer nicht ischämischer Kardiomyopathie haben kann.

## **2.4. Globuläres Adiponektin induziert erhöhte Prokoagulabilität in humanen Endothelzellen.**

Bobbert, P., Antoniak, S., Schultheiss, HP., Rauch, U. Globular adiponectin but not full-length adiponectin induces increased procoagulability in human endothelial cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2008 Februar; 44(2):388-94.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2007.10.018>

Diese experimentelle Studie wurde durchgeführt, um die Wirkung des APN auf die Tissue Faktor Expression in humanen Endothelzellen zu beschreiben. Hierbei wurde insbesondere die Wirkungsweise des globulären APN (gAPN) als proteolytisches Abspaltprodukt vom gesamten APN („full-length“, fAPN) untersucht.

Im Zellmodell wurde an HUVECs die TF Aktivität mittels eines chromogenen Assays, die TF mRNA Expression mittels real-time PCR und die TF Proteinexpression mittels Western Blots nach Exposition durch gAPN und fAPN gemessen.

Die Exposition von HUVECs mit gAPN führte zu einer signifikant erhöhten TF Aktivierung auf der Zelloberfläche im Vergleich zu unstimulierten Kontrollen (gAPN:  $501,9 \pm 38,95$  U,  $p < 0,05$ ; Kontrolle:  $160 \pm 19,23$  U). Zudem induzierte intrazellulär die gAPN Exposition eine  $4,63 \pm 0,332$  fache Erhöhung der TF mRNA Expression und eine signifikant erhöhte TF Proteinexpression. Dieser Effekt wurde durch einen Signaltransduktionsweg erreicht, der mit der Aktivierung des APN Rezeptors 1 beginnt und zu einer Induktion der MAP Kinasen ERK1/2, p38 und JNK führte. Im Gegensatz zu der Wirkung des gAPN zeigte fAPN keine prokoagulatorischen Effekte, die zu einer Erhöhung der TF Expression auf mRNA- und Proteinebene und der TF Aktivierung führten.

Somit konnten wir durch diese Arbeit die Hypothese unterstützen, dass gAPN im Gegensatz zum fAPN die zelluläre Prokoagulabilität mittels Regulierung der TF Expression induziert.

## **2.5. Leptin und Resistin induzieren eine erhöhte Prokoagulabilität durch die Erhöhung der TF Expression bei Patienten mit diabetogener Stoffwechsellage.**

Bobbert, P., Eisenreich, A., Weithäuser, A., Schultheiss, HP., Rauch, U. Leptin and resistin induce increased procoagulability in diabetes mellitus. *Cytokine*. 2011 November; 56(2):332-7.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2011.05.019>

Patienten mit einem Diabetes mellitus zeigen ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen aufgrund einer gesteigerten Inzidenz von thrombotischen Ereignissen. Wir führten diese klinische und experimentelle Studie durch, um die Bedeutung der Adipozytokine Leptin und Resistin für die Induktion der Hyperkoagulabilität im Rahmen einer diabetogenen Stoffwechsellage zu untersuchen.

Bei 62 Patienten mit oder ohne bestehendem Diabetes mellitus wurden die Plasmakonzentration von Leptin, Resistin und Tissue Faktor gemessen. Zudem wurde zellexperimentell in HUVECs die Expression der Koagulationsfaktoren TF, TFPI, PAI und t-PA auf mRNA- und Proteinebene nach Exposition mit Leptin und Resistin untersucht. Mittels Flusskammerexperimente wurde zusätzlich die Faktor Xa- und die Plasminaktivität auf HUVECs unter standardisierten physiologischen Bedingungen *in vitro* nach Aktivierung durch beide Adipozytokine gemessen.

Wir konnten zeigen, dass Patienten mit einer diabetogenen Stoffwechsellage im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Leptin:  $15,98 \pm 17,5$  ng/ml; Resistin:  $1,19 \pm 0,7$  ng/ml) erhöhte Plasmakonzentration von Leptin ( $25,69 \pm 13,9$  ng/ml) und Resistin ( $2,61 \pm 0,6$ ) besitzen, die wiederum signifikant positive Korrelationen mit der plasmatischen TF Expression zeigten (Leptin:  $r=0,497$ ,  $p<0,05$ ; Resistin:  $r=0,505$ ,  $p<0,05$ ). *In vitro* induzierte die Leptin- und Resistinexposition eine signifikant erhöhte Faktor Xa Aktivität auf HUVECs, die bedingt war durch eine von beiden Adipozytokinen induzierte erhöhte TF mRNA- und Proteinexpression. Eine Regulierung des TFPI über Leptin und Resistin ließ sich nicht darstellen. Sowohl der profibrinolytische Faktor t-PA als auch der antifibrinolytische Faktor PAI zeigten eine erhöhte mRNA- und Proteinexpression nach Aktivierung von HUVECs durch Leptin und Resistin. Dies spiegelte sich durch eine unveränderte Plasminaktivität auf HUVECs nach einer Adipozytokinexposition wider.

Mit dieser Arbeit belegten wir zusammenfassend die prokoagulatorische Wirkung von Leptin und Resistin durch Induktion der TF Expression. Diese Eigenschaft kann gewertet werden als eine mögliche pathophysiologische Erklärung für die bekannte Hyperkoagulabilität im Rahmen einer diabetogener Stoffwechsellage.

### **3. Diskussion**

Die nicht ischämische Kardiomyopathie gehört zu der großen Gruppe von Herzmuskelerkrankungen, die wegen morphologischer und hämodynamischer Veränderungen mit einer eingeschränkten Herzmuskelleistung gekennzeichnet sind. In der Entwicklung und dem Fortschreiten der Erkrankung spielen viele unterschiedliche Faktoren eine bedeutende Rolle. In dieser kumulativen Habilitationsschrift wird anhand von fünf ausgewählten Publikationen die Bedeutung der Adipozytokine für den Krankheitsprozess der nicht ischämischen Kardiomyopathien beschrieben.

