

Regulation von Adiponektin durch das Renin-Angiotensin-System

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors
der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ronald Clasen

aus Schwerin

März 2005

1. Gutachter: Prof. Dr. Thomas Unger

2. Gutachter: Prof. Dr. Hans-Hubert Borchert

Disputation am: 07.07.2005

Danksagung

Die pharmakologische Forschung sowie die Durchführung von molekularbiologischen, *in-vitro* und *in-vivo* Experimenten erfordert neben einer exzellenten Laborausstattung ein hohes Maß an Expertise und Know-How.

Deswegen möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Thomas Unger sowohl für die Überlassung des Themas und die Bereitstellung der für diese Arbeit erforderlichen Mittel als auch für die vorbildliche Betreuung bedanken, die stets von einer freundlichen und unkomplizierten Atmosphäre geprägt war.

Meinem direkten Betreuer Herrn PD Dr. Ulrich Kintscher gilt mein ganz besonderer Dank für seine ständige Kooperation, seine immer schnelle und direkte Hilfe und für seine optimistische und freundliche Art, die mich viele schwierige Situationen während dieser Arbeit viel leichter meistern ließen.

Bei Herrn Prof. Dr. Hans-Hubert Borchert möchte ich mich herzlich für seine Bereitschaft bedanken, die Betreuung der Arbeit am Fachbereich Pharmazie der Freien Universität Berlin übernommen zu haben.

Die Mitglieder der Arbeitsgruppe Unger waren mir während meiner Zeit am Institut eine große Hilfe und schafften ein freundliches und angenehmes Arbeitsklima. Ein besonderer Dank geht an Michael und Frau Sprang, die mir von Anfang an oft mit Rat und Tat zur Seite standen. Auch bei Anna, Markus, Matthias und bei weiteren Mitarbeitern der Arbeitsgruppe sowie des gesamten Hauses wie zum Beispiel Claudia, Elena, Heike, Jun, Jenny, Karsten, Manuela und Melanie möchte ich mich für deren experimentelle Unterstützung bedanken.

Meinen Eltern möchte ich bei dieser Gelegenheit auch zutiefst danken, ohne deren ständige Unterstützung und Halt ich sicherlich nicht so weit gekommen wäre. Auch meinem Onkel gilt mein herzlicher Dank, der mich schon von Kindesbeinen an für die Wissenschaft interessiert und dessen wissenschaftliche Laufbahn mich für mein eigenes Fortkommen angespornt hat.

Meinem Bruder, meiner Tante sowie allen Freunden innerhalb und außerhalb des Instituts möchte ebenfalls ein großes Dankeschön aussprechen, die für ein ausgefülltes und schönes Privatleben neben der Arbeit sorgten.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Das metabolische Syndrom.....	1
1.2. Adipositas.....	6
1.3. Insulinresistenz und Diabetes.....	8
1.3.1. Insulinresistenz.....	8
1.3.2. Diabetes.....	9
1.4. AT1-Antagonisten.....	11
1.5. Adiponektin.....	21
1.6. Zielsetzung.....	31
2. Material und Methoden	33
2.1. Material.....	33
2.1.1. Chemikalien und Substanzen.....	33
2.1.2. Kits.....	34
2.1.3. Nukleotide und Primer.....	35
2.1.4. Molekulargewichtsmarker.....	37
2.1.5. Enzyme.....	37
2.1.6. Antikörper.....	37
2.1.7. Medien und Zusätze für die Zellkultur.....	38
2.1.8. Versuchstiere und Zelllinien.....	38
2.1.9. Ausgewählte Zusatzmaterialien.....	39
2.1.10. Puffer und Lösungen.....	40
2.1.11. Material und Geräte.....	41
2.2. Methoden.....	42
2.2.1. Zellkultur.....	42
2.2.2. Analyse der mRNA-Expression.....	45
2.2.3. Analyse der Proteinexpression.....	53
2.2.4. Bestimmung der Proteasomaktivität.....	55
2.2.5. Tierversuche.....	56
2.2.6. Insulin- und Adiponektin-ELISA.....	58
2.2.7. Bestimmung der Glucose- und Triglyzeridspiegel.....	60

2.2.8. Immunohistochemie.....	62
2.2.9. Statistik	63
3. Ergebnisse.....	65
3.1. Differenzierung von 3T3-L1 Präadipozyten	65
3.2. Adiponektinexpression in 3T3-L1 Zellen.....	67
3.3. AT-Rezeptorexpression in 3T3-L1 Zellen.....	69
3.4. Einfluss von Ang II auf die Adiponektinexpression	70
in 3T3-L1 Zellen	70
3.5. Einfluss der Blockade des Renin-Angiotensin-Systems auf die Adiponektinexpression.....	75
3.6. Einfluss vom PPAR auf die Adiponektin-	84
expression in 3T3-L1 Adipozyten	84
3.7. Einfluss der PPAR-aktivierenden AT1-Antagonisten.....	88
auf die Adiponektin-mRNA-Expression	88
3.8. Einfluss von Irbesartan auf den.....	91
Adiponektin-Proteinabbau	91
3.9. Rolle des Ubiquitin-Proteasom-Systems.....	94
in der Adiponektindegradation	94
3.10. Einfluss von Irbesartan auf die Adiponektinexpression und die Insulin- Sensitivität <i>in-vivo</i>	100
3.11. Gewebsspezifische Adiponektinverteilung in	111
adipösen <i>fa/fa</i> ZF-Ratten	111
4. Diskussion	119
4.1. 3T3-L1 Zellen.....	119
4.2. Adiponektin und das RAS	121
4.3. Adiponektin und PPAR γ	126
4.4. Adiponektin-Abbau	131

4.5. Das Adipositas-induzierte Rattenmodell der Insulinresistenz.....	138
4.6. Unterschiede verschiedener Fettgewebe.....	144
5. Zusammenfassung	147
6. Summary	151
6. Literaturverzeichnis.....	154
7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	172
8. Lebenslauf	176