

Aus dem Institut für Experimentelle und
Klinische Pharmakologie und Toxikologie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. Markus Schwaninger

**Der gewichtsreduzierende Effekt von AT1-Rezeptorblockern in
Mäusen mit einem ubiquitären Mas Knockout**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

vorgelegt von
Carla Dapper

aus Coesfeld

Lübeck 2020

1. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Walter Raasch

2. Berichterstatterin/Berichterstatter: Prof. Dr. med. Tanja Lange

Tag der mündlichen Prüfung: 3.12.2020

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 3.12.2020

Promotionskommission der Sektion Medizin

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	- 1 -
1 Einleitung	- 5 -
1.1 Das metabolische Syndrom	- 5 -
1.2 Adipositas	- 9 -
1.3 Insulinresistenz	- 11 -
1.4 Leptinresistenz	- 12 -
1.5 Das RAAS und seine metabolische Relevanz	- 13 -
1.6 AT ₁ -Blocker und Gewichtsregulation	- 18 -
1.7 Motivation und Fragestellung	- 23 -
2 Material und Methoden	- 25 -
2.1 Versuchstiere und Haltung	- 25 -
2.2 Diäten und Gewichtsentwicklung von FVB/N-wt-Mäusen bei chow-Diät oder HFD	- 26 -
2.3 Versuchsprotokoll: Auswirkung eines ubiquitären Mas ko in FVB/N-Mäusen auf metabolische Parameter bei HFD und TEL-Behandlung	- 27 -
2.3.1 Herstellung einer Telmisartan-Suspension	- 29 -
2.4 Invasive Methoden: Probengewinnung und Medikamentenapplikation	- 30 -
2.4.1 Orale Applikation	- 30 -
2.4.2 Intraperitoneale Applikation	- 30 -
2.4.3 Bestimmung der Plasmaglukosekonzentration	- 30 -
2.4.4 Nüchternblutentnahme zur Triglyzeridbestimmung	- 31 -
2.4.5 Blutentnahme durch finale Herzpunktion und Organentnahme	- 31 -
2.5 Funktionstests	- 33 -
2.5.1 Insulintoleranztest	- 33 -
2.5.2 Indirekte Kalorimetrie	- 34 -
2.5.3 Leptinresistenztest	- 35 -
2.5.4 Magnetresonanztomographie	- 36 -
2.5.5 Messung von Körperlänge und -umfang	- 38 -
2.6 Analytische Methoden	- 38 -

2.6.1	Genotypisierung	- 38 -
2.6.2	Triglyzeridbestimmung	- 38 -
2.6.3	Multiplex-Assay	- 38 -
2.6.4	Quantifizierung von mRNA	- 40 -
2.7	Statistische Methoden und Auswertung	- 40 -
3	Ergebnisse	- 42 -
3.1	Gewichtsentwicklung von FVB/N-wt-Mäusen bei chow-Diät oder HFD	- 42 -
3.2	Wachstum	- 43 -
3.2.1	Gewicht	- 43 -
3.2.2	Körperlänge und Bauchumfang	- 44 -
3.2.3	Fettmasse	- 45 -
3.2.4	Organgewichte	- 47 -
3.3	Energieumsatz	- 49 -
3.3.1	Energie- und Wasseraufnahme	- 49 -
3.3.2	Energieumsatz und Lokomotion	- 51 -
3.4	Glucosehomöostase	- 53 -
3.4.1	Plasmaspiegel von Glucose, Insulin und C-Peptid	- 53 -
3.4.2	Insulinsensitivität	- 54 -
3.4.3	Plasmaspiegel der insulinotropen Hormone GIP und GLP-1	- 56 -
3.5	Adipozytokine	- 57 -
3.5.1	Leptinresistenz	- 58 -
3.6	Lipide	- 60 -
3.7	mRNA der RAAS-Komponenten	- 61 -
4	Diskussion	- 66 -
4.1	Entwicklung der Phänotypen unter chow- oder High-Fat-Diät	- 66 -
4.2	Auswirkungen einer chronischen Applikation von Telmisartan	- 71 -
4.3	Expression der mRNA einzelner RAAS-Komponenten	- 73 -
4.4	Erklärungsversuche für die Diskrepanz der eigenen Ergebnisse zu den Literaturbefunden	- 74 -
4.5	Limitationen der Studie	- 79 -
4.6	Ausblick	- 80 -

5	Zusammenfassung	- 82 -
6	Literaturverzeichnis	- 84 -
7	Anlagen	- 97 -
7.1	Anhang	- 97 -
7.2	Tabellenverzeichnis	- 102 -
7.3	Abbildungsverzeichnis	- 102 -
7.4	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis Anhang	- 103 -
7.5	Material- und Geräteverzeichnis	- 103 -
7.5.1	Materialien	- 103 -
7.5.2	Geräte	- 104 -
7.5.3	Versuchskits	- 106 -
7.5.4	Substanzen und Lösungen	- 106 -
7.5.5	Rezepturen von Lösungen und Puffern	- 106 -
7.5.6	Software	- 107 -
8	Veröffentlichungen	- 108 -
8.1	Poster	- 108 -
8.2	Originalarbeiten	- 109 -
8.3	Auszeichnungen und Preise	- 109 -
9	Danksagung	- 110 -
10	Lebenslauf	- 112 -

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
® / ™	geschützter Warenname
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
ACE	<i>Angiotensin-Converting-Enzym</i>
ACE2	<i>Angiotensin-Converting-Enzym-2</i>
AG	Arbeitsgemeinschaft
AOGEN	Angiotensinogen
Ang I	Angiotensin I
Ang II	Angiotensin II
Ang(1-7)	Angiotensin(1-7)
ARB	AT ₁ -Rezeptor-Blocker
AT ₁ R	Typ-1-Angiotensin-II-Rezeptor
AT ₂ R	Typ-2-Angiotensin-II-Rezeptor
AUC	<i>Area under the curve</i> (Fläche unter der Kurve)
BMI	<i>Body-Mass-Index</i>
BZ	Blutzucker
bzw.	beziehungsweise
ca.	<i>circa</i>
chow	Kontroll-/ Standard-Diät
cm	Zentimeter
C _{min}	minimale Plasma-Glucose-Konzentration
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
C-Peptid	<i>Connecting Peptide</i>
CRP	C-reaktives Protein
d	Tag
Δ	<i>delta</i> (Differenz)
db/db	Mutation des Leptin-Rezeptor Gens

dL	Deziliter
DMT2	Diabetes mellitus Typ 2
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EE	<i>Energiy Expenditure</i> (Energieverbrauch)
g	Gramm
g	mittlere Erdbeschleunigung (für Angabe der Beschleunigung einer Zentrifuge)
GIP	Glukoseabhängiges insulinotropes Peptid/ <i>Glucose Dependent Insulinotropic Peptide</i>
GLP-1	<i>Glucagon-like Peptide 1</i>
GTH	Gemeinsame Tierhaltung der Universität zu Lübeck
h	Stunde
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HFD	<i>High-Fat-Diet</i>
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
I.E.	Internationale Einheiten
IL-6	Interleukin 6
i.p.	intraperitoneal
ITT	Insulintoleranztest
IU	<i>International Unit</i>
Kcal	Kilokalorien
ko	<i>knockout</i>
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kJ	Kilojoule
L	Liter
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LRT	Leptinresistenztest
Lsg.	Lösung
MAPK	MAP-Kinase (<i>mitogen-activated-protein kinase</i>)
Mas ko	Mas-Rezeptor <i>knockout</i>
MDC	Max Delbrück Centrum für Molekulare Medizin, Berlin
MetS	Metabolisches Syndrom
mg	Milligramm

min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Wassersäule
mmol	Millimol
MrgD	<i>Mas-related G-protein-coupled receptor D</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl der Stichproben
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
NPY	Neuropeptid Y
n.s.	nicht signifikant
O ₂	Sauerstoff
ob/ob	Mutation des Leptingens
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Polymerase-Kettenreaktion)
pH	“potential hydrogenii”
PI3K	Phosphatidylinositol 3-Kinase
p.o.	per os
PP	Pankreatisches Polypeptid
PPAR _γ	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor γ
PYY	Peptid YY
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RER	<i>Respiratory Exchange Rate</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
s	Sekunde
SD	<i>Sprague Dawley</i> (Ratte)
SEM	Standardfehler
t	Zeit
Tab.	Tabelle
TEL	Telmisartan
TG	Triglyzeride

TG(A1-7)	Transgene Ratte mit global erhöhten Ang(1-7)-Spiegeln
TNF α	Tumornekrosefaktor- α
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
USD	US-Dollar
V	Vehikel
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
vs.	<i>versus</i> , gegen(über)
WHO	Welt-Gesundheits-Organisation
wt	Wildtyp
x	mal
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Das metabolische Syndrom

Das metabolische Syndrom (MetS) beschreibt eine Konstellation verschiedener metabolischer Dysfunktionen, welche sich gegenseitig bedingen, beeinflussen oder nebeneinander bestehen. Diese gehen mit einem gesteigerten kardiovaskulären Risiko sowie einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2 (DMT2) einher, wodurch letztendlich eine erhöhte Morbidität und Mortalität der Betroffenen und eine steigende weltweite finanzielle Belastung resultieren [1]–[3].

Das MetS betrifft laut der weltweiten Definition der *International Diabetes Federation* von 2005 ein Viertel der Weltbevölkerung [2]. Die Prävalenz hängt jedoch stark davon ab, wie das MetS definiert wird und wie die genetischen Einflüsse, Umweltfaktoren und die Zusammensetzung der untersuchten Population aussehen, sodass es zur Generierung unterschiedlicher Daten kommen kann. Einen entscheidenden Beitrag zur Prävalenz des MetS leisten Lebens- und Ernährungsstil, aber auch die Familienanamnese und der genetische Hintergrund. Besonders eine vor allem „sitzende Lebensweise mit reduzierter körperlicher Aktivität“ und ein „hoher sozioökonomischer Status“ begünstigen das vermehrte Auftreten des Syndroms [4]–[7]. In der *National Health and Nutrition Examination Survey des Adult Treatment Panel III*, in welcher die Daten von mehr als 8000 Männern und Frauen mit einem Alter über 20 Jahren von 1988-1994 im Rahmen einer Querschnittsstudie ausgewertet wurden, betrug die Prävalenz des MetS 21.8%. Es zeigte sich dort ein deutlicher Prävalenzanstieg mit steigendem Alter. Geschlechterspezifische Unterschiede zeigten sich keine [7], [8].

Mit zunehmender Prävalenz [9] und als wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung eines DMT2 mit einem 5-fach gesteigerten Risiko zu erkranken [10], kommt dem MetS, seiner weiteren Erforschung, Vorsorge und Therapie eine große ökonomische Bedeutung zu. Im Jahr 2017 waren auf der Welt bereits 425 Millionen Menschen zwischen 20 und 79 Jahren an Diabetes erkrankt. Bis zum Jahr 2045 wird mit einer Zunahme auf 629 Millionen erkrankte Menschen gerechnet und damit

mit einem Anstieg um 48% der Ausgangszahl [11]. Vor allem in Ländern, in welchen ein Anstieg von geringem zu mittlerem Einkommen in der Gesamtbevölkerung nachweisbar ist, ist aufgrund struktureller und demographischer Veränderungen mit einer deutlichen Zunahme der Erkrankung zu rechnen. Pro Jahr werden schätzungsweise 727 Milliarden US-Dollar (USD) von Menschen, die an Diabetes erkrankt sind, für Gesundheitsversorgung ausgegeben. Durch eine Zunahme der Erkrankung auch in der arbeitenden Bevölkerung, also bei Menschen zwischen 20 und 64 Jahren, soll die ökonomische Belastung durch Diabetes aufgrund von Kosten sowie durch Arbeitsausfälle bis 2045 um 104 Milliarden USD steigen [11]. Nach einer epidemiologischen Studie von *Dall et. al. 2014* lag die ökonomische Belastung im Jahr 2012 bereits bei insgesamt 322 Milliarden USD. Einbezogen in diese Studie wurden auch die Kosten durch nicht diagnostizierten Diabetes [12]. Laut Diabetes Atlas 2017 handelt es sich dabei um beinahe 50% der Erkrankungsfälle, womit sich für die Erkrankung eine extrem hohe Dunkelziffer ergibt.

Durch eine chronisch hyperglykämie Stoffwechsellage bei einem Diabetes mellitus kommt es im Verlauf der Erkrankung zu einer Reihe von Komplikationen. Die Hyperglykämie führt unter anderem über ein Herunterregeln der Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO), eine vermehrte Produktion reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS) und die vermehrte Produktion von Vasokonstriktoren zu einer Fehlregulation und strukturellen Schädigung der Gefäße. Besonders betroffen sind davon Augen und Nieren, außerdem kommt es über atherosklerotische Veränderungen zu kardiovaskulären Ereignissen wie Myokardinfarkten oder Verschlüssen von Arterien des Gehirns und der Extremitäten [13]. Diese führen zu körperlichen Einschränkungen und zum frühzeitigen Versterben der betroffenen Patienten, was einen Großteil der Kosten und Arbeitsausfälle bewirkt [11]. Hinzu kommt finanzieller Aufwand für kardiovaskuläre Erkrankungen auf dem Boden eines MetS, bei welchem sich ein DMT2 noch nicht manifestiert hat [2].

Die genaue Ätiologie des MetS bleibt weiterhin unklar. Es handelt sich um ein multifaktorielles Geschehen, bei dem kein einzelner Faktor als Ursache beschrieben werden kann [14]. Neben dem entscheidenden Risikofaktor Adipositas

scheint ursächlich eine Insulinresistenz von Bedeutung zu sein, welche vor allem durch ein erhöhtes Vorkommen freier Fettsäuren begünstigt wird [9], [15], [16]. Den ersten Hinweis hierzu lieferte 1988 *Reaven* mit der Beschreibung des *Syndrom X*, unter welchem er Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen zusammenfasste [17]. Auch die Resistenz gegenüber dem Sättigungshormon Leptin [18] und Einflüsse durch das Mikrobiom des Darms [19] stehen als mögliche Ursachen in der Diskussion.