#### **3.1. Das Krankheitsbild der nicht ischämischen Kardiomyopathie ist gekennzeichnet durch einen veränderten Expressionsgrad der Adipozytokine.**

Die Expression der Adipozytokine hat ihren Schwerpunkt in den Adipozyten, wobei eine Vielzahl weiterer Zellsysteme beschrieben ist, die auch die Möglichkeit zur Adipozytokinsynthese besitzen. So beschränkt sich das Wirkungsspektrum der Gruppe der Adipozytokine auch nicht nur auf das Fettgewebe, da eine nicht genau bekannte Anzahl von weiteren Zellen über die Expression entsprechender Rezeptoren Adipozytokin-induzierte Effekte verarbeiten und vermitteln können.

Dies führt zu der Hypothese, dass zur Beschreibung des Expressionsgrades der Adipozytokine im Krankheitsbild der nicht ischämischen Kardiomyopathie zwei Ebenen charakterisiert werden müssen: Zum einen ist die durch die Syntheseleistung der Adipozyten bestimmte systemische Expression der Adipozytokine zu ermitteln, die sich maßgeblich in der Plasmakonzentration der einzelnen Adipozytokine ausdrückt. Zum anderen ist aber auch die lokale Expression der Adipozytokine zu messen, was die Entnahme und Bewertung von endomyokardialen Biopsien voraussetzt.

Es konnte gezeigt werden, dass sich der systemische Expressionsgrad der Adipozytokine bei dem Krankheitsbild der nicht ischämischen Kardiomyopathie verändert, wobei insbesondere das Vorliegen einer lokalen und systemischen Inflammation im Rahmen einer inflammatorischen Kardiomyopathie einen maßgeblichen Einfluss auf die Adipozytokinexpression nimmt. So sind die systemischen Plasmakonzentrationen von Adiponektin und RBP4 bei Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöht. Diese Veränderung zeigt sich allerdings nicht bei

Patienten mit einer dilatativen Kardiomyopathie ohne inflammatorische Prozesse<sup>56</sup>.<sup>57</sup>. Dem gegenüber steht die Veränderung des Expressionsgrades der Adipozytokine Leptin und Resistin, die sowohl bei Patienten mit einer inflammatorischen als auch bei denen mit einer dilatativen Kardiomyopathie systemisch im Plasma erhöht sind<sup>58</sup>. Unabhängig von der Veränderung der systemischen Plasmakonzentrationen der Adipozytokine stellt sich die lokale Expression der Adipozytokine im Myokard dar. Die lokale mRNA Expression von Leptin und Resistin ist bei Patienten mit einer DCM und einer DCMi im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe nicht verändert. Bei Vorliegen einer inflammatorischen Kardiomyopathie kommt es dem gegenüber aber zu einem signifikanten Anstieg der Adiponektin mRNA Expression im Myokard<sup>57, 58</sup>.

### **3.2. Adiponektin inhibiert den Progress der inflammatorischen Kardiomyopathie.**

Bekannterweise können inflammatorische Erkrankungen wie die rheumatoide Arthritis, der Lupus erythematodes oder chronisch entzündliche Darmerkrankungen mit einer Erhöhung der Plasmakonzentrationen von Adiponektin einhergehen<sup>59</sup>. Adiponektin vermittelt immunmodulatorische Effekte durch Beeinflussung von Makrophagen und natürlichen Killer T-Zellen als auch durch Induktion anti-inflammatorischer Zytokine<sup>60, 61</sup>. Dies spiegelt sich insbesondere bei der Beschreibung der Adiponektin induzierten Effekte im Tiermodell wider, in dem Adiponektin eine protektive Rolle bei Entwicklung einer viralen Myokarditis zugeschrieben wird<sup>62, 63</sup>. Neben diesen beschriebenen anti-inflammatorischen Wirkungen konnten allerdings auch pro-inflammatorische Effekte des Adiponektins durch die Induktion von NF-kappa B und inflammatorischer Zytokine beschrieben werden<sup>64, 65</sup>. In der von uns durchgeführten klinische Studie war nicht nur die systemische und lokal kardiale Expression von Adiponektin bei Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie erhöht, sondern es zeigte sich zudem eine direkte positive Korrelation der Adiponektinexpression mit inflammatorischen systemischen Parametern wie dem C reaktivem Protein, dem Interleukin 8 und dem im Plasma gelösten TNF-Rezeptor 1 und kardialen Parametern wie der myokardialen Infiltration mit CD3 positiven und CD45 positiven T Zellen<sup>57</sup>. Dem gegenüber steht die Beschreibung von supprimierten lokalen Adiponektinexpressionsmustern bei Patienten mit einer DCM ohne Erhöhung systemischer und kardialer Inflamationsparametern<sup>18</sup>. Der primär offenkundige Gegensatz zwischen pro- und

anti-inflammatorischer Wirkung des Adiponektins mag sich aus der Tatsache erklären, dass insbesondere Studien *in vitro* mittels nicht stimulierter Zellsysteme durchgeführt wurden, wohingegen klinische Studien oder Studien am Tiermodell die Adiponektinwirkung unter inflammatorischer Bedingungen untersucht haben. So ließ sich auch in unseren Untersuchungen ein entzündungshemmender Effekt des Adiponektins bei Patienten mit einer DCMi nachweisen, da hohe Plasmaspiegel von Adiponektin zu Beginn einer DCMi- Erkrankung mit einer signifikanten Reduktion sowohl der systemischen als auch der lokal kardialen Inflammation im Verlauf von 6 Monaten bedingt war. Zusätzlich waren hohe Adiponektinspiegel im Plasma assoziiert mit einem signifikant verbesserten Verlauf der hämodynamischen Verhältnisse im Rahmen einer DCMi, da sowohl die LVEF als auch die LVEDD sich günstiger bei hohen APN Plasmakonzentrationen im Rahmen einer DCMi entwickelten<sup>57</sup>. Die Hypothese der anti-inflammatorischen Wirkung des APN konnte zusätzlich von uns im Tiermodell unterstützt werden, da APN-Gentransfer im Myokarditistiermodell zu einer Reduktion unterschiedlicher pro-inflammatorischer Zytokine führte und zusätzlich IL-17 als ein wesentlicher Promoter für die Entwicklung einer Myokarditis in diesem Modell supprimiert war<sup>66</sup>. So stehen die Ergebnisse unserer Studien an der Seite derer, die protektive und anti-inflammatorische Wirkungen des APN bei Virus-induzierten Myokarditiden nachweisen konnten<sup>67-69</sup>.

### **3.3. Leptin und Resistin sind assoziiert mit einer Progression der nicht ischämischen Kardiomyopathie.**

Sowohl Leptin als auch Resistin konnten in größeren klinischen Studien positiv assoziiert werden mit der Inzidenz einer Kardiomyopathie, wobei zum Teil eine signifikante Korrelation nach Einbeziehung unterschiedlicher kardiovaskulärer Risikofaktoren nicht nachgewiesen werden konnte<sup>26, 36, 45, 68, 70</sup>. Bezüglich regulatorischer Wirkungen für inflammatorische Prozesse konnten für Leptin und Resistin signifikante Einflüsse beschrieben werden<sup>71, 72</sup>. In der von uns durchgeführten klinischen Studie mit Patienten, die das Krankheitsbild einer DCM und einer DCMi zeigten, konnte für die myokardiale Inflammation im Rahmen einer DCMi kein relevanter Einfluss von Leptin und Resistin dargestellt werden<sup>58</sup>. Dafür boten allerdings Patienten mit einer nicht ischämischen Kardiomyopathie unabhängig der systemischen und kardialen Inflammation bei erhöhten Leptin- und

Resistinkonzentrationen im Plasma eine signifikant verschlechterte hämodynamische Entwicklung mit klinischer Progredienz des myokardialen Krankheitsverlaufes. Diese mutmaßlich schädliche Wirkung der beiden Adipozytokine auf myokardiale Zellen konnte mittels Zellkulturexperimente und dem Nachweis einer durch Leptin- und Resistin- induzierten, NF-kappa B abhängigen Erhöhung intrazellulärer reaktiver Sauerstoffspezies belegt werden. Im myokardialen Zellsystem induzieren reaktive Sauerstoffspezies Apoptose, Hypertrophie und fibrotische Umbauprozesse, was eine Einschränkung der myokardialen Leistungsfähigkeit mit sich zieht <sup>73</sup>. Zusätzlich konnte der Nachweis einer Leptin- und Resistin- induzierten NF-kappa B Aktivität mit nachfolgender Erhöhung der myokardialen TNF $\alpha$ - und IL-6- Expression gezeigt werden, was einen weiteren möglichen pathophysiologischen Mechanismus für die Progredienz einer myokardialen Einschränkung darstellt <sup>74, 75</sup>. Insbesondere die Induktion der IL-6 Synthese im Myokard scheint hierbei eine Rolle zu spielen, da IL-6 über die Regulation von  $\beta$ -adrenergen Rezeptor abhängigen Signaltransduktionswegen negativ inotrope Effekte auf Kardiomyozyten ausübt <sup>76</sup>. Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen konnten darüber hinaus weitere durch Leptin und Resistin aktivierte Signaltransduktionswege beschreiben, die zu einer myokardialen Hypertrophie und Endotheldysfunktion führten <sup>77, 78</sup>. Im Tiermodell führte zudem eine Überexpression von Resistin zu einer signifikanten Verschlechterung der myokardialen Arbeitsleistung <sup>79</sup>. Unsere Arbeitsgruppe konnte zum ersten Mal in einer humanen klinischen Studie nachweisen, dass Leptin und Resistin eine Progression des Krankheitsprozesses einer nicht ischämischen Kardiomyopathie induziert.

### **3.4. Erhöhte RBP4 Plasmakonzentrationen sind assoziiert mit der Inzidenz eines Diabetes mellitus bei Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie.**

Der Fragestellung nachgehend, ob Adipozytokine eine Bedeutung auf die Entwicklung von Begleiterkrankungen im Rahmen einer nicht ischämischen Kardiomyopathie haben können, wurde RBP4 als diabetogenes Adipozytokin untersucht. Patienten mit einer Kardiomyopathie besitzen ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer diabetogenen Stoffwechsellaage <sup>80</sup>. Aufgrund einer Induktion der Phosphoenolpyruvatkinase für die hepatische Glukoneogenese und der Reduzierung der Insulinwirkung durch Inhibition der muskulären Phosphoinositid-3-

Kinase werden dem RBP4 prodiabetogene Eigenschaften zugeordnet<sup>46</sup>. Wir konnten in unseren Arbeiten zeigen, dass RBP4 Plasmakonzentrationen unabhängig von hämodynamischen Parametern bei Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie erhöht sind. Die erhöhten RBP4 Plasmaspiegel waren zudem positiv assoziiert mit der erhöhten Inzidenz einer diabetogenen Stoffwechsellage dieser Patienten<sup>56</sup>. Im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen Adipozytokinen Leptin, Resistin und Adiponektin konnte für die erhöhte RBP4 Plasmakonzentration kein Zusammenhang mit hämodynamischen Parametern gefunden werden. Vielmehr zeigte sich die erhöhte RBP4 Plasmakonzentration bedingt durch eine IL-8 induzierte RBP4 Expression in den Adipozyten. Somit konnte RBP4 als ein Adipozytokin charakterisiert werden, das bedingt durch pathophysiologische Veränderungen im Rahmen einer nicht ischämischen Kardiomyopathie über einen veränderten Grad der systemischen Expression zu einer typischen Begleiterkrankung bei eingeschränkter Herzleistung führen kann.

### **3.5. Adipozytokine induzieren eine differenzierte TF Expression.**

TF wird insbesondere von Endothelzellen der Adventitia als Schutzmechanismus gegen Blutungsereignisse im Bereich der kardialen Gefäße exprimiert. Darüber hinaus sind kardiale Myozyten und Fibroblasten in der Lage, TF zu synthetisieren, wodurch sie sich zum Beispiel von Skelettmuskelzellen unterscheiden, die eine solche Expression nicht vollziehen können. Neben der bedeutenden protektiven koagulatorischen Funktion wird dem TF eine wichtige Funktion zur Erhaltung der strukturellen Integrität der Myozyten zugeschrieben. TF wird intrazellulär in kardialen Myozyten im Bereich der Glanzstreifen und im Sarkolemm nachgewiesen und ist assoziiert mit dem Vorkommen von Desmin und Vincullin<sup>52</sup>. Zudem dient das Aktin bindende Protein 280 als Ligand für den zytoplasmatischen TF Anteil<sup>81</sup>. Die Bedeutung des TF zur Erhaltung der Zellstruktur und des interzellulären Zusammenhaltes wird deutlich bei Patienten mit dem klinischen Bild einer DCM, bei denen zum einen die kardiale TF Expression reduziert ist und zum anderen über immunhistochemische Darstellungen eine veränderte intrazelluläre Lokalisation des TF mit Schwerpunkt um den Nukleolus nachgewiesen werden konnte<sup>54</sup>. Hierüber konnte die Hypothese erhoben werden, dass die normale TF Expression im Myokard für die regelrechte Funktion der kontraktilen Abläufe und für den Erhalt des interzellulären Zusammenhalts wichtig ist. Interessanterweise steht dieser

Beobachtung eine erhöhte myokardiale TF Expression im Rahmen einer Virus induzierten Myokarditis gegenüber<sup>82</sup>. Diese erhöhte TF Expression wird begleitet von myokardialen Fibrineinlagerungen und einer allgemein erhöhten prokoagulatorischen Aktivität des Herzmuskelgewebes, was die erhöhte Inzidenz von thrombotischen Ereignissen im Rahmen einer inflammatorischen Kardiomyopathie mit erklären kann.

Aufgrund der von uns beschriebenen unterschiedlichen Expression der Adipozytokine im Rahmen der Entwicklung einer nicht ischämischen Kardiomyopathie wurden weitere Arbeiten durchgeführt, um eine mögliche Verbindung zwischen der Adipozytokin- und TF Expression zu untersuchen. Hierbei konnten wir zeigen, dass die Adipozytokine Leptin und Resistin eine signifikante Steigerung der TF Expression in Endothelzellen induziert<sup>83</sup>, was wiederum eine Erhöhung der prokoagulatorischen Aktivität im Bereich der endothelialen Zelloberfläche im Sinne einer gesteigerten Faktor Xa Aktivität bewirkt. Zudem werden weitere Proteine des Gerinnungssystems wie PAI und t-PA durch beide genannten Adipozytokine in ihrer Expressionsrate reguliert. Adiponektin wiederum nimmt eine differenzierte Rolle bei TF Expressionsregulierung ein. So ist bei der Beschreibung der Wirkung des APN auf die TF Expression die Unterscheidung zwischen den Effekten des durch proteolytische Enzyme induzierten globulären APN Abspaltproduktes und der kompletten Form des APN, das im humanen Serum in der Quartärstruktur unterschiedlich große Multimäre einnehmen kann, bedeutend<sup>15, 84</sup>. Im Gegensatz zum fAPN induziert gAPN eine prokoagulatorische Antwort in humanen Endothelzellen über eine gesteigerte TF Expression<sup>85</sup>. Diese gAPN induzierte TF Expressionsregulierung wird über Signaltransduktionswege gesteuert, die eine MAP Kinasebeteiligung beinhalten.

Die Induktion der TF Expression durch Adipozytokine kann daher maßgeblich bei der Vermittlung von inflammatorischen Signalen eine Rolle spielen. Hier konnte bereits gezeigt werden, dass TF- induzierte inflammatorische Effekte über so genannte Proteinase aktivierte Rezeptoren (PAR) reguliert werden. Es gibt vier unterschiedliche Typen von PARs (PAR1-4), welche durch verschiedene Proteinasen wie dem TF/FXa Komplex aktiviert werden können. PAR1 kann maßgeblich pathophysiologische Signale für myokardiale Umbauprozesse oder für eine protektive intrazelluläre Antwort auf viral assoziierte inflammatorische Reize induzieren<sup>86, 87</sup>. Bezüglich Virus- induzierter inflammatorische Einwirkungen

übernimmt konträr zum PAR1 der PAR2 eine Funktion, die inflammatorische Prozesse triggert und klinisch die Erkrankung einer inflammatorischen Kardiomyopathie mit erhöhten kardialen Entzündungsparametern und einer verschlechterten hämodynamischen Situation fördert <sup>88</sup>. Somit müssen zukünftige Arbeiten insbesondere die Interaktion der Adipozytokine mit den PARs auf myokardialer Ebene und deren Wirkung auf die Entwicklung und auf den klinischen Verlauf einer nicht ischämischen Kardiomyopathie behandeln.

#### 4. Zusammenfassung

Die nicht ischämischen Kardiomyopathie ist durch pathophysiologische Prozesse sowohl im Herzen als auch in weiteren Organsystemen gekennzeichnet, die einerseits zu veränderten kardialen hämodynamischen Verhältnissen und andererseits zu Kardiomyopathie assoziierten Begleiterkrankungen führen können. Ein Bindeglied in der Übermittlung dieser pathophysiologischen Signale kann das System der Adipozytokine darstellen. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich im Rahmen einer nicht ischämischen Kardiomyopathie sowohl systemisch im Plasma als auch lokal am Herzen die Expression der Adipozytokine signifikant ändert. Patienten mit einer DCMi weisen erhöhte systemische Plasmakonzentrationen der untersuchten Adipozytokine APN, Leptin, Resistin und RBP 4 auf. Dem gegenüber steht das Krankheitsbild einer DCM ohne kardiale Inflammation, das lediglich über erhöhte Plasmaspiegel von Leptin und Resistin charakterisiert ist. Darüber hinaus führt die kardiale Inflammation zu einer erhöhten kardialen Expression von Adiponektin. Durch die von uns durchgeführten klinischen Studien konnte ein signifikanter Einfluss der Adipozytokinexpression auf inflammatorische und hämodynamische Parameter und somit auf den klinischen Verlauf der nicht ischämischen Kardiomyopathie dargestellt werden. So zeigte sich eine positive Assoziation von hohen Adiponektinexpressionsraten mit abnehmenden Entzündungsparametern und sich verbessernden hämodynamischen Verhältnissen bei Patienten mit einer inflammatorischen Kardiomyopathie. Dem gegenüber stand die ungünstige Prognose für den klinischen Verlauf einer DCM bei Patienten mit hohen Plasmakonzentrationen von Leptin und Resistin.

Zudem konnte am Beispiel des RBP4 die Bedeutung eines Adipozytokins bei der Entwicklung von Kardiomyopathie typischen Begleiterkrankungen aufgezeigt werden, indem die gesteigerte RBP4 Expression im Rahmen einer inflammatorischen Kardiomyopathie mit einer erhöhten Inzidenz einer diabetogenen Stoffwechsellage assoziiert werden konnte.

Zur Beschreibung möglicher Signaltransduktionswege, die bei der Vermittlung der Adipozytokineffekte eine Bedeutung besitzen, wurde die Rolle des TF als prokoagulatorischer Faktor und als Protein zur Signalübermittlung für inflammatorischer Reize untersucht. Hierbei zeigte sich, dass gAPN, Leptin und Resistin zu einer Steigerung der TF Expression führen, was wieder

prokoagulatorische und inflammatorische Effekte der Adipozytokine erklären kann.

Somit besitzt das System der Adipozytokine einen signifikanten Einfluss auf den hämodynamischen und inflammatorischen Verlauf einer nicht ischämischen Kardiomyopathie und kann eine Erklärung für die Entwicklung typischer Begleiterkrankungen bei nicht ischämischen Kardiomyopathien darstellen.

## 6. Literaturangaben

- (1) Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2006 April 11;113(14):1807-16.
- (2) Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyarfás I, Martin I, Nordet P. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996 March 1;93(5):841-2.
- (3) Yeh ET, Bickford CL. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. *J Am Coll Cardiol* 2009 June 16;53(24):2231-47.
- (4) Chien KR. Genotype, phenotype: upstairs, downstairs in the family of cardiomyopathies. *J Clin Invest* 2003 January;111(2):175-8.
- (5) Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, Factor SM, Fallon JT, Fenoglio JJ, Jr., Olsen EG, Schoen FJ. Myocarditis. A histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol* 1987 January;1(1):3-14.
- (6) Wu LA, Lapeyre AC, III, Cooper LT. Current role of endomyocardial biopsy in the management of dilated cardiomyopathy and myocarditis. *Mayo Clin Proc* 2001 October;76(10):1030-8.
- (7) Kindermann I, Kindermann M, Kandolf R, Klingel K, Bultmann B, Müller T, Lindinger A, Böhm M. Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis. *Circulation* 2008 August 5;118(6):639-48.
- (8) Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Onso-Vale MI, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J Pediatr (Rio J)* 2007 November;83(5 Suppl):S192-S203.
- (9) Scherer PE. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes* 2006 June;55(6):1537-45.
- (10) Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue thermogenesis in neonatal and cold-adapted animals. *Biochem Soc Trans* 1986 April;14(2):233-6.
- (11) Trujillo ME, Scherer PE. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr Rev* 2006 December;27(7):762-78.
- (12) Halberg N, Wernstedt-Asterholm I, Scherer PE. The adipocyte as an endocrine cell. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008 September;37(3):753-xi.

- (13) Richards AA, Stephens T, Charlton HK, Jones A, Macdonald GA, Prins JB, Whitehead JP. Adiponectin multimerization is dependent on conserved lysines in the collagenous domain: evidence for regulation of multimerization by alterations in posttranslational modifications. *Mol Endocrinol* 2006 July;20(7):1673-87.
- (14) 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 November 10;270(45):26746-9.
- (15) Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, Hara K, Hada Y, Vasseur F, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem* 2003 October 10;278(41):40352-63.
- (16) Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF. 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 February 13;98(4):2005-10.
- (17) Pineiro R, Iglesias MJ, Gallego R, Raghay K, Eiras S, Rubio J, Dieguez C, Gualillo O, Gonzalez-Juanatey JR, Lago F. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. *FEBS Lett* 2005 September 26;579(23):5163-9.
- (18) Skurk C, Wittchen F, Suckau L, Witt H, Noutsias M, Fechner H, Schultheiss HP, Poller W. Description of a local cardiac adiponectin system and its deregulation in dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2008 May;29(9):1168-80.
- (19) 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 July;116(7):1784-92.
- (20) Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003 June 12;423(6941):762-9.
- (21) Combs TP, Berg AH, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest* 2001 December;108(12):1875-81.
- (22) Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA, Scherer PE. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 2004 March 26;279(13):12152-62.

- (23) Hajer GR, van Haeften TW, Visseren FL. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J* 2008 December;29(24):2959-71.
- (24) Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004 April 14;291(14):1730-7.
- (25) Kistorp C, Faber J, Galatius S, Gustafsson F, Frystyk J, Flyvbjerg A, Hildebrandt P. Plasma adiponectin, body mass index, and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2005 September 20;112(12):1756-62.
- (26) Frankel DS, Vasan RS, D'Agostino RB, Sr., Benjamin EJ, Levy D, Wang TJ, Meigs JB. Resistin, adiponectin, and risk of heart failure the Framingham offspring study. *J Am Coll Cardiol* 2009 March 3;53(9):754-62.
- (27) Ingelsson E, Riserus U, Berne C, Frystyk J, Flyvbjerg A, Axelsson T, Lundmark P, Zethelius B. Adiponectin and risk of congestive heart failure. *JAMA* 2006 April 19;295(15):1772-4.
- (28) McEntegart MB, Awede B, Petrie MC, Sattar N, Dunn FG, MacFarlane NG, McMurray JJ. Increase in serum adiponectin concentration in patients with heart failure and cachexia: relationship with leptin, other cytokines, and B-type natriuretic peptide. *Eur Heart J* 2007 April;28(7):829-35.
- (29) Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF, Spranger J. Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction. *Diabetes* 2005 September;54(9):2712-9.
- (30) 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 December 1;372(6505):425-32.
- (31) Munzberg H, Myers MG, Jr. Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat Neurosci* 2005 May;8(5):566-70.
- (32) Chan JL, Heist K, DePaoli AM, Veldhuis JD, Mantzoros CS. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. *J Clin Invest* 2003 May;111(9):1409-21.
- (33) Havel PJ, Kasim-Karakas S, Mueller W, Johnson PR, Gingerich RL, Stern JS. Relationship of plasma leptin to plasma insulin and adiposity in normal weight and overweight women: effects of dietary fat content and sustained weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 December;81(12):4406-13.
- (34) Fried SK, Ricci MR, Russell CD, Laferrere B. Regulation of leptin production in humans. *J Nutr* 2000 December;130(12):3127S-31S.
- (35) Steinberg GR, Parolin ML, Heigenhauser GJ, Dyck DJ. Leptin increases FA oxidation in lean but not obese human skeletal muscle: evidence of peripheral leptin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 July;283(1):E187-E192.

- (36) Lieb W, Sullivan LM, Harris TB, Roubenoff R, Benjamin EJ, Levy D, Fox CS, Wang TJ, Wilson PW, Kannel WB, Vasan RS. Plasma leptin levels and incidence of heart failure, cardiovascular disease, and total mortality in elderly individuals. *Diabetes Care* 2009 April;32(4):612-6.
- (37) Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ, Kelly A, Shepherd J, Gaw A, Sattar N. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation* 2001 December 18;104(25):3052-6.
- (38) Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, Madge LA, Schechner JS, Schwabb MB, Polverini PJ, Flores-Riveros JR. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998 September 11;281(5383):1683-6.
- (39) Bodary PF, Westrick RJ, Wickenheiser KJ, Shen Y, Eitzman DT. Effect of leptin on arterial thrombosis following vascular injury in mice. *JAMA* 2002 April 3;287(13):1706-9.
- (40) Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001 January 18;409(6818):307-12.
- (41) Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, Scherer PE, Shapiro L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science* 2004 May 21;304(5674):1154-8.
- (42) Rangwala SM, Rich AS, Rhoades B, Shapiro JS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA. Abnormal glucose homeostasis due to chronic hyperresistinemia. *Diabetes* 2004 August;53(8):1937-41.
- (43) Rajala MW, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J Clin Invest* 2003 January;111(2):225-30.
- (44) Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, Scherer PE, Rossetti L. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* 2004 July;114(2):232-9.
- (45) Zhang MH, Na B, Schiller NB, Whooley MA. Association of resistin with heart failure and mortality in patients with stable coronary heart disease: data from the heart and soul study. *J Card Fail* 2011 January;17(1):24-30.
- (46) Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, Kotani K, Quadro L, Kahn BB. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005 July 21;436(7049):356-62.
- (47) Graham TE, Yang Q, Bluher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, Wason CJ, Oberbach A, Jansson PA, Smith U, Kahn BB. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006 June 15;354(24):2552-63.

- (48) Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005 January 21;307(5708):426-30.
- (49) Revollo JR, Korner A, Mills KF, Satoh A, Wang T, Garten A, Dasgupta B, Sasaki Y, Wolberger C, Townsend RR, Milbrandt J, Kiess W, Imai S. Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab* 2007 November;6(5):363-75.
- (50) Rauch U, Nemerson Y. Tissue factor, the blood, and the arterial wall. *Trends Cardiovasc Med* 2000 May;10(4):139-43.
- (51) Luther T, Mackman N. Tissue factor in the heart. Multiple roles in hemostasis, thrombosis, and inflammation. *Trends Cardiovasc Med* 2001 November;11(8):307-12.
- (52) Luther T, Dittert DD, Kotzsch M, Erlich J, Albrecht S, Mackman N, Muller M. Functional implications of tissue factor localization to cell-cell contacts in myocardium. *J Pathol* 2000 September;192(1):121-30.
- (53) Erlich JH, Boyle EM, Labriola J, Kovacich JC, Santucci RA, Fearn C, Morgan EN, Yun W, Luther T, Kojikawa O, Martin TR, Pohlman TH, Verrier ED, Mackman N. Inhibition of the tissue factor-thrombin pathway limits infarct size after myocardial ischemia-reperfusion injury by reducing inflammation. *Am J Pathol* 2000 December;157(6):1849-62.
- (54) Szotowski B, Goldin-Lang P, Antoniak S, Bogdanov VY, Pathirana D, Pauschinger M, Dorner A, Kuehl U, Coupland S, Nemerson Y, Hummel M, Poller W, Hetzer R, Schultheiss HP, Rauch U. Alterations in myocardial tissue factor expression and cellular localization in dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2005 April 5;45(7):1081-9.
- (55) Towbin JA. The role of cytoskeletal proteins in cardiomyopathies. *Curr Opin Cell Biol* 1998 February;10(1):131-9.
- (56) Bobbert P, Weithauser A, Andres J, Bobbert T, Kuhl U, Schultheiss HP, Rauch U, Skurk C. Increased plasma retinol binding protein 4 levels in patients with inflammatory cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2009 December;11(12):1163-8.
- (57) Bobbert P, Scheibenbogen C, Jenke A, Kania G, Wilk S, Krohn S, Stehr J, Kuehl U, Rauch U, Eriksson U, Schultheiss HP, Poller W, Skurk C. Adiponectin expression in patients with inflammatory cardiomyopathy indicates favourable outcome and inflammation control. *Eur Heart J* 2011 May;32(9):1134-47.
- (58) Bobbert P, Jenke A, Bobbert T, Kuhl U, Rauch U, Lassner D, Scheibenbogen C, Poller W, Schultheiss HP, Skurk C. High leptin and resistin expression in chronic heart failure: adverse outcome in patients with dilated and inflammatory cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2012 November;14(11):1265-75.

- (59) Fantuzzi G. Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. *J Allergy Clin Immunol* 2008 February;121(2):326-30.
- (60) Kim KY, Kim JK, Han SH, Lim JS, Kim KI, Cho DH, Lee MS, Lee JH, Yoon DY, Yoon SR, Chung JW, Choi I, Kim E, Yang Y. Adiponectin is a negative regulator of NK cell cytotoxicity. *J Immunol* 2006 May 15;176(10):5958-64.
- (61) Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 October 15;323(2):630-5.
- (62) Takahashi T, Saegusa S, Sumino H, Nakahashi T, Iwai K, Morimoto S, Kanda T. Adiponectin replacement therapy attenuates myocardial damage in leptin-deficient mice with viral myocarditis. *J Int Med Res* 2005 March;33(2):207-14.
- (63) Takahashi T, Yu F, Saegusa S, Sumino H, Nakahashi T, Iwai K, Morimoto S, Kurabayashi M, Kanda T. Impaired expression of cardiac adiponectin in leptin-deficient mice with viral myocarditis. *Int Heart J* 2006 January;47(1):107-23.
- (64) Haugen F, Drevon CA. Activation of nuclear factor-kappaB by high molecular weight and globular adiponectin. *Endocrinology* 2007 November;148(11):5478-86.
- (65) Rovin BH, Song H. Chemokine induction by the adipocyte-derived cytokine adiponectin. *Clin Immunol* 2006 July;120(1):99-105.
- (66) Valaperti A, Marty RR, Kania G, Germano D, Mauermann N, Dirnhofer S, Leimenstoll B, Blyszczuk P, Dong C, Mueller C, Hunziker L, Eriksson U. CD11b+ monocytes abrogate Th17 CD4+ T cell-mediated experimental autoimmune myocarditis. *J Immunol* 2008 February 15;180(4):2686-95.
- (67) Saegusa S, Fei Y, Takahashi T, Sumino H, Moriya J, Kawaura K, Yamakawa J, Itoh T, Morimoto S, Nakahashi T, Iwai K, Matsumoto M, Kanda T. Oral administration of candesartan improves the survival of mice with viral myocarditis through modification of cardiac adiponectin expression. *Cardiovasc Drugs Ther* 2007 June;21(3):155-60.
- (68) Takahashi T, Zhu SJ, Sumino H, Saegusa S, Nakahashi T, Iwai K, Morimoto S, Kanda T. Inhibition of cyclooxygenase-2 enhances myocardial damage in a mouse model of viral myocarditis. *Life Sci* 2005 November 26;78(2):195-204.
- (69) Yu F, Chen R, Takahashi T, Sumino H, Morimoto S, Nakahashi T, Iwai K, Matsumoto M, Kanda T. Candesartan improves myocardial damage in obese mice with viral myocarditis and induces cardiac adiponectin. *Int J Cardiol* 2008 October 13;129(3):414-21.
- (70) Butler J, Kalogeropoulos A, Georgiopoulou V, de RN, Rodondi N, Smith AL, Hoffmann U, Kanaya A, Newman AB, Kritchevsky SB, Vasan RS, Wilson PW, Harris TB. Serum resistin concentrations and risk of new onset heart failure in older persons: the health, aging, and body composition (Health ABC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009 July;29(7):1144-9.

- (71) Park HK, Qatanani M, Briggs ER, Ahima RS, Lazar MA. Inflammatory induction of human resistin causes insulin resistance in endotoxemic mice. *Diabetes* 2011 March;60(3):775-83.
- (72) Suzukawa M, Nagase H, Ogahara I, Han K, Tashimo H, Shibui A, Koketsu R, Nakae S, Yamaguchi M, Ohta K. Leptin enhances survival and induces migration, degranulation, and cytokine synthesis of human basophils. *J Immunol* 2011 May 1;186(9):5254-60.
- (73) Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest* 2005 March;115(3):500-8.
- (74) Higuchi Y, Chan TO, Brown MA, Zhang J, DeGeorge BR, Jr., Funakoshi H, Gibson G, McTiernan CF, Kubota T, Jones WK, Feldman AM. Cardioprotection afforded by NF-kappaB ablation is associated with activation of Akt in mice overexpressing TNF-alpha. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006 February;290(2):H590-H598.
- (75) Tsutamoto T, Hisanaga T, Wada A, Maeda K, Ohnishi M, Fukai D, Mabuchi N, Sawaki M, Kinoshita M. Interleukin-6 spillover in the peripheral circulation increases with the severity of heart failure, and the high plasma level of interleukin-6 is an important prognostic predictor in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998 February;31(2):391-8.
- (76) Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 1992 July 17;257(5068):387-9.
- (77) Kang S, Chemaly ER, Hajjar RJ, Lebeche D. Resistin promotes cardiac hypertrophy via the AMP-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin (AMPK/mTOR) and c-Jun N-terminal kinase/insulin receptor substrate 1 (JNK/IRS1) pathways. *J Biol Chem* 2011 May 27;286(21):18465-73.
- (78) Payne GA, Borbouse L, Kumar S, Neeb Z, Alloosh M, Sturek M, Tune JD. Epicardial perivascular adipose-derived leptin exacerbates coronary endothelial dysfunction in metabolic syndrome via a protein kinase C-beta pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010 September;30(9):1711-7.
- (79) Chemaly ER, Hadri L, Zhang S, Kim M, Kohlbrenner E, Sheng J, Liang L, Chen J, Raman P, Hajjar RJ, Lebeche D. Long-term in vivo resistin overexpression induces myocardial dysfunction and remodeling in rats. *J Mol Cell Cardiol* 2011 August;51(2):144-55.
- (80) Bobbio M, Ferrua S, Opasich C, Porcu M, Lucci D, Scherillo M, Tavazzi L, Maggioni AP. Survival and hospitalization in heart failure patients with or without diabetes treated with beta-blockers. *J Card Fail* 2003 June;9(3):192-202.
- (81) Ott I, Fischer EG, Miyagi Y, Mueller BM, Ruf W. A role for tissue factor in cell adhesion and migration mediated by interaction with actin-binding protein 280. *J Cell Biol* 1998 March 9;140(5):1241-53.

- (82) Antoniak S, Boltzen U, Riad A, Kallwellis-Opara A, Rohde M, Dorner A, Tschope C, Noutsias M, Pauschinger M, Schultheiss HP, Rauch U. Viral myocarditis and coagulopathy: increased tissue factor expression and plasma thrombogenicity. *J Mol Cell Cardiol* 2008 July;45(1):118-26.
- (83) Bobbert P, Eisenreich A, Weithauser A, Schultheiss HP, Rauch U. Leptin and resistin induce increased procoagulability in diabetes mellitus. *Cytokine* 2011 November;56(2):332-7.
- (84) Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Kita S, Ito Y, Hada Y, Uchida S, Tsuchida A, Takekawa S, Kadowaki T. Generation of globular fragment of adiponectin by leukocyte elastase secreted by monocytic cell line THP-1. *Endocrinology* 2005 February;146(2):790-6.
- (85) Bobbert P, Antoniak S, Schultheiss HP, Rauch U. Globular adiponectin but not full-length adiponectin induces increased procoagulability in human endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol* 2008 February;44(2):388-94.
- (86) Antoniak S, Owens AP, III, Baunacke M, Williams JC, Lee RD, Weithauser A, Sheridan PA, Malz R, Luyendyk JP, Esserman DA, Trejo J, Kirchhofer D, Blaxall BC, Pawlinski R, Beck MA, Rauch U, Mackman N. PAR-1 contributes to the innate immune response during viral infection. *J Clin Invest* 2013 March 1;123(3):1310-22.
- (87) Pawlinski R, Tencati M, Hampton CR, Shishido T, Bullard TA, Casey LM, Andrade-Gordon P, Kotzsch M, Spring D, Luther T, Abe J, Pohlman TH, Verrier ED, Blaxall BC, Mackman N. Protease-activated receptor-1 contributes to cardiac remodeling and hypertrophy. *Circulation* 2007 November 13;116(20):2298-306.
- (88) Weithauser A, Bobbert P, Antoniak S, Bohm A, Rauch BH, Klingel K, Savvatis K, Kroemer HK, Tschope C, Stroux A, Zeichhardt H, Poller W, Mackman N, Schultheiss HP, Rauch U. Protease-activated receptor 2 regulates the Innate Immune Response to Viral Infection in a CVB3-induced Myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2013 July 3.

## **6. Danksagung**

Ich danke Herrn Prof. Dr. Schultheiss für seine umfassende Hilfe während meiner Lehrzeit in seiner Klinik. Nur durch seine Unterstützung wurde mir ein Arbeitsumfeld geboten, das mir ermöglichte, neben der klinischen Tätigkeit konzentriert und umfangreich wissenschaftlich tätig zu sein.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Rauch, die mich in ihre Arbeitsgruppe aufnahm und mir fachkundig den Weg zu einer erfolgreichen wissenschaftlichen Arbeit zeigte. Ihre über die Jahre stets umsichtige Hilfe befähigte mich, meine wissenschaftliche Arbeit erfolgreich durchzuführen.

Bedanken möchte ich mich zudem bei den Mitgliedern der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. Rauch. Insbesondere Alice Weithäuser und Franziska Bleis unterstützten mich bei meinen experimentellen Arbeiten.

## 7. Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charite

Hiermit erkläre ich, dass

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungen gegen mich anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

(Datum)

(Unterschrift)