Nach *Reaven* nannte *Kaplan* das Syndrom 1989 „*The Deadly Quartet*“ und zielte damit insbesondere auf die Kombination aus Adipositas, gestörter Glucose-Toleranz, erhöhter Triglyzeride und arterieller Hypertonie ab und kam damit der heutigen Definition bereits sehr nahe. Im weiteren Verlauf erschienen immer wieder neue Definitionen für ähnliche Symptomkonstellationen. Mit den WHO-Kriterien von 1998 wurde das MetS erstmals als solches definiert [20]. Aktuell gehören zum MetS nach den Kriterien der *International Diabetes Federation* von 2005 die in Tabelle 1 aufgeführten Kriterien, während weitere ähnliche Definitionen anderer Organisationen bestehen [21]. Entscheidend für die klinische Diagnosestellung eines MetS sind daher vor allem die Messung des Taillenumfangs und des arteriellen Blutdrucks. Hinzu kommt die laborchemische Bestimmung der Nüchtern-Fettwerte und der Nüchtern-Glucose.

Begleitend können eine nicht-alkoholisch bedingte Fettleber, ein polyzystisches Ovarialsyndrom bei Frauen und ein obstruktives Schlafapnoesyndrom auftreten, welche weitere Komplikationen bedingen und die Betroffenen zusätzlich einschränken [21]. Darüber hinaus steigt durch das Bestehen eines MetS mit oder ohne manifestem DMT2 die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse an. Es wird vermutet, dass es dabei durch eine subklinisch verbleibende chronische Entzündung zu kardiovaskulären Erkrankungen kommt [22], [23]. Das Risiko einen Schlaganfall zu erleiden ist bei Vorliegen eines MetS 2 bis 4-fach erhöht, das Risiko für einen Myokardinfarkt 3- bis 4-fach. Zudem besteht ein doppelt so hohes Risiko an einem der oben genannten Ereignisse zu versterben, verglichen mit Patienten ohne MetS [21]. Auch gibt es Hinweise darauf, dass ein MetS das Auftreten bestimmter Karzinome fördert [9].

Tabelle 1: Die neue Definition des Metabolischen Syndroms

nach der *International Diabetes Federation 2005*

Kriterien für das Bestehen eines Metabolischen Syndroms nach der IDF

stammbetonte Adipositas mit erhöhtem Taillenumfang (≥ 80 cm bei Frauen bzw. ≥ 94 cm bei Männern) oder BMI > 30 kg/m²

plus zwei der folgenden Faktoren:

erhöhte Triglyzeride	≥ 150 mg/dL (1.7 mmol/L) oder eine entsprechende Therapie
erhöhter Blutdruck	systolisch ≥ 130 oder diastolisch ≥ 85 mmHg oder eine entsprechende Therapie
erniedrigtes HDL	< 40 mg/dL (1.03 mmol/L) bei Männern bzw. < 50 mg/dL (1.29 mmol/L) bei Frauen oder eine entsprechende Therapie
erhöhter Nüchternblutzucker bzw. ein manifester Diabetes mellitus	≥ 100 mg/dL (5.6 mmol/L)

Begleiterscheinungen	Hyperurikämie gestörte Blutgerinnung Mikroalbuminurie Überschuss männlicher Geschlechtshormone bei Frauen (Hyperandrogenämie) Zunahme proinflammatorischer Zytokine und des C-reaktiven Proteins (CRP)
----------------------	--

Die Therapie des MetS widmet sich derzeit zumeist der Behandlung der einzelnen Komponenten. Im Vordergrund steht die Abnahme von Körpergewicht, welche zunächst durch eine Änderung der Ernährungsgewohnheiten und Verhaltensweisen mit Zunahme an körperlicher Aktivität erzielt werden sollte [24].

Unterstützend finden sich medikamentöse Behandlungsoptionen. Da physiologische Adaptationen bei Übergewicht nach erfolgreicher Abnahme oft zu einer Wiedezunahme von Körpergewicht führen (als „Jojo-Effekt“ bekannt), kann ein effizienter Gewichtsverlust durch alleinige Lebensstil-Änderung schwierig sein [25]. Es können z.B. Medikamente wie der Lipasehemmer Orlistat zur Behandlung einer Adipositas eingesetzt werden, welcher die Verdauung von Fetten hemmt, jedoch dabei ein wenig akzeptiertes Nebenwirkungsspektrum mit fetthaltigen Stühlen und Meteorismus verursacht. Die Kombination aus dem Appetitzügler Phentermin mit Topiramaten bewirkt neben einer Gewichtsreduktion auch eine Verbesserung der Insulinsensitivität. Sie ist aber aufgrund eines risikoreichen Nebenwirkungsspektrums in Europa nicht zugelassen und findet vor allem in den USA Anwendung [24], [26], [27]. Daneben wird in den USA das *Glucagon-like Peptide 1* (GLP-1)-Analogon Liraglutid zur Gewichtsreduktion eingesetzt [28]. Auch Fett- und Glucose-Stoffwechsel lassen sich jeweils wirksam pharmakologisch beeinflussen. Hierbei zeigen insbesondere Medikamente, welche die Insulinsensitivität verbessern, einen positiven Effekt auf weitere mit dem MetS assoziierten Merkmale [26]. Dazu zählen zum Beispiel die Antidiabetika Exenatid, Glitazone und Metformin [26], [29], [30]. Ein ebenfalls wichtiger Aspekt im Rahmen des MetS ist die medikamentöse Therapie der arteriellen Hypertonie. Aktuell empfohlen sind laut den europäischen Richtlinien von 2018 Diuretika, Kalziumantagonisten, β -Blocker sowie ACE-Hemmer und Angiotensin₁-Rezeptor-Blocker (ARB) als Hemmer des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) [31]. Dabei konnte den ARB in mehreren Studien ein positiver Effekt auf weitere mit dem MetS vergesellschaftete Symptome wie Übergewicht und Störung der Glucosetoleranz nachgewiesen werden [15], [32]–[35].

1.2 Adipositas

Adipositas wird definiert als das Vorhandensein einer Fettmasse, die einen bestimmten Anteil des Körpergewichts übersteigt. Als Maß dient in diesem Fall der Body-Mass-Index (BMI), welcher sich aus dem Körpergewicht in kg dividiert durch die Körpergröße in Metern zum Quadrat errechnet und damit Größe und Gewicht in

Relation setzt [36]. Es ergibt sich für Europa und die USA die in Tabelle 2 abgebildete Gewichtsklassifikation. Neben der zentralnervös, genetisch oder endokrin bedingten sekundären Adipositas ist Adipositas in einem Großteil der Fälle primärer Natur und wird durch soziales Umfeld, eine den Energieverbrauch übersteigende Nahrungsaufnahme, einen inaktiven Lebensstil und/oder psychische Aspekte verursacht oder begünstigt. Problematisch ist dabei insbesondere eine kalorien-, zucker- und fettreiche Ernährung [37], [38]. Die Prävalenz der Erkrankung ist in den westlichen Industriestaaten steigend und betrifft zunehmend bereits Kinder [38]–[41]. In Deutschland waren in den Jahren 2008-2011 67% der Männer und 53% der Frauen übergewichtig [41], ca. 23% sowohl der Männer als auch der Frauen waren zwischen 2009 und 2011 adipös, das heißt ihr BMI überstieg 30 kg/m² [39]. Schwerwiegender als das klinische Bild von körperlicher Eingeschränktheit durch das Übergewicht wiegen Morbidität und erhöhte Mortalität. Bei den Komorbiditäten handelt es sich nach der S3 Leitlinie *Prävention und Therapie der Adipositas* 2014 neben vielen weiteren insbesondere um kardiovaskuläre Erkrankungen, die Entwicklung von DMT2 oder eines MetS und das verstärkte Auftreten bösartiger Tumoren [24], [36], [38].

Tabelle 2: Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen anhand des BMI (WHO 2000)

Tabelle der *Deutschen Adipositas Gesellschaft (DAG e.V. 2012)*

Kategorie	BMI	Risiko für Begleiterkrankungen des Übergewichts
Untergewicht	< 18,5	niedrig
Normalgewicht	18,5 – 24,9	durchschnittlich
Übergewicht	≥ 25,0	
Präadipositas	25 – 29,9	gering erhöht
Adipositas Grad I	30 – 34,9	erhöht
Adipositas Grad II	35 – 39,9	hoch
Adipositas Grad III	≥ 40	sehr hoch

1.3 Insulinresistenz

Insulin ist ein Peptidhormon, welches in den Langerhans-Inseln des Pankreas synthetisiert wird. Dort wird in den sogenannten β -Zellen aus der Vorstufe, dem Proinsulin, eine Aminosäurekette abgespalten, welche selbst als *Connecting Peptide* (C-Peptid) bezeichnet wird. Insulin und C-Peptid werden beide aus den β -Zellen ins Blut abgegeben [42], [43]. Während Insulin daraufhin seine Wirkung entfaltet, ist das C-Peptid vor allem aus diagnostischer Sicht relevant. Zum Beispiel bliebe bei einer externen Zufuhr von Insulin das C-Peptid unbeeinflusst, während Insulin erhöht wäre. Es dient damit als diagnostischer Marker der β -Zell-Funktion [43]. Die Sekretion von Insulin ist abhängig vom Blutzuckerspiegel im Plasma, überschreitet dieser eine gewisse Schwelle wird Insulin freigesetzt. Verstärkt werden kann die Freisetzung unter anderem durch die Inkretine GLP-1 und *Glucose Dependent Insulinotropic Peptide* (GIP) aus dem Gastrointestinaltrakt [42].

In der Peripherie bindet Insulin dann an den Insulin-Rezeptor und löst darüber verschiedene Signalkaskaden aus, wie z. B. den Phosphoinositid-3-Kinase/Akt (PI3K/Akt)-Signalweg. Der PI3K/Akt-Signalweg ist für einen Großteil der Wirkungen von Insulin verantwortlich, insbesondere auch für die Translokation von GLUT4-Transportern aus dem Zytoplasma in die Zytoplasmamembran sowie die Produktion von NO mit vasodilatatorischem Effekt [13], [44], [45]. GLUT4-Transporter sind entscheidend für die Glucoseaufnahme in die Zellen von Fettgewebe, Skelett- und Herzmuskel. In Zellen des Fettgewebes hemmt Insulin die Lipolyse und damit die Freisetzung freier Fettsäuren. Desweiteren wird z. B. die Glykogensynthese in der Leber als Antwort auf eine Insulinbindung aktiviert und die Freisetzung von Glucose gehemmt, auch *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) wird vermindert produziert [16].

Eine Insulinresistenz liegt vor, sobald die peripheren Zellen nicht mehr oder nicht im normalen Maß auf Insulin ansprechen, sodass die beschriebenen Insulinwirkungen herabgesetzt sind. In der Folge kommt es vor allem zur mangelnden Utilisierung von Glucose mit einer Ansammlung von Glucose im Plasma, einer Hyperglykämie, und zum Risiko der Ausbildung eines DM2 [44]. Durch den fehlenden Effekt auf die Dilatation von Gefäßwänden wird ein Hypertonus begünstigt. Zudem werden

vermehrt freie Fettsäuren ins Blut freigesetzt, die wiederum eine Insulinresistenz fördern. Zusammengenommen beschreiben diese Folgeerscheinungen pathophysiologische Grundlagen eines MetS, womit das Vorliegen einer Insulinresistenz neben der Adipositas als entscheidender ätiologischer Faktor bewertet wird [16].

Für die Entstehung der Insulinresistenz scheinen vor allem die freien Fettsäuren von entscheidender Bedeutung [16]. Daneben wirken sich erhöhter oxidativer Stress im Gewebe und die Sekretion weiterer Adipokine negativ auf die Insulinsensitivität aus. Oxidativer Stress entsteht als Folge einer Funktionsstörung in den Mitochondrien, die zu einer Überproduktion von Sauerstoffradikalen (*Reactive Oxygen Species* = ROS) führt [44]. Adipokine sind vom Fettgewebe freigesetzte Botenstoffe, zu denen unter anderen Leptin, Resistin und Adiponektin zählen, sowie die Zytokine Interleukin 6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor- α (TNF α). Davon ist Adiponektin ein Insulin-verstärkendes Adipokin, welches invers bei Zunahme des Fettgewebes freigesetzt wird. Hingegen wird bei Resistin eine verstärkte Sekretion mit der Entwicklung einer Insulinresistenz in Zusammenhang gebracht. TNF α , IL-6 und weitere proinflammatorische Zytokine verursachen den Zustand einer chronischen Subinflammation [23], [46] und tragen zur Insulinresistenz bei, indem sie mit dem Insulin-Signal interferieren [16], [44].

In selteneren Fällen können Mutationen des Insulin-Rezeptor-Gens als genetische Ursache für eine Insulinresistenz beschrieben werden [44].

1.4 Leptinresistenz

Das „Sättigungshormon“ Leptin wird überwiegend aus den Zellen des weißen Fettgewebes sezerniert. Bei der Zunahme von Fettgewebe oder einer Steigerung der Nahrungsaufnahme steigt auch die Leptin-Produktion an [46]. Codiert wird Leptin über das *lep*-Gen. Beim Ausfall des Gens kommt es zu massivem Übergewicht, was in den *lep*-defizitären ob/ob-Mäusen sowie in einigen betroffenen Menschen beobachtet werden konnte [47]. Dies rührt daher, dass Leptin die Nahrungsaufnahme und den Energieverbrauch reguliert. Über hypothalamische

Wirkungen an Leptinrezeptoren induziert es Sättigung, die Nahrungsaufnahme wird folglich reduziert und der Energieverbrauch gesteigert [48].

Da trotz massiv vermehrtem Fettgewebe bei Adipositas mit resultierenden hohen Spiegeln von Leptin (Leptinämie), die Leptinwirkung in übergewichtigen Individuen nachlässt, wird von einer sogenannten Leptinresistenz ausgegangen. Gegenstand der Diskussion und Forschung bleibt die genaue Ätiologie einer solchen Resistenz [47]. Anhand von C57B1/6J-Mäusen konnte gezeigt werden, dass eine Fütterung mit einer stark fetthaltigen Diät über 19 Wochen eine Leptinresistenz induzierte, eine exogene Leptinzufuhr zeigte in diesen Tieren keine Wirkung mehr [49]. Damit ist eine Leptinresistenz ein entscheidender Faktor für die Aufrechterhaltung einer Adipositas. Es gibt weiterhin Hinweise, dass eine Leptinresistenz bzw. chronische Leptinämie über verschiedene Mechanismen zu einem Hypertonus, einem gestörten Glucosestoffwechsel und einem Atherosklerose begünstigenden Zustand führt, also die Kardinalsymptome des MetS fördert [18].

1.5 Das RAAS und seine metabolische Relevanz

Das RAAS (s. Abbildung 1) ist ein System, welches im ursprünglichen Verständnis vor allem der Regulation von Blutdruck, Elektrolyt- und Wasserhaushalt dient [50]. In jüngerer Zeit wird dem System aber immer häufiger auch eine Rolle in der Entstehung und Behandlung von MetS und DMT2 zugeschrieben [51]–[54].

Aus dem Prohormon Angiotensinogen (AOPEN) entsteht mithilfe des Enzyms Renin Angiotensin I. Mittels des *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) wird Angiotensin I zu Angiotensin II (Ang II) gespalten [50]. Ang II bindet dann als Ligand an die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren Angiotensin₁- und Angiotensin₂-Rezeptor (AT₁R und AT₂R) [55]. Über den AT₁R vermittelt Ang II vor allem eine Konstriktion von Gefäßen und eine vermehrte Ausschüttung des Mineralocorticoids Aldosteron in der Nebennierenrinde [50]. Aldosteron verursacht eine Retention von Natrium und Wasser in der Niere, sodass das im Körper verbleibende Flüssigkeitsvolumen ansteigt. In der Konsequenz kommt es also zu einer Steigerung des systemischen Blutdrucks [56]. Im Gegensatz zum Menschen, findet man in Nagern die zwei

Unterformen von AT₁R, die AT_{1A}-Rezeptoren und die AT_{1B}-Rezeptoren, mit gleicher Affinität zu Ang II aber unterschiedlicher Expression in verschiedenen Geweben [55]. Den AT₂R wird zugeschrieben, dass eine Bindung von Ang II zu gegenteiligen Effekten führt. Da sie im Vergleich zu AT₁R aber weniger stark exprimiert werden, überwiegen die Wirkungen von Ang II über AT₁R [50], [53].

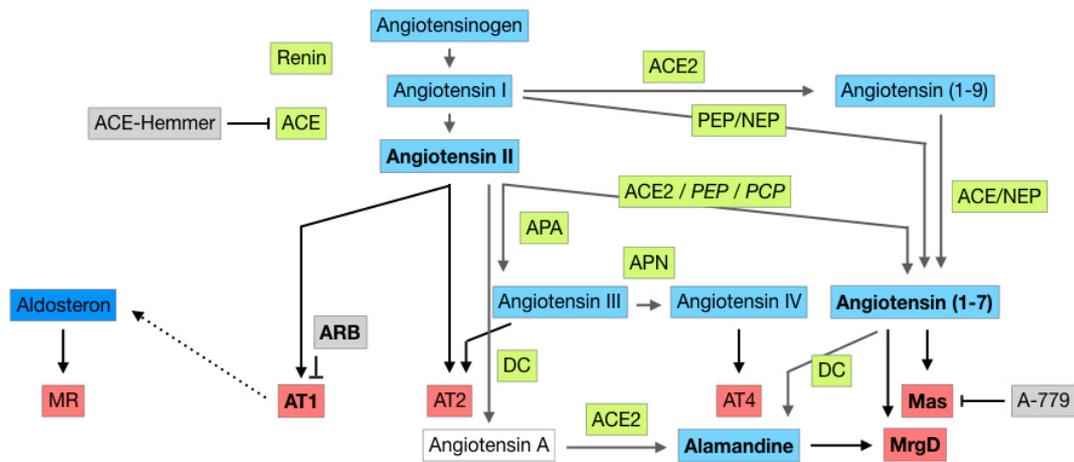


Abbildung 1: Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Abb. erstellt nach *Huber et al. 2017, te Riet u. a. 2015* und *R. A. S. Santos u. a. 2013.*, schwarze Pfeile beschreiben eine Ligand-Rezeptor-Bindung, graue Pfeile den Syntheseweg der nachfolgenden Komponente. Durch T wird eine pharmakologische Blockade dargestellt. Angiotensin₁-, Angiotensin₂- und Angiotensin₄-Rezeptor (AT₁, AT₂ und AT₄); Mineralokortikoid-Rezeptor (MR); Mas-Rezeptor (Mas); MrgD-Rezeptor (MrgD); Aminopeptidase A (APA); Aminopeptidase N (APN); *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE2); Prolylendopeptidase (PEP); Prolylcarboxypeptidase (PCP); Neutrale Endopeptidase (NEP); Decarboxylase (DC); Angiotensin₁-Rezeptorblocker (ARB)

Neben der ACE/AngII/AT₁R-Achse wurden in den letzten Jahren weitere Spaltprodukte, Rezeptoren und Signalwege entdeckt, die dem RAAS angehören (s. Abbildung 1). So entstehen beispielsweise aus Ang II die Spaltprodukte Angiotensin III und Angiotensin IV [56]. Ein weiteres Spaltprodukt, das mittels *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE2) gebildet wird, ist Angiotensin (1-7) (Ang(1-7)). Es bindet an den Rezeptor Mas und scheint gegenregulatorische Eigenschaften zur

ACE/Ang II/AT₁R-Achse zu besitzen [57]–[60]. Diese kürzlich immer mehr in den Fokus der Forschung rückende Achse des RAAS soll auch Schwerpunkt dieser Arbeit darstellen und wird im Verlauf genauer beschrieben.

Eine weitere Achse des RAAS stellt Angiotensin A/Alamandine/MrgD dar [59], [61]–[64]. Ala¹-Ang(1-7), auch als Alamandine bekannt, eine decarboxylierte Form von Ang(1-7), gilt als Ligand für den MrgD-Rezeptor [65], [66]. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass auch Ang(1-7) neben seinem Rezeptor Mas als Ligand am MrgD-Rezeptor funktioniert [67]. Im Vergleich zu Mas welcher im Hinblick auf seine Rezeptor-Eigenschaften bereits umfassend untersucht wurde, ist MrgD nicht vollständig erforscht. Er zählt ebenfalls zur Gruppe der *Mas-related* G-Proteingekoppelten Rezeptoren [68]. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass ein genetisches Ausschalten des MrgD-Rezeptors in 12 Wochen alten Mäusen Kardiomyopathie induzierte [69].

Entscheidend für seine Vielzahl an Einflüssen ist, dass das RAAS sowohl systemisch vorliegt, die entsprechenden Komponenten also im Plasma zu finden sind, als auch lokal. Lokal bedeutet, dass sich das RAAS auch in einzelnen Geweben wiederfindet, wo es entweder vor Ort sezerniert oder aus dem Plasma aufgenommen wird [56], [70]. Die jeweils lokale Wirkung des aktivierten RAAS und damit vor allem von Ang II hängt von dem entsprechenden Gewebe ab. So finden sich beispielsweise im Fettgewebe alle Komponenten des RAAS und auch eine entscheidende Produktion von systemisch wirksamem AOPEN (s. Abbildung 2) [51], [71], dessen eigentlicher Syntheseort für seine systemische Wirkung die Leber ist [50]. Auch Aldosteron kann neben der Produktion in der Nebennierenrinde vom Fettgewebe sezerniert werden [72] (s. Abbildung 2). Eine Zunahme an Fettgewebe bei Adipositas aktiviert also das RAAS. Besonders deutlich ist dieser Effekt im viszeralen Fettgewebe, sodass vor allem die stammbetonte Adipositas eine RAAS-Aktivierung bedingt [73]. Gleichzeitig konnte beobachtet werden, dass Ang II AT₁R-abhängig die Lipolyse in subkutanem und viszeralem Fettgewebe antreibt [74]. Erhöhte Spiegel von AOPEN, Aldosteron und Ang II bei übergewichtigen Nagern und Menschen, weisen darauf hin, dass das RAAS Anteil an der Verbindung von starkem Übergewicht und Steigerung des Blutdrucks hat, wie man sie auch beim MetS findet [51], [75], [76]. Eine Beteiligung des RAAS an der Entwicklung einer

mikrovaskulären Dysfunktion, unterstützt diese Vermutung. Durch die lokale Ang II-Wirkung über AT₁R wird ein kontrahierter Zustand der Gefäßmuskulatur wesentlich gefördert. Über AT₂R zeigt das Hormon konträre Wirkung [72].

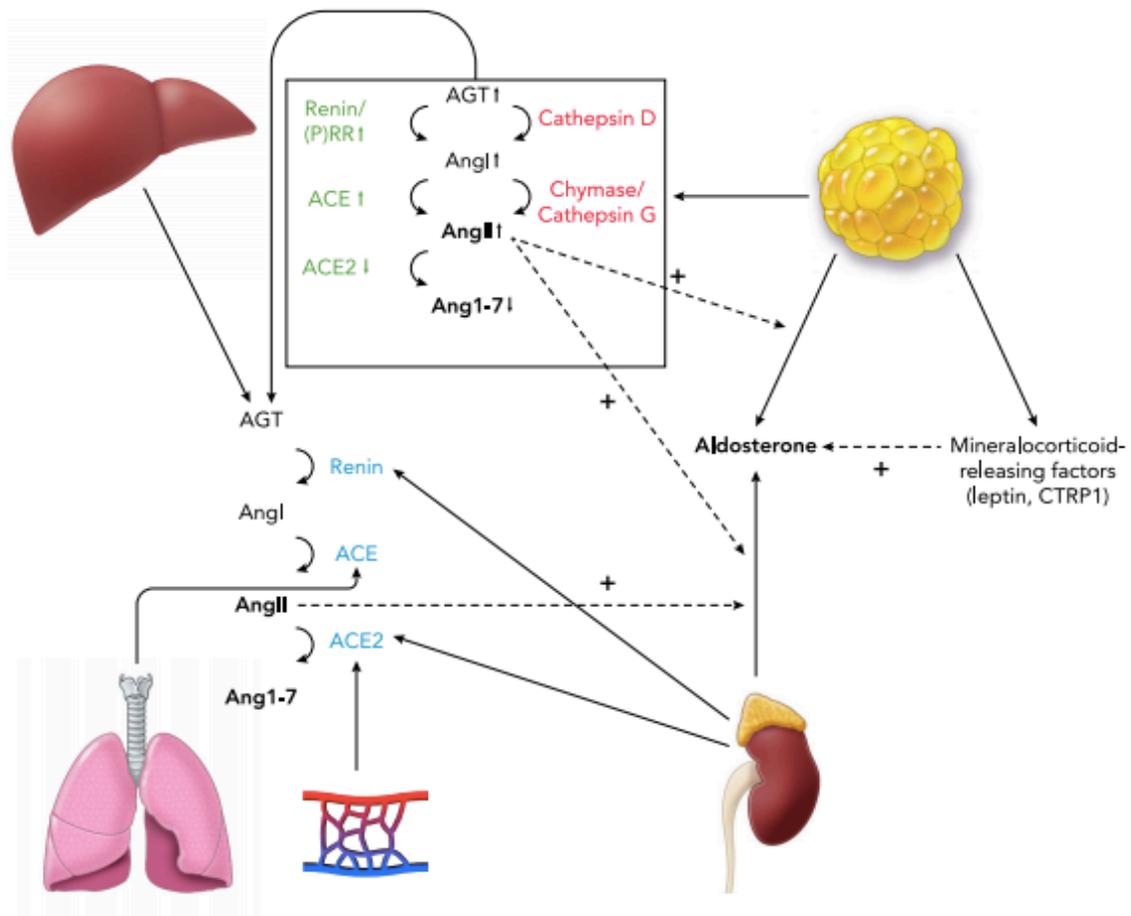


Abbildung 2: Interaktion des Fettgewebs-RAAS und des systemischen RAAS

Abb. aus Schütten u. a. 2017. Extrazelluläre Enzyme, welche dem Fettgewebe entstammen, sind grün markiert, intrazelluläre Enzyme, die in der Entstehung von Ang I und Ang II beteiligt sind, rot. Die in blauer Schrift dargestellten RAAS-Enzyme, sind die des systemischen RAAS. AGT = Angiotensin, (P)RR = (*pro*)renin receptor, CTRP1 = *complement-C1q TNF-related protein 1*. Das RAAS des Fettgewebes interagiert mit dem systemischen RAAS.

Zusätzlich begünstigt Ang II über AT₁R einen inflammatorischen Status, oxidativen Stress und eine Fibrosierung von Gefäßwänden und damit eine Schädigung gesunder Gewebe, besonders von Gefäßen [72]. Auf diesem Wege wird das aktivierte RAAS zum Risikofaktor für sowohl kardiovaskuläre als auch renale

Erkrankungen. Es konnte gezeigt werden, dass es an der Entstehung kardiovaskulärer Komplikationen als Folge eines Diabetes mellitus beteiligt ist [51], [77].

Auch in Gehirn, Herz, Niere, Pankreas und Skelettmuskel findet sich ein lokales RAAS-System. Diese Systeme sind neben dem systemischen RAAS und demjenigen in Gefäßwand und -endothel nicht nur an der Entwicklung von Hypertonus und kardiovaskulärer Pathologien, sondern auch an der Regulation von Nahrungsaufnahme und Gewicht und der Entstehung eines DMT2 beteiligt [62], [70], [78]. Entscheidend für die Förderung eines DMT2 durch ein aktiviertes RAAS ist die Beeinflussung der Insulin-Sekretion in den β -Zellen des Pankreas und die Beeinträchtigung der Insulin-Sensitivität verschiedener Zellen durch die Wirkung von Ang II [78]–[81]. Zunächst wirkt Ang II hemmend auf die mikrovaskuläre Durchblutung von Skelettmuskel und schränkt damit die Insulin-Wirkung vor Ort ein [82], [83]. Es kann des Weiteren mit der intrazellulären Insulin-Signalübertragung interferieren, wobei es die Aktivität des Signalweges PI3K/ Akt vermindert [84], [85]. Hinzu kommt eine Verstärkung der Aktivität des Signalwegs über die Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK), welcher zur Inhibierung der Expression von Insulin-Rezeptoren führt [45]. Auch über eine Ang II-induzierte Erhöhung von oxidativem Stress im jeweiligen Gewebe wird die Insulin-Signalübertragung eingeschränkt [78], [79], [86]. Daneben gibt es Hinweise, dass ein hohes Ang II zu einer akuten sowie langfristigen Insuffizienz der β -Zellen des Pankreas führt, indem es lokal den oxidativen Stress steigert und außerdem die Proliferation der β -Zellen hemmt und deren Apoptose fördert [87], [88]. In einer Studie mit übergewichtigen Zucker Ratten mit Diabetes konnte eine Verbesserung der Zellmorphologie der Langerhans-Inseln des Pankreas durch medikamentöse RAAS-Blockade beschrieben werden, welche umgekehrt auf eine Verstärkung lokaler Zellschädigung durch eine RAAS-Aktivierung schlussfolgern lässt [80]. Auch eine verstärkte Produktion von Glucocorticoiden in der Nebennierenrinde getriggert durch Ang II wird als Ursache für eine Verschlechterung des Glucosemetabolismus bei Adipositas diskutiert [89]. Eine Blockade des Systems durch ACE-Hemmer oder ARB schützt bei dauerhafter Gabe vor der Ausbildung eines DMT2 [32], [78], [79].

1.6 AT₁-Blocker und Gewichtsregulation

Die ARB gehören zu den 5 Hauptgruppen von Medikamenten in der Therapie des arteriellen Hypertonus. Neben den ACE-Inhibitoren finden sie häufig Anwendung als Mono- oder Kombinationstherapie zum medikamentösen Therapieeinstieg [31].

In experimentellen Studien waren die ARB Telmisartan (TEL), Candesartan und Olmesartan in der Lage eine Zunahme an Körpergewicht zu verhindern, wenn sie in entsprechender Indikation präventiv verabreicht wurden [35], [90]–[92]. TEL schützte in normotensiven Ratten vor der Ausbildung von Übergewicht bei Fütterung mit einer *Cafeteria*-Diät [34], [93]. In einer Studie von *Müller-Fielitz et al. 2014* konnte zudem anhand eines Ratten-Modells gezeigt werden, dass auch die Gabe von hohen Dosen TEL in bereits übergewichtigen und leptin- und insulinresistenten Tieren gewichts-reduzierende Effekte zeigte und außerdem zu einer Wiederherstellung der Leptin-sensitivität führte. Der Gewichtsverlust unter ARB-Gabe trat nur nach entsprechend hohen Dosierungen auf und war von der Reduktion des Blutdrucks unabhängig [32], [94], [95]. Eine signifikante Abnahme des Taillenumfangs erzielte auch eine Irbesartan-Therapie über 9 Monate in Patienten mit MetS und erbrachte damit Hinweise für ein vergleichbares Wirkspektrum im Menschen [96]. Außerdem konnte beobachtet werden, dass ARB sich positiv auf die Sekretion von Insulin und die Insulinsensitivität auswirken und bei langfristiger Gabe vor der Ausbildung von Insulinresistenz und DMT2 schützen [78]. Auch eine Fettgewebshypertrophie kann durch ARB-Behandlung verhindert werden [71].

Als Ursache der Auswirkungen einer AT₁R-Blockade in sowohl Nagern als auch Menschen kommen verschiedene Alternativen in Frage.

In Studien der AG Raasch zeigten sich Hinweise auf einen Leptin-abhängigen Mechanismus, da eine Wirkung in übergewichtigen Zucker-Ratten mit Defekt im Leptin-Gen durch Candesartan nicht ausgelöst werden konnte [94]. Außerdem konnte in Ratten nachgewiesen werden, dass eine Therapie mit ARB die Leptinsensitivität trotz gleichzeitiger Fütterung der Tiere mit hochkalorischer *Cafeteria*-Diät aufrecht erhielt [91]. Diese Beobachtungen untermauernd wurde kürzlich durch die AG Raasch an Mäusen gezeigt, dass eine TEL-Behandlung die

Leptin-Penetration über die Bluthirn-Schranke trotz einer *High-Fat-Diet* (HFD) aufrechterhält und eine Leptinresistenz verhindert. Es konnte jedoch keine direkte Wirkung von Ang II oder TEL auf den Leptin-Transport über die Bluthirnschranke nachgewiesen werden, sodass dieser Effekt als Konsequenz und nicht als Ursache der Gewichtsabnahme interpretiert wurde [33].

Auch die Möglichkeit, dass eine Reduktion von Stressreaktionen, im Sinne einer Abschwächung der Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Achse mit verminderter Corticosteron-Ausschüttung, durch ARB eine Normalisierung der hyperglykämischen Stoffwechsellage bewirkt, konnte durch die AG Raasch bereits gezeigt werden [95]. Dass Ang II in Nagern bei Glucose-Belastung zu einer vermehrten Ausschüttung von Corticosteron in der Nebenniere führt, unterstreicht diese Hypothese zusätzlich [89]. Zwar konnte akut die stressbedingte gesteigerte Aufnahme von hochkalorischer, wohlschmeckender Schoko-/Keksriegel in TEL-behandelten Ratten beobachtet werden, ließ sich dieser Akuteffekt bezüglich stressinduzierter Mehraufnahme von hochkalorischer Diät in Langzeitstudien nicht mehr bestätigen [97], womit dieser Effekt eine eher untergeordnete Rolle in diesem Kontext einzunehmen scheint.

Allerdings muss generell ein vom ZNS ausgehender Effekt mit Einfluss auf den ARB-bedingten Schutz vor Übergewicht nach weiteren Studien der AG Raasch als zumindest teilweise ursächlich betrachtet werden. Dies zeigte sich anhand von transgenen *Sprague Dawley*(SD)-Ratten mit reduzierter Expression von AOPEN im Gehirn und ebenso in Mäusen, in welchen unter TEL-Therapie und HFD ein antiinflammatorischer Effekt im Hypothalamus gegenüber einem reinen HFD-Regime beobachtet werden konnte [93], [98].

Weiterhin wurde auch ein Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor γ (PPAR γ)-abhängiger Mechanismus diskutiert, ein zytosolischer Steroidrezeptor und Transkriptionsfaktor. PPAR γ ist beteiligt an der Adipozyten-Differenzierung sowie Glucose-Homöostase und spielt außerdem eine Rolle in der Regulierung von Immunantworten. Er ist damit potentiell von Nutzen in der pharmakologischen Therapie nicht nur von DMT2 sondern auch der Adipositas-bedingten generalisierten Entzündung [99]. Da auch TEL als selektiver Modulator von PPAR γ

beschrieben wurde und außerdem in braunem und weißem Fettgewebe übergewichtiger Mäuse zu einer erhöhten Expression von pan-PPAR-Genen und darüber zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität führte, schien auch in diesem Kontext eine PPAR γ -induzierte Wirkung logisch [92], [100]. Da jedoch auch ARB, welche PPAR γ nicht beeinflussen können, die Insulinsensitivität begünstigen, ist ein solcher Mechanismus fraglich [101].

Des Weiteren gibt es Hinweise darauf, dass der gesuchte Mechanismus zumindest teilweise unabhängig vom AT $_1$ R verläuft, da auch in AT $_1$ R-defizitären Mäusen die Behandlung mit TEL eine gesteigerte Zunahme von Körpergewicht durch eine hochkalorische Diät verhindern konnte [102]. Verstärkt wird die Annahme eines solchen Mechanismus auch dadurch, dass Ang II selbst eine Reduktion von Körpergewicht bewirken kann [103]. Diese beruht neben der Aktivierung des Sympathikus mit Thermogenese und Lipolyse im Fettgewebe [74] auch auf einer verminderten Nahrungsaufnahme bei reduzierter Expression der Neuropeptide Neuropeptid Y (NPY) und Orexin im Hypothalamus und einer vermehrten Leptin-Sekretion [104]–[106]. Außerdem bewirkt Ang II über verschiedene Wege eine Muskelatrophie, welche ebenfalls zu Gewichtsverlust beiträgt [107]–[109]. Somit beobachten wir einen analogen Wirkeffekt von Rezeptor-Ligand und Rezeptor-Inhibitor. Damit rücken der oben beschriebene Ang II-Metabolit Ang(1-7) und die Ang(1-7)/ACE2/Mas-Achse in den Interessenfokus – bei einer Akkumulation von Ang II unter einer AT $_1$ R-Blockade kommt es, wie im Weiteren näher erläutert, in der Folge zum Anstieg der Ang(1-7)-Konzentration. Der „neue“ Arm des RAAS, mit konträren Wirkungen zur altbekannten ACE/AngII/AT $_1$ -Rezeptor-Achse, scheint zudem maßgeblich involviert zu sein in der Pathophysiologie kardiovaskulärer, renaler und metabolischer Erkrankungen [57]. Es handelt sich bei Ang(1-7) um ein Heptapeptid, welches vor allem an den G-Protein-gekoppelten Rezeptor Mas bindet [64]. Neben seinen zu Ang II gegensätzlichen Wirkeffekten, wird auch eine direkte antagonistische Funktion von Ang(1-7) gegen Ang II vermutet, die genaue Ebene dieser Interaktion bleibt allerdings weiterhin unsicher, diskutiert wird die Möglichkeit von Ang(1-7) mit dem AT $_1$ R zu interagieren [57], [110].

Ang(1-7) zeigte in verschiedenen Studien zunächst vor allem eine kardioprotektive Wirkung [59], [60]. In transgenen Ratten (TGR(A1-7)), die durch ca. 4-5-fach

erhöhte Plasmakonzentrationen von Ang(1-7) charakterisiert sind, konnte eine gesteigerte Kontraktilität des Herzens, eine Resistenz gegenüber der Entwicklung einer kardialen Hypertrophie und eine verbesserte postischämische Herzfunktion beobachtet werden [111]. Anders als für Ang II wurden für Ang(1-7) vasodilatorische und antioxidative Eigenschaften beschrieben, welche vor der Entwicklung eines arteriellen Hypertonus schützen [58], [59] (s. Abbildung 3).

Neben kardiovaskulären Vorteilen zeigten die TGR(A1-7) Ratten in weiteren Studien zudem eine Verbesserung metabolischer Funktionen. Ein höherer Energieumsatz, eine erhaltene Leptinsensitivität unter einer hochkalorischen Diät, eine gesteigerte Lipolyse, eine reduzierte Fettmasse und verbesserte Lipid-Spiegel im Plasma, waren Folge der hohen Ang(1-7)-Spiegel [34], [112]. Außerdem bevorzugten ebensolche Ratten das gewöhnliche „chow“-Futter einer fettreichen Diät, bestehend aus verschiedenen Schokoladenriegeln [34]. Durch die orale Gabe oder die Überexpression von Ang(1-7) konnte auch die Entwicklung einer Diätbedingten Adipositas eingeschränkt werden [34], [113], [114]. In weiteren Versuchen konnte gezeigt werden, dass Ang(1-7) das weiße Fettgewebe vor der Ausbildung eines proinflammatorischen Status schützt [115] und die Insulinsensitivität sowie die Glucose-Homöostase in sowohl Ratten als auch Mäusen verbessert [112], [116]–[120]. Es konnte nachgewiesen werden, dass Ang(1-7) die Phosphorylierung von PIK3 und Akt induziert und damit den Signalweg aktiviert [117], [121], [122], welcher wiederum die Glucose-Aufnahme in die Zielzellen und damit die Insulinsensitivität steigert. Neben der Steigerung der Glucose-Aufnahme schützt Ang(1-7) vor oxidativem Stress, welcher die Insulinresistenz fördert [118] (s. Abbildung 3). Nach experimentellen Studien in Zellkultur, ACE2-knockout(ko)-Mäusen und db/db-Mäusen (Diabetes-Mäuse) bestehen Hinweise, wonach die ACE2/Ang(1-7)/Mas-Achse Überleben und Funktion von β -Zellen des Pankreas fördert [79], [81]. Ein Mas-Rezeptor-Defizit in FVB/N-Mäusen bewirkte in vorausgegangenen Studien einen Zustand mit Dyslipidämie, reduzierter Insulinsensitivität mit Hyperglykämie und Hyperinsulinämie, Hyperleptinämie und eine verringerte Adiponektin-Ausschüttung und damit einen Zustand ähnlich dem MetS [119], [123]. Des Weiteren zeigten Mas ko-Mäuse in weiteren Studien eine gestörte

Blutdruckregulation sowie reduzierten Blutfluss bei erhöhtem vaskulärem Widerstand [124]–[126].

Ang(1-7) ist unter einer AT₁R-Inhibition erhöht [127], [128]. Durch eine AT₁R-Blockade kommt es zu einem Anstieg der RAAS-Komponenten Angiotensin I und Ang II über *feedback*-Mechanismen, beide sind Ausgangssubstrate für ACE, ACE2 und die Neutralendopeptidase, was unter anderem zu einer vermehrten Umsetzung der Substrate zu Ang(1-7) führt [57], [129]. Diese vermehrte Ang(1-7)-Produktion durch den Einfluss von ARB könnte also der wesentliche Effektor metabolischer Wirkungen einer AT₁R-Blockade durch TEL darstellen. Die AG Raasch konnte kürzlich bereits herausstellen, dass die ACE2/Ang(1-7)/Mas-Achse am TEL bedingten Schutz vor Diät-induzierter Adipositas zumindest anteilig beteiligt sein muss, da in *Cafeteria*-Diät-gefütterten SD-Ratten der TEL-getriggerte Gewichtsverlust durch den Mas Antagonisten A-779 verhindert werden konnte [34]. Ebenso wie die ARB führte auch eine Behandlung mit dem ACE-Hemmer Captopril zu einem Anstieg von Ang(1-7) im Plasma, was möglicherweise durch eine Inhibition des Abbaus von Ang(1-7) durch ACE begründet ist [130]–[132]. Der durch Captopril bewirkte Gewichtsverlust in Ratten konnte ebenfalls durch die Gabe von A-779 aufgehoben werden [132]. Diese Beobachtung stützt die Bedeutung von Ang(1-7) für gewichtsreduzierende Wirkungen unter RAAS-Blockade. Die gewichtsreduzierenden Wirkungen sind allerdings durch ACE-Hemmer deutlich geringer ausgeprägt als durch ARB [95] und in Behandlung schlanker Ratten zeigte sich durch Gabe verschiedener ACE-Inhibitoren keinerlei Auswirkung auf das Körpergewicht [130], [133].

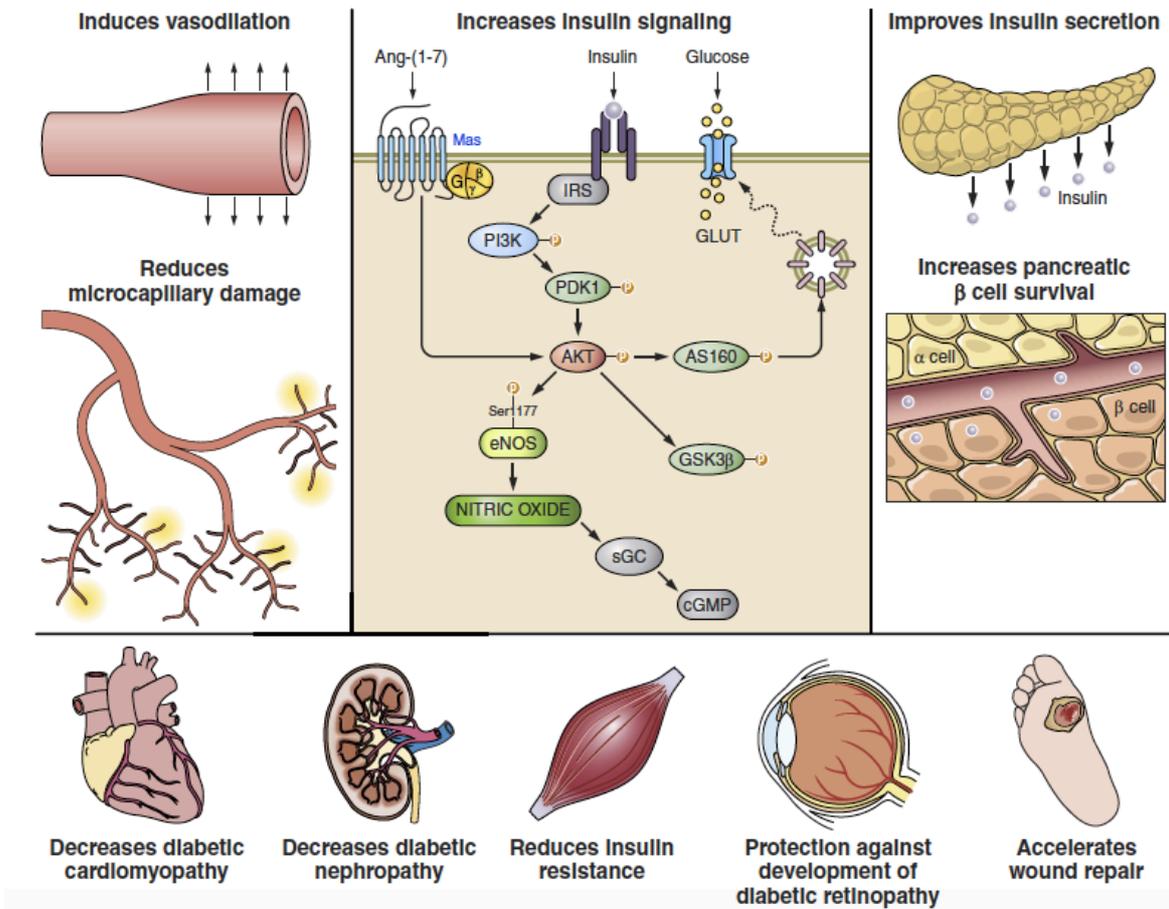


Abbildung 3: Protektive Effekte durch Ang(1-7) hinsichtlich Diabetes mellitus

Abb. aus *R.A.S. Santos et. al. 2018*. Ang(1-7) verbessert die Insulinsensitivität über die Phosphorylierung von Akt, fördert über denselben Signalweg die Vasodilatation durch NO-Freisetzung und wirkt außerdem antiinflammatorisch und antioxidativ. Die klinischen Konsequenzen sind im unteren Teil der Abb. dargestellt. [54]

1.7 Motivation und Fragestellung

Im Rahmen der pharmakologischen Behandlung eines MetS fallen ARB als besonders günstig für die positive Beeinflussung des gesamten Syndroms auf. Auch die Ang(1-7)/Mas-Achse ist als potentieller Ausgangspunkt für die Entwicklung neuer Medikamente in den Fokus gerückt [134]. Damit kommt dem RAAS System in diesem Kontext große Bedeutung zu.

Fraglich bleibt weiterhin, welcher Mechanismus hinter dem Einfluss einer AT₁R-Blockade auf Körpergewicht und Stoffwechsel steckt und ob dieser nicht durch die

metabolisch günstigen Auswirkungen von Ang(1-7) begründet ist. Mit dieser Frage soll sich auch diese Arbeit auseinandersetzen.

FVB/N-Mäuse mit ubiquitärem Mas ko sollen mit einer kommerziellen HFD oder einer entsprechenden Kontrolldiät gefüttert werden. Einige Tiere, welche die fetthaltige Diät erhalten, werden zusätzlich mit dem ARB TEL behandelt. Anhand dieses Modells soll folgendes gezeigt werden:

1. Mas ko-Mäuse entwickeln aufgrund des Mas-Rezeptor-Defizits im Vergleich zu Wildtyp(wt)-Kontrollen ein stärkeres Übergewicht sowie begleitende metabolische Dysfunktionen, wenn sie mit der stark fetthaltigen Diät gefüttert werden. Wir erwarten die Ausbildung einer Insulin- und Leptinresistenz, einer Hyperglykämie und Dyslipidämie sowie einer stammbetonten Fettverteilung bei insgesamt gesteigerter Fettmasse mit entsprechend veränderter Adipokin-Sekretion.
2. Aufgrund der vorausgegangenen Erkenntnisse und unter der Hypothese eines ACE2/Ang(1-7)/Mas-abhängigen bedingten Mechanismus der TEL-induzierter Gewichtsreduktion erwarten wir, dass eine Behandlung mit TEL in Mas ko-Mäusen keinen oder einen nur geringfügigen Einfluss zeigt, in wt-Kontrollen jedoch die HFD-induzierten Veränderungen auf das Level der Kontrolltiere normalisiert sind.

2 Material und Methoden

Die Auflistung über verwendete Materialien ist im Anhang zu finden.

2.1 Versuchstiere und Haltung

In den nachfolgend beschriebenen Versuchen wurden männliche Mäuse des Stammes FVB/N verwendet. Zur Etablierung der Diäten wurden FVB/N-wt-Mäuse des Unternehmens Charles River (Sulzberg, Deutschland) genutzt. Für die eigentliche Versuchsreihe wurden wt- und transgene Mäuse mit einem ubiquitären ko für den Rezeptor Mas durch Prof. Dr. M. Bader im Max Delbrück Centrum für Molekulare Medizin (MDC) in Berlin gezüchtet und für die Behandlung und Untersuchung nach Lübeck versendet.

Die Mäuse wurden den Großteil der Zeit in Gruppen von 3-5 Tieren in *Typ II long* Käfigen in klimatisierten Tierhaltungsräumen gehalten. Eine Auseinzelnung erfolgte für einzelne Versuche in ebensolche Käfige bzw. Messkäfige des *PhenoMaster Systems* (TSE, Deutschland). Die Haltung erfolgte bei Raumtemperatur mit einem 12h/12h Hell/Dunkel-Zyklus (06.00-18.00 Uhr/18.00-06.00 Uhr Sommerzeit bzw. 05.00-17.00 Uhr/17.00-05.00 Uhr Winterzeit). Die Mäuse hatten jederzeit freien Zugang zu Leitungswasser.

Haltung und Experimente erfolgten in Übereinstimmung mit den NIH (National Institutes for Health) Richtlinien für die Haltung und Nutzung von Versuchstieren (*Guide for the care and use of laboratory animals*). Der Durchführung wurde durch die Ethik-Kommision für Tierversuche des Ministeriums für Energiewende, Landwirtschaft, Umwelt, Natur und Digitalisierung des Bundeslandes Schleswig-Holstein zugestimmt. Unter dem Aktenzeichen 68-5/12 wurden alle im Verlauf beschriebenen Tierversuche genehmigt. Die Ergebnisse aller Tierversuche werden im Sinne der ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) Richtlinien dokumentiert.

Tabelle 3: Tierversuchsantrag und Genehmigungsdatum

Tierversuchsantrag	Genehmigungsdatum
68-5/12	30. Juli 2012, verlängert am 13. Februar 2015

2.2 Diäten und Gewichtsentwicklung von FVB/N-wt-Mäusen bei chow-Diät oder HFD

Vor Beginn der eigentlichen Versuchsreihe erfolgte die Untersuchung der Gewichtsentwicklung von FVB/N-Mäusen auf einer kommerziellen HFD. Mit dieser Untersuchung sollte festgestellt werden, ob die Mäuse unter einem Fütterungsregime mit der HFD im Vergleich zu ebensolchen Mäusen unter einer Kontroll-Diät (im Folgenden als chow bezeichnet), mit geringem Fett- und Kohlenhydratanteil, signifikant mehr an Gewicht zunehmen und die Diäten damit für Folgeversuche geeignet sind. Dies war insofern notwendig, als dass in allen vorausgegangenen tierexperimentellen Studien der AG Raasch mit Ratten statt Mäusen und mit einer *Cafeteria*-Diät (zusammengesetzt aus unterschiedlichen Schokolade-Keks-Riegeln plus chow-Futter) gearbeitet wurde.

Es wurden FVB/N- wt-Mäuse von Charles River verwendet, die bei Ankunft in der Gemeinsamen Tierhaltung der Universität zu Lübeck (GTH) 25 ± 0.3 g ($n = 22$) wogen und 6 Wochen alt waren. Diese wurden randomisiert auf zwei Versuchsgruppen (die Versuchsgruppen wurden entsprechend der Diäten als chow und HFD bezeichnet) verteilt und nach einer Eingewöhnungszeit von 10 Tagen über 4 Monate mit einer der oben genannten Diäten (s. Tabelle 4) gefüttert. In der Eingewöhnungszeit erhielten die Mäuse das Haltungsfutter (= chow) der GTH. Zum jeweiligen Futter und Leitungswasser hatten die Tiere zu jeder Zeit freien Zugang. Das Körpergewicht wurde im Anschluss an die Eingewöhnung einmal pro Woche bestimmt und dokumentiert.

Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Diäten mit Nährstoff- und Energiegehalt

Die Versuchsgruppen für die Etablierung der Diäten wurden nach der gefütterten Diät benannt. HFD: High-Fat-Diät, chow: Kontroll-Diät

Diät	Bezeichnung	Fett	Kohlehydrate	umsetzbare Energie (ME)	Hersteller
chow	ssniff® EF D12450B * mod. LS <i>Experimental diet for rats and mice, low fat and sugar content (soybean oil) / DIO series – control</i>	5,1 %	48,3 %	15,1 kcal/kg (13% durch Fett)	ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest
HFD	ssniff® EF acc. D12492 (I) mod. <i>Experimental diet for rats and mice, very high fat content (LARD) / DIO series</i>	34,6 %	9,5 %	21,6 kcal/kg (60% durch Fett)	ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest

2.3 Versuchsprotokoll: Auswirkung eines ubiquitären Mas ko in FVB/N-Mäusen auf metabolische Parameter bei HFD und TEL-Behandlung

Der zweite Teil der Studie diente der Untersuchung der Auswirkungen einer Fütterung mit einer hochkalorischen Diät sowie einer parallel durchgeführten Behandlung mit TEL in Mäusen mit einem ubiquitären Mas ko.

Hierzu wurden FVB/N-wt- und Mas ko-Mäuse randomisiert jeweils in 3 Versuchsgruppen aufgeteilt und über einen Zeitraum von 3 Monaten mit einer der in Protokoll 1 beschriebenen Diäten (s. Tabelle 4) gefüttert. Eine der Gruppen unter dem Futterregime HFD erhielt zudem eine Behandlung mit TEL (s. Tabelle 5).

Tabelle 5: Übersicht über die Versuchsgruppen

Bezeichnung, Diät und Behandlung. (wt: Wildtyp-FVB/N-Mäuse; Mas ko: Mas-Knockout-FVB/N-Mäuse; chow: Control-Diät; HFD: High Fat Diät; V: Vehikel; Tel: Telmisartan)

Gruppe	wt/ chow _v	wt/ HFD _v	wt/ HFD _{TEL}	Mas ko/ chow _v	Mas ko/ HFD _v	Mas ko/ HFD _{TEL}
Diät	chow	HFD	HFD	chow	HFD	HFD
TEL-Behandlung	-	-	+	-	-	+

Insgesamt wurden Mäuse in 10 „Einschleusgruppen“ mit je 6-11 Tieren wöchentlich aus Berlin nach Lübeck versendet. Bei Ankunft in Lübeck hatten die Tiere ein Alter von 6 Wochen und wt- und Mas ko-Mäuse wogen gleich viel (27.6 ± 0.2 vs. 27.1 ± 0.3 g, $p=0.147$). Sie erhielten in der Adaptationsphase von einer Woche vor Beginn des Studienprotokolls das reguläre Futter der experimentellen Tierhaltung der GTH und vor Versendung nach Lübeck das Futter des MDC in Berlin.

Diät und Behandlung wurden nach einer Woche Adaptation begonnen. Die Kontrollgruppen beider genetischer Hintergründe erhielten das chow-Futter und keine pharmakologische Behandlung. Jeweils eine Behandlungsgruppe bekam die HFD und ebenfalls keine zusätzliche Behandlung. Die dritte Versuchsgruppe für beide Genotypen wurde zusätzlich zum HFD-Futterregime mit TEL behandelt. Aufgrund der schlechten Löslichkeit von TEL wurde zweimal pro Woche eine TEL-Suspension hergestellt (s. 2.3.1). TEL wurde in Abhängigkeit vom Körpergewicht ($8 \text{ mg/kg}_{\text{KG}}$) wie durch *Miesel et al. 2012*; *Müller-Fielitz et al. 2012* beschrieben dosiert und den Mäusen täglich oral verabreicht. Die genaue Durchführung wird im Folgenden erläutert (s. 2.4.1). Entsprechend wurden die Mäuse täglich gewogen. Mäuse, die nicht mit TEL behandelt wurden, erhielten lediglich das Vehikel der Suspension aus Gummi arabicum und Leitungswasser nach demselben Schema ($5 \text{ ml/kg}_{\text{KG}}$).

Behandlung und Diät sowie tägliches Wiegen erstreckten sich über den Zeitraum von ca. 3 Monaten. Nach 7 Wochen Behandlung wurden die Tiere in ihrer „Einschleusgruppe“ in verschiedenen Funktionstests hinsichtlich metabolischer

Funktionen und körperlicher Konstitution untersucht. Abbildung 4 gibt eine Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Studie. Die einzelnen Versuchsabläufe werden im Folgenden ausführlich beschrieben.

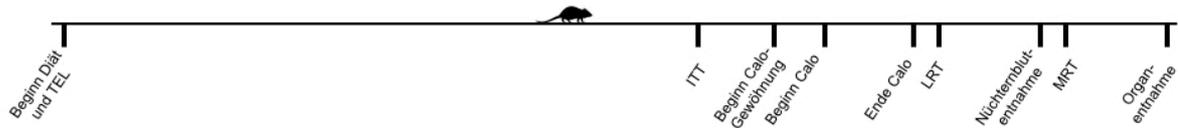


Abbildung 4: Zeitplan Übersicht

Beginn der gruppenentsprechenden Diät und der Behandlung mit TEL an Tag 1 (d1); Durchführung Insulintoleranztest (d51); Auseinzeln der Mäuse zur Gewöhnung an die Kalorimetrie-Käfige und -Trinkflaschen (d57); Beginn der indirekten Kalorimetrie (d61); Ende der indirekten Kalorimetrie (d68); Beginn Leptinresistenztest (d70); Nüchternblutentnahme (d78); Messung der Fettgewebssmasse im MRT (d80); Finalversuch mit Blut- und Organentnahme (d88)

2.3.1 Herstellung einer Telmisartan-Suspension

Zur oralen Verabreichung mittels Knopfkanüle musste das schlecht lösliche TEL in Suspension gebracht und verdünnt werden, um die erwünschten Dosierungen für die Applikation zu erreichen. Angestrebt wurde daher eine Verdünnung von 1,6 mg TEL/ml Suspension, mit der Applikationsmengen in μl -Größe möglich waren (5 ml/kg_{KG}). Hierzu wurden 48 mg Telmisartan mit 3 g Gummi arabicum (10%) in einem Mörser vermengt. Der Mörser wurde zuvor mit einem Teil der Gummi arabicum-Menge ausgestrichen. Nach gründlichem Vermengen wurde unter ständigem Zerreiben und Rühren und schrittweise Hinzufügen kleiner Mengen von insgesamt 30 ml Leitungswasser die Suspension hergestellt. Nach Umfüllen in ein 50 ml Polypropylengefäß wurde die Suspension auf dem Vortexmischer nochmals gründlich durchmischt. Unmittelbar vor Verabreichung der Suspension wurde sie zudem jeweils von Hand geschwenkt. Insgesamt wurde die TEL-Suspension zweimal pro Woche angesetzt. Die Herstellung der reinen Vehikel-Lösung erfolgte nach demselben Schema ohne das Hinzufügen von TEL.

2.4 Invasive Methoden: Probengewinnung und Medikamentenapplikation

2.4.1 Orale Applikation

Oral verabreicht wurden TEL und das entsprechende Vehikel. Die orale Applikation (auch „Schlund“ genannt) von Medikamenten wurde mithilfe einer starren Knopfkanüle, der „Schlundsonde“, durchgeführt. Die Knopfkanüle wurde auf eine 1 ml Spritze aufgesetzt, welche mit der entsprechenden Lösung oder Suspension gefüllt war. Die Maus wurde mit der linken Hand über die Rücken- und Nackenhaut sowie am Schwanz fixiert und mit gestrecktem Kopf etwa auf Brusthöhe des Fixierenden gehalten, sodass mit der rechten Hand die leicht gebogene Schlundsonde bis etwa auf Höhe des Magens in den oberen Verdauungstrakt eingeführt und das Medikament mithilfe der Spritze intraösophageal bzw. -gastral appliziert werden konnte.

2.4.2 Intraperitoneale Applikation

Intraperitoneal appliziert wurden die Insulin-Lösung, die Leptin-Lösung sowie das Narkotikum. Für die intraperitoneale Applikation von Medikamenten oder Lösungen wurden 27G Kanülen und 1 ml Spritzen verwendet. Die Maus wurde hierzu mit der linken Hand über Nacken- und Rückenhaut fixiert, wobei auf eine ausreichende Spannung der Bauchhaut geachtet wurde. Um eine Punktion von Organen zu vermeiden wurde das Tier etwa im 45° Winkel mit dem Kopf nach unten auf Brusthöhe des Fixierenden gehalten. Daraufhin wurde mithilfe der Kanüle das Abdomen median auf Höhe der Kniefalte punktiert und die entsprechende Lösung in die Bauchhöhle abgegeben.

2.4.3 Bestimmung der Plasmaglukosekonzentration

Die Messung der Plasmaglukosekonzentration (auch „Blutzucker“ genannt) erfolgte im Rahmen des ITT-Protokolls. Die Bestimmung erfolgte aus Vollblut. Es wurden

handelsübliche Blutzuckermessgeräte (Ascensia Elite XL/ Glucometer Elite XL, Bayer Vital GmbH, Deutschland) mit Teststreifen (Elite Sensor, Bayer Vital GmbH, Deutschland) verwendet, für welche nur eine geringe Menge Blut benötigt wurde. Zur Blutentnahme wurde mithilfe einer Kanüle die manuell gestaute Schwanzvene der Maus einmalig punktiert und der Schwanz des Tieres von der Schwanzwurzel Richtung Schwanzspitze ausgestrichen, sodass sich dort ein Blutstropfen bildete. Dieser wurde mithilfe der Teststreifen aufgefangen. Das Tier konnte zur Entnahme im Käfig verbleiben und lediglich am Schwanz fixiert werden. Bei wiederholten Messungen wurde der Schorf von der Punktionsstelle entfernt und der Schwanz von Neuem ausgestrichen.

2.4.4 Nüchternblutentnahme zur Triglyzeridbestimmung

Gegen Ende der dreimonatigen Fütterungsperiode wurde den Tieren zur Bestimmung der Triglyzerid-Level im Plasma Nüchternblut entnommen. Die Entnahme folgte auf eine Fastenperiode über 6 h ohne Zugang zu Futter aber mit allzeit Zugang zu Leitungswasser. Die gestaute Schwanzvene wurde punktiert und der Schwanz ausgestrichen. Das austretende Blut wurde mit Natriumheparinisierten Blutgaskapillaren (Nennvolumen 130 μ l; Durchmesser 1,75 mm) aufgefangen. Die Mäuse wurden hierzu mithilfe eines *Restrainers* fixiert. Die Größe des *Restrainers* orientierte sich am Umfang des Tieres. Das entnommene Blut wurde aus der Kapillaren in 2 ml Reagiergefäße (SafeSeal Reagiergefäß, Sarstedt) umgefüllt und für den Zeitraum des Versuchs bei Raumtemperatur gelagert. Nach Zentrifugieren über 4 min bei 14.000 g und 4°C wurde das Plasma mit Mikropipetten abpipettiert und in 2 ml Reagiergefäßen bei -20°C gefroren.

2.4.5 Blutentnahme durch finale Herzpunktion und Organentnahme

Die offene Herzpunktion in finaler Anästhesie verspricht eine schmerzfreie Tötung der Maus durch Thorakotomie und Blutentzug mit gleichzeitiger Gewinnung einer größeren Menge Blut (ca. 600-1000 μ l) für weitere Versuchszwecke [135], [136]. Es

erfolgte zudem eine sofortige Dekapitation nach Blutentnahme. Eine Organentnahme konnte im selben Versuchsaufbau angeschlossen werden.

Es wurde eine Narkose mit 10 $\mu\text{l/g}_{\text{KG}}$ einer 0,14/0,13%igen Xylazin/Ketamin-Lösung durchgeführt. Injiziert wurde i.p. und der volle Wirkeintritt mit Schmerzfremheit wurde anhand des Zwischenzehenreflexes an den Hinterpfoten überprüft. Zu Beginn wurde dann die Schwanzspitze amputiert und im Hinblick auf die eventuelle Notwendigkeit einer erneuten Genotypisierung der Mäuse in beschriftete 2 ml Reagiergefäße gegeben und schließlich in flüssigem Stickstoff eingefroren. Mithilfe von Kanülen wurde das Tier dann auf einer Styroporplatte fixiert und der Bauch mit einer Schere bis zum Zwerchfell eröffnet. Zur Freilegung des Herzens wurde das Zwerchfell eingeschnitten und die Rippen wurden beidseitig durchtrennt. Mit einer 23G Kanüle wurde daraufhin der linke Ventrikel des schlagenden Herzens an der Herzspitze punktiert und das Blut in einer 1 ml Spritze aufgezogen. Das gewonnene Blut wurde in EDTA beschichtete Microvetten von 300 μl (Microvette® CB 300 μl , K2 EDTA, Sarstedt) gefüllt und in einem Eisbad für die Dauer des Versuchs kühl gelagert.

Nach Tötung der Maus durch Herzpunktion und darauffolgende Dekapitation, wurde zuerst das Gehirn entnommen. Nach Einschneiden der Kopfhaut wurde der Schädel aufgespalten und das Gehirn vorsichtig ausgeschält und nach möglichst minimaler Manipulation auf Alufolie auf Trockeneis gefroren. Es folgte das Aufsuchen und die Entnahme der Hypophyse. Diese wurde dann in einem entsprechend nummerierten 2 ml Reagiergefäß in flüssigen Stickstoff gegeben. Anschließend wurden alle weiteren Organe (linker Ventrikel, Pankreas, Nebennieren, Nieren, Leber, viszerales Fett, epididymales Fett, braunes Fett, Muskel, Dickdarm, Dünndarm) herausoperiert und ebenfalls in Reagiergefäßen im flüssigen Stickstoff gefroren. Einige Organe (Leber, rechte Niere, rechtsseitiges epididymales Fett, Dickdarm, Dünndarm) wurden außerdem vollständig oder anteilig in 20 ml Szintillationsfläschchen in 4%-iger Formaldehyd-Lsg. konserviert. Das Gewicht des linken Ventrikels, der Nieren und der Leber wurden zwischen Entnahme und Einfrieren auf einer Feinwaage bestimmt. Im Anschluss wurde das Gehirn vom Trockeneis aus in vorgekühlte Probenfläschchen gegeben und sofort bei -20°C eingefroren. Alle in Stickstoff gegebenen Organen sowie die amputierten

Schwanzspitzen wurden sortiert und ebenfalls bei -20°C eingefroren. Langfristig wurden die Proben bei -80°C gelagert. Das gewonnene Blut wurde im Anschluss für den Multiplex-Assay wie im Weiteren beschrieben (s. 2.6.3) vorbereitet und ebenfalls eingefroren.

2.5 Funktionstests

2.5.1 Insulintoleranztest

Der hier beschriebene Insulintoleranztest (ITT) wurde zuvor orientiert an *Ayala et al. 2010* und *McGuinness et al. 2009* an FVB/N-wt-Mäusen etabliert [137], [138].

Zur Bestimmung der Insulinsensitivität und Nüchternplasmaglucoese-Level wurde in Woche 8 der Diät und Behandlung der Insulintoleranztest durchgeführt. Je nach Gruppengröße der „Einschleusgruppe“ wurden 6-11 Tiere pro Versuchstag eingeschleust.

Die Mäuse wurden hierzu um 07:30 Uhr (Winterzeit 06:30 Uhr) in saubere Käfige ohne Zugang zu Futter gesetzt. Leitungswasser stand den Tieren weiterhin zur freien Verfügung. Nach einer Fastenperiode von 5 h und 30 min wurde Blut aus dem Schwanz gewonnen und der basale Nüchternplasmaglucoese-Wert aller Mäuse mithilfe eines Blutzuckermessgerätes mit Teststreifen gemessen. Im direkten Anschluss an die Blutentnahme wurde den Mäusen 0.1 I.E. Insulin/kg_{KG} in Lösung intraperitoneal gespritzt. Der Injektionszeitpunkt wurde pro Maus als Zeitpunkt 0 min definiert. Die Tiere wurden im Abstand von 1 min hintereinander injiziert. Auf die Injektion folgend wurde der Blutzucker (BZ) für jede Maus bei 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 60 min und 90 min gemessen. Erst im Anschluss an alle Messungen wurden die Tiere erneut gefüttert und geschlundet. Bei kritischen BZ-Werten zum Zeitpunkt 90 min, erfolgte eine orale Applikation von Glucose-Lsg. (50%) und eine Kontrollmessung im Verlauf.

Die Herstellung der Insulinlösung erfolgte am Vortag des Versuchs. 0.1 ml Insuman® Rapid mit 40 I.E. Insulin human pro ml wurde mithilfe einer

Verdünnungsreihe mit 9,9 ml und 3 ml 0,9%-iger NaCl-Lösung 1:400 auf 0.1 I.E./ml verdünnt.

2.5.2 Indirekte Kalorimetrie

Um den Energieumsatz und den Bewegungsumfang der Tiere zu ermitteln, wurde in Woche 10 über 7 Tage eine indirekte Kalorimetrie mit paralleler Lokomotionsmessung durchgeführt. Verwendet wurde das *PhenoMaster Home Cage System* (TSE, Deutschland).

Vor Beginn der Messung wurden die Tiere über 4 Tage an eine Auseinzelung in die Messkäfige (*home cages*) und an die verlustarmen Wasserflaschenaufsätze des Kalorimetrie-Systems gewöhnt. Dabei wurde regelmäßig die Trinkmenge bestimmt, um die eigenständige Flüssigkeitsaufnahme der Tiere sicherzustellen. Während der Kalorimetrie wurde jedes Tier für 7 Tage einzeln in oben genannten Messkäfigen gehalten. Es erfolgte die Bestimmung der respiratorischen Gasaustauschrate oder des respiratorischen Quotienten (*respiratory exchange rate* = RER). Zur Ermittlung des RER wird gemessen wieviel CO₂ in einer bestimmten Zeit ein- und wieviel O₂ in derselben Zeit ausgeatmet wird, hieraus wird der Quotient $v(\text{CO}_2)/v(\text{O}_2)$ berechnet [139]. Der RER ist abhängig von den verfügbaren zu verstoffwechselnden Substraten, ein RER von 0.7 spricht für den vollständigen Verbrauch von O₂ durch die Verstoffwechslung von Fetten, während ein RER von 1.0 durch eine alleinige Verstoffwechslung von Kohlenhydraten spricht [140]. Entsprechend können hieraus Rückschlüsse gezogen werden. Für die Bestimmung des RER dienten spezielle Sensoren im System, die O₂ und CO₂ in der in den Käfig eingeleiteten und ausströmenden Luft messen.

Die Fütterung mit der gruppenspezifischen Diät wurde während der kalorimetrischen Messung fortgeführt. Mithilfe von speziellen Futterwaagen mit *high precision sensor* wurde die von der Maus aus der Futterröhre entnommene Menge Futter gemessen. Über den Energiegehalt pro g Futter der jeweiligen Diät wurde dann die aufgenommene Energiemenge in kJ berechnet. Über die gleichen Waagen erfolgte die Bestimmung der Wasseraufnahme.

Mit Infrarotstrahlung nutzenden Sensoren konnte außerdem über die Körperwärme der Tiere deren Bewegungsumfang ausgemessen werden. Hierzu war der Messkäfig in Segmente unterteilt, Bewegungen in ein anderes Segment wurden vom Computer gezählt.

Gemessen wurde über den Zeitraum von 7 Tagen, wobei zur Auswertung nur die Daten der letzten 5 Tage gemittelt wurden, die ersten 2 Tage wurden als Adaptationsphase gewertet. Es erfolgte eine separate Auswertung für Hell- und Dunkelphase.

2.5.3 Leptinresistenztest

Ebenso wie der ITT wurde auch der Leptinresistenztest (LRT) zunächst an FVB/N-wt-Mäusen orientiert an *Lin et al. 2000*, *Glavas et al. 2010* und *Mori et al. 2008* erprobt.

Der Leptinresistenztest (LRT) erfolgte über einen Zeitraum von 4 Tagen in der 11. Behandlungswoche. Je nach Eingangsgruppe wurden bis zu 11 Mäuse in einen Versuchsablauf eingeschlossen. Die Tiere verblieben für diesen Versuch einzeln, sodass die aufgenommene Futtermenge pro Tier zuverlässig bestimmt werden konnte. Am ersten Tag wurden die Mäuse mittags in saubere Käfige ohne Zugang zu Futter und mit freiem Zugang zu Leitungswasser umgesetzt und für 3 h gefastet. Im Anschluss daran wurden sie gewogen und mit 2 µg Leptin/g_{KG} intraperitoneal injiziert (17:00 Uhr). Die Injektionsmenge orientierte sich zur Erleichterung der Versuchsdurchführung am Körpergewicht des Vortags. Es folgte die Fütterung der Tiere mit einer ausgewogenen Menge Futter der entsprechenden Diät. Jedes Tier hatte dabei Zugang zu ähnlich großen und gleich frischen Futtermengen. An Tag 2 und 3 wurden die Mäuse jeweils morgens um 09:00 Uhr und abends um 17:00 Uhr mit der genannten Dosis Leptin injiziert. Bei der abendlichen Injektion wurden sowohl Körpergewicht als auch das Gewicht der verbliebenen Futtermenge bestimmt. An Tag 4 wurde um 09:00 Uhr die letzte Leptin-Gabe durchgeführt, sodass sich eine Gesamtzahl von 6 Injektionen pro Tier ergab. Das Wiegen der Tiere und des Futters erfolgte wie zuvor am Abend.

Aus der Differenz zwischen den Futtermengen wurde die Nahrungsaufnahme in g Futter pro Tier bestimmt und zusammen mit dem Körpergewicht über die Versuchsdauer verfolgt.

In Vorbereitung auf den Versuch wurde *Recombinant Murine Leptin* von PEPROTECH® mit PBS-Puffer angesetzt und verdünnt. Mit dem Ziel einer Injektionsmenge von 0.01 ml/g_{KG} mit einer Dosis von 2 µg Leptin/g_{KG} wurde eine 1:5 Verdünnung von 200 µg/ml hergestellt. Hierzu wurden zunächst 5 x 5 mg Leptin jeweils in 2.5 ml sterilem PBS-Puffer gelöst. 12.5 ml der Leptin-Lsg. (2 mg/ml) wurden dann mit 12.5 ml sterilem PBS-Puffer versetzt und in Aliquots von 500 µl mit einer Konzentration von 1 mg/ml eingefroren. Pro durchgeführtem LRT wurde ein Aliquot aufgetaut und mit 2 ml PBS-Puffer auf die finale, injektionsfertige Konzentration verdünnt.

2.5.4 Magnetresonanztomographie

Eine Untersuchung mittels Magnetresonanztomographie (MRT) wurde durchgeführt, um die viszerale und subkutane Fettgewebssmasse und -verteilung der Mäuse auszumessen. Für die Messung wurde das MRT-Gerät (Philips, Achieva, 1,5 Tesla, 8-Kanal SENSE) der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin des UKSH Campus Lübeck zur Verfügung gestellt. Die Versuchsdurchführung wurde von Mitarbeitern der Klinik betreut.

Um Bewegungen der Maus während der Messungen zu vermeiden, erhielten diese eine Narkose mit 0,14/0,13%iger Xylazin/ Ketamin-Lösung (10 µl/ g_{KG}). Das Narkotikum wurde i.p. verabreicht. Zum Schutz vor Austrocknung wurde Augen- und Nasensalbe (Bepanthen®) auf die Augen der Tiere aufgetragen. Nach dem Wirkeintritt wurde jede Maus unter Verwendung einer humanen Handgelenksspule im MRT-Gerät positioniert. Eine Messung dauerte in etwa 10 bis 20 min je nach Größe des Tiers. Im Anschluss wurden die Tiere bis zum Erwachen aus der Narkose auf einer Wärmeplatte mit ca. 40°C warmgehalten und überwacht.

Im Rahmen einer Messung wurden im Schnitt 23 Schichtbilder produziert, die den Körper der Tiere zwischen den Lungen und dem Beginn der unteren Extremität in einem Sichtfeld (*Field of View*; FOV) von 320x320 Pixel abbildeten (*Acquired matrix*: 200x160 / *Percent Sampling*: 83,5% / *Phase encoding steps*: 165). Die Schichtdicke der Bilder betrug 2 mm und der Übergang zwischen den Schichtbildern 0 mm. Die Konvertierung der DICOM-Einzelschichtbilder ins HDR-Format erfolgte mit dem Programm MRlcro (Version 1.4 build 1 USA). Ausgemessen wurde anschließend jeweils die subkutane und die viszerale Fettmasse mithilfe von *Vitom for Windows*, einem in der Klinik für Radiologie des UKSH Lübeck speziell hierfür entwickelten Programm.

Gemessen wurde von Leberbeginn bis zur ersten Abbildung des Hüftkopfes für das subkutane und bis zum Ende des Hodens für das viszerale Fett. Die Messung erfolgte, indem die Flächen einer bestimmten Graustufe, die zudem aufgrund ihrer anatomischen Position als Fett einzuordnen waren, markiert wurden. Um Vergleichbarkeit zu gewährleisten wurden alle Messungen durch dieselbe Person vorgenommen. Begonnen wurde mit der Markierung des viszeralen Fettes, welches dann um die Markierungen des subkutanen Fettes zur Markierung des insgesamt vorhandenen Fettes ergänzt wurde. Die Größe der markierten Fläche wurde durch das Programm berechnet. Die Fläche „viszerales Fett“ wurde dann von der insgesamt ausgemessenen Fläche subtrahiert, um die Fläche für das subkutane Fett zu ermitteln. Zur Berechnung des Fett-Volumens wurde die Größe der Flächen nachfolgend mit der Schichtdicke der einzelnen Bilder multipliziert. Die Unterscheidung von viszeralem und subkutanem Fett erfolgte aufgrund anatomischer Gegebenheiten und für jedes Tier auf dieselbe Art und Weise. Für die Berechnungen wurde die Software Excel (Microsoft) hinzugezogen. Das beschriebene Vorgehen orientiert sich an vorausgegangenen Studien der AG Raasch. [32], [35], [95], [143]

2.5.5 Messung von Körperlänge und -umfang

Im Rahmen der Kernspintomographischen Untersuchung wurde jede Maus nach Wirkeintritt der Narkose zunächst bezüglich Körperlänge und Bauchumfang vermessen. Die Messung erfolgte mit einem Maßband in cm. Gemessen wurde der Abstand von Nasenspitze zu Schwanzwurzel am ausgestreckten Tier als Körperlänge und der Umfang des Bauchs mittig zwischen dem Ansatz der vorderen und hinteren Extremitäten in derselben Position.

2.6 Analytische Methoden

2.6.1 Genotypisierung

Eine Genotypisierung der Tiere erfolgte vor Versendung und anhand der entnommenen Schwanzspitzen nach Versuchsende jeweils im MDC in Berlin.

2.6.2 Triglyzeridbestimmung

Die Bestimmung der Triglyzeride aus dem Plasma erfolgte mittels Roche/Hitachi Modular P Chemistry Analyser (Mannheim, Deutschland) aus dem Nüchternplasma der Tiere (s. 2.4.4) im Institut für Klinische Chemie des UKSH Campus Lübeck.

2.6.3 Multiplex-Assay

Im Anschluss an die Studie wurde mittels Immunoassay das Plasma der Mäuse auf eine Reihe im Rahmen des MetS relevanter Proteine untersucht. Hierzu wurde das MILLIPLEX® MAP Versuchskit (Merck) und die zugehörige *Magnet-bead*-Platte verwendet, welche eine zeitgleiche Bestimmung von bis zu 20 Analyten ermöglicht. Bestimmt wurden die Analyte C-Peptid, GIP, GLP-1, Glucagon, Insulin, Leptin,

Pankreatisches Polypeptid (PP), Peptid YY (PYY) und Resistin. Der Versuch basiert auf der Luminex xMAP® Technologie.

Das Prinzip der Untersuchung stellt ein Immunoassay dar, welcher mithilfe von fluoreszenz-kodierten *Magnet-beads* (MagPlex®-C microspheres), das heißt unterschiedlich fluoreszierend gefärbten Kügelchen (*bead*), durchgeführt wird. Jedes Kügelchen ist mit einem spezifischen Antikörper überzogen, der den entsprechenden Analyten aus der hinzugefügten Probe aufgrund der Antigen-Antikörper-Reaktion bindet, und hat eine zugehörige farbliche Kodierung. Dieser Analyt kann daraufhin mittels Biotin-gekoppelten Antikörpern, die ebenfalls aufgrund der Antigen-Antikörper-Reaktion binden, wie bei einem ELISA detektiert und seine vorhandene Menge gemessen werden. Unterschiedlich zum ELISA ermöglicht die Fluoreszenz-Kodierung der *beads* ein zusätzliches Unterscheidungsmerkmal und damit die parallele Auswertung mehrerer Proteine.

Verwendet wurde das im Finalversuch durch Herzpunktion gewonnene Blut. Zur Vorbereitung wurde dieses kurz nach der Entnahme zentrifugiert (10 min, 10.000 g, 4°C), das Plasma abpipettiert, mit einem zuvor angesetzten Mix aus den Stabilisatoren (Tabelle 6) DPP-IV Inhibitor und Aprotinin versetzt und anschließend bei -20°C eingefroren und gelagert.

Tabelle 6: Stabilisatoren für den Multiplex-Assay

Stabilisator	Finale Konzentration	Bestimmung von
DPP-IV Inhibitor (DPP4) von EMD Millipore	20 µl/ml Plasma	Glucagon-Like-Peptide (GLP-1)
Aprotinin (A-6279) von Sigma	250 KIU/ml Plasma → 40 µl/ml Plasma	Glucagon

Nach dem Auftauen am Versuchstag wurden die Plasmaproben entsprechend der Herstellervorgaben mithilfe von MILLIPLEX® MAP Versuchskit und *Magnet-bead-*

Platte untersucht. Nach dem Zusammenführen von Plasmaproben, *Magnet-beads* und biotinylierten Antikörpern, dem Starten und Beenden der Enzymreaktion erfolgte die Ausmessung mithilfe des Luminex 200™ Systems im Heinrich-Pette-Institut in Hamburg, welches dort freundlicherweise von Prof. Marcus Altfeld zur Verfügung gestellt wurde. Die sichere Fixierung der *Magnet-beads* erfolgte bei jeglicher Notwendigkeit unter Verwendung eines starken Magneten. Die nachfolgende Berechnung führte die Geräte-Software xPONENT® durch.

2.6.4 Quantifizierung von mRNA

Im Herzmuskel des linken Ventrikels, im Fettgewebe und im Hypothalamus wurden die mRNA-Level der RAAS-Komponenten AT_{1A/B}-Rezeptor, Mas-Rezeptor, ACE, ACE2 und AOPEN quantifiziert.

Die Gewebe wurden dazu an das MDC in Berlin versendet, wo zunächst eine Präparation der Gewebe bzw. Organe und eine mRNA-Extraktion erfolgten. Mittels *Standart Kits Reverse Transcription System* (Promega, Deutschland) wurde die cDNA synthetisiert und die mRNA mittels qPCR mit Fluoreszenz-Farbstoff (SYBR green I) im *GeneAmp 7000 sequence detection system* (Perkin-Elmer Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany) quantifiziert.

2.7 Statistische Methoden und Auswertung

Die Energieaufnahme der Tiere wurde berechnet, indem die Menge an nicht gefressenem Futter von der totalen Futtermenge in g subtrahiert wurde. Die sich ergebende Differenz wurde mit dem Energiegehalt des entsprechenden Futters in kJ (s. Tabelle 4) multipliziert, um die aufgenommene Energiemenge zu erhalten.

Für die Auswertung des Insulintoleranztests wurde die *Area Under The Curve* (AUC) für jedes einzelne Tier bestimmt und damit der Gesamteffekt auf die Plasmaglukosekonzentration über die Beobachtungszeit erfasst. Um eventuelle Schwankungen und Anstiege nach oben auszublenden und die Fläche nicht fälschlicherweise zu vergrößern, wurde die Netto-Area des $\Delta(10 \text{ min} - 90 \text{ min})$

bestimmt. Nach logarithmischer Transformation der Glucose-Konzentration wurde die Halbwertszeit von Glucose zwischen 10 und 60 min nach der Insulingabe durch Bestimmung der Steigung der Regressionsgeraden berechnet.

Für die Auswertung der kalorimetrischen Daten (EE, EI, Lokomotion) in Abhängigkeit der Licht- und Dunkelphase wurde intraindividuell ein Mittel über eine 8 h lange Kernzeit in dieser Periode berechnet, um so falsch hohe oder niedrige Werte zu vermeiden indem die auf- und absteigenden Flanken beim Lichtwechsel nicht in die Auswertung mit eingehen.

Für alle statistischen Berechnungen wurde Graph Pad® Prism 8 (Graph-Pad® Software, Inc., La Jolla, USA) genutzt. Unterstützend wurde Excel (Microsoft, USA) verwendet. Alle Daten wurden auf eine Gauß'sche Normalverteilung und Varianzhomogenität überprüft. Hierzu wurden der Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung und der D'Agostino-Pearson Omnibus-Test verwendet. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mit einer einfachen *1way* oder *2way*-ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche ermittelt. Dabei wurde der einfache ANOVA nur bei gegebener Gauß-Verteilung und Varianzhomogenität angewendet, die Bonferroni-Korrektur erfolgte im Fall, dass $p < 0.05$ war. Im Falle einer fehlenden Gauß'schen Normalverteilung oder Varianzhomogenität wurde mittels Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Post-hoc-Test getestet.

Es wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0.05$ festgelegt.

In linearen Graphen und Tabellen sowie Balkendiagrammen wurden die Daten als Mittelwert und Standardfehler (SEM) dargestellt. Einige Daten wurden aufgrund einer fehlenden Normalverteilung als Mediane und oberes und unteres Quartil in Form eines Boxplot abgebildet. Durch die Antennen des Boxplot wird die durch Tukey definierte Variabilität angezeigt.

3 Ergebnisse

3.1 Gewichtsentwicklung von FVB/N-wt-Mäusen bei chow-Diät oder HFD

Zur Etablierung der Diäten wurden FVB/N-wt-Mäuse mit chow oder HFD über einen Zeitraum von ca. 4 Monaten gefüttert. Hierbei entwickelten die HFD-Mäuse im Vergleich zu den chow-Kontrollen ein signifikant höheres Körpergewicht (s. Abbildung 5 A-B).

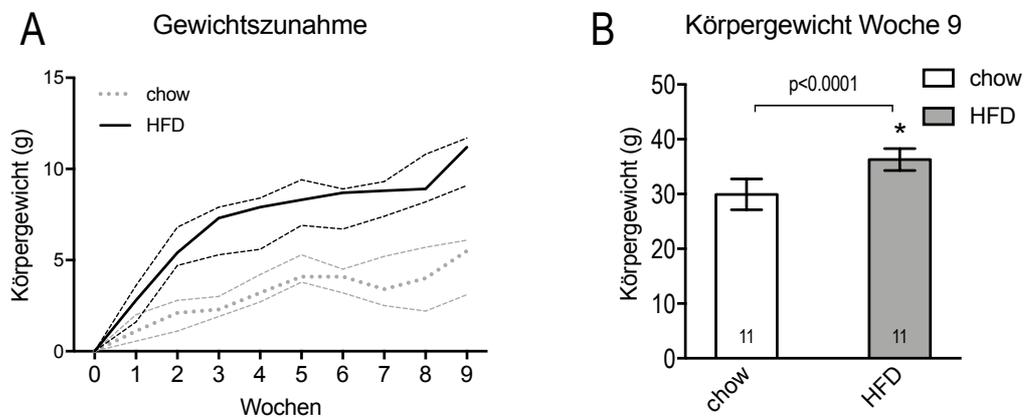


Abbildung 5: Körpergewicht von chow- und HFD-gefütterten wt-Mäusen

Gewichtsentwicklung (Körpergewicht in g über die Zeit in Wochen) (A), Körpergewicht (in g) Woche 9. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=11, *p<0.0001 vs. chow

3.2 Wachstum

3.2.1 Gewicht

Im Hauptversuchsprotokoll wurden die Mäuse entweder mit chow oder HFD gefüttert. Die FVB/N-Mäuse unterschieden sich außerdem hinsichtlich ihres Genotyps (wt oder Mas ko) und ihrer Behandlung mit TEL oder Vehikel. Das Körpergewicht wurde in diesem Protokoll über 3 Monate täglich bestimmt.

Zu Beginn waren wt- und Mas ko-Mäusen hinsichtlich des Körpergewichts gleich (27.6 ± 0.2 vs. 27.1 ± 0.3 g, $p=0.147$). Am Ende der Fütterungsperiode (d70) waren wt-Mäuse, die nur mit chow gefüttert wurden und Vehikel erhielten, schwerer als die Mas ko-Mäuse unter dem gleichen Regime (33.1 ± 0.6 vs. 30.5 ± 0.6 g, $p<0.01$).

Die Fütterung mit der HFD führte zu einer verstärkten Gewichtszunahme sowohl in wt- als auch in Mas ko-Mäusen (s. Abbildung 6 A-B). Tiere unter HFD_V nahmen über 70 Tage etwa 10 g mehr zu als die entsprechende chow-Gruppe (s. Abbildung 6 C). Diese Zunahme war in der TEL-behandelten wt/HFD-Gruppe ebenfalls zu beobachten, fiel jedoch geringer aus. Wt/HFD_{TEL}-Mäuse nahmen über die Zeit von 70 d im Schnitt 3,5 g weniger zu als ihre fettreich gefütterten Kontrollen ohne TEL-Therapie. Dieser Unterschied war ersichtlich, erreichte jedoch keine statistische Signifikanz. In Mas ko-Mäusen hingegen zeigte sich keine signifikant verstärkte Gewichtszunahme der HFD_{TEL}-Gruppe gegenüber der chow-Gruppe. Im Schnitt nahmen die HFD_{TEL}-Tiere über den beobachteten Zeitraum ca. 7,5 g weniger zu als die HFD_V-Tiere (s. Abbildung 6 A-C). Damit beobachten wir einen deutlich stärker ausgeprägten Einfluss durch TEL auf die Gewichtszunahme in den Mas ko-Tieren.

Mäuse mit einer HFD-Fütterung entwickelten erhöhte BMI im Sinne eines diät-induzierten Übergewichts. Die BMI-Erhöhung konnte durch zusätzliche Gabe von TEL in Mas ko-Mäusen verhindert werden, nicht jedoch in wt-Mäusen (s. Abbildung 6 D). TEL-behandelte wt-Mäuse entwickelten signifikant höhere BMI-Werte als die chow-gefütterten Kontrollen, während sie sich zur HFD_V-Gruppe nicht unterschieden. Zwischen TEL-behandelten Mas ko-Mäuse und der Mas ko-chow-Gruppe ergab sich hinsichtlich des BMI kein Unterschied, sie entwickelten trotz HFD geringer BMI-Werte als die entsprechende HFD_V-Gruppe (s. Abbildung 6 D).

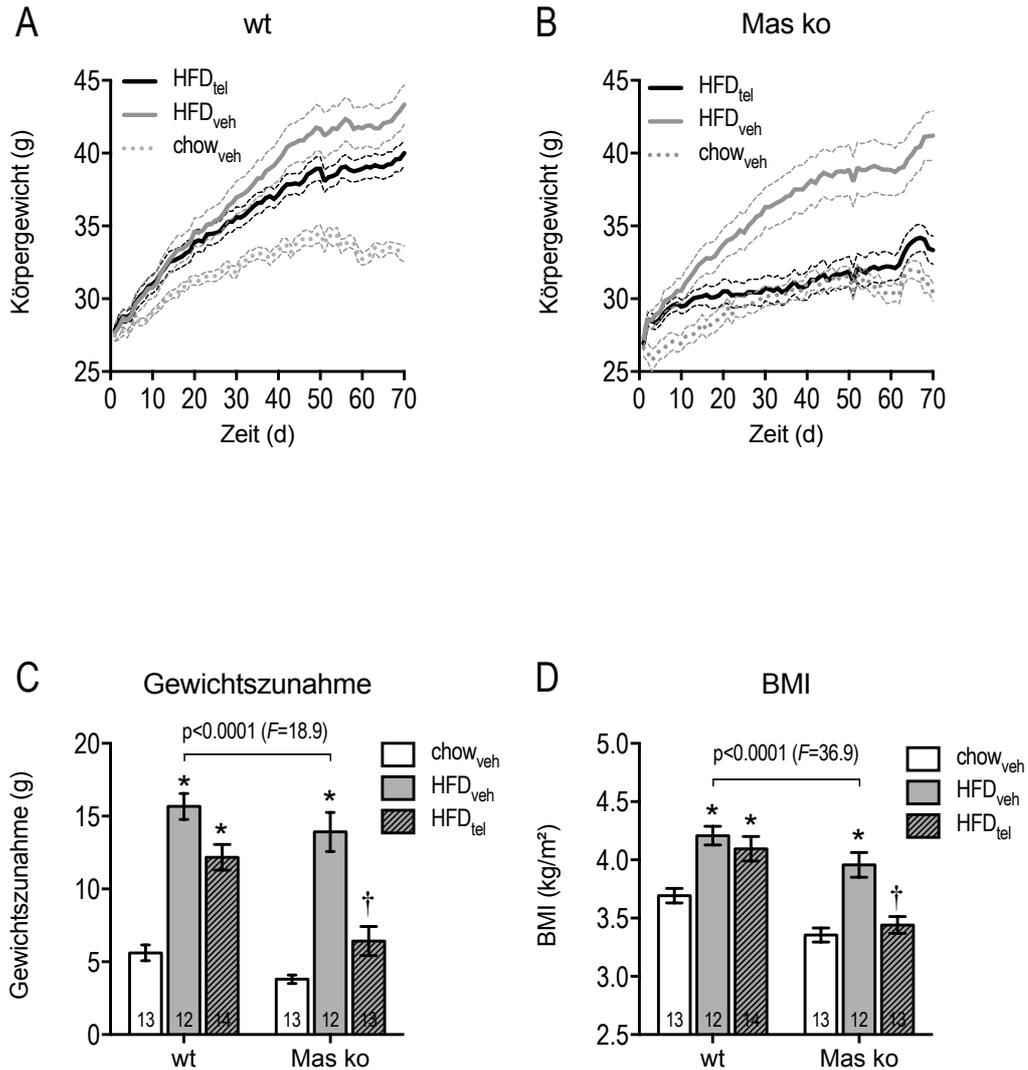


Abbildung 6: Wachstum (Körpergewicht, Gewichtszunahme, BMI)

von chow- und HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen nach chronischer Behandlung mit TEL. Gewichtsentwicklung (Körpergewicht in g über die Zeit in d) (A-B), Gewichtszunahme (in g) bis d70 (C, $F_{\text{Behandlung}}=64.5$, $p_{\text{Behandlung}}<0.0001$; $F_{\text{Interaktion}}=3.5$, $p_{\text{Interaktion}}=0.035$), BMI (in kg/m^2) (D, $F_{\text{Behandlung}}=22.6.5$, $p_{\text{Behandlung}}<0.0001$; $F_{\text{Interaktion}}=3.2$, $p_{\text{Interaktion}}=0.045$). Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. Darstellung der Daten in linearen Graphen als Mittelwert \pm SEM. $n=12-14$, * $p<0.05$ vs. chow_v. † $p<0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

3.2.2 Körperlänge und Bauchumfang

Körperlänge und Bauchumfang wurden an Tag 80 gemessen. In wt- und Mas ko-Mäusen war die durchschnittliche Körperlänge von chow_v-Tieren signifikant kürzer

als die Körperlänge der HFD_V-Tiere (s. Tabelle 7). TEL führte in den HFD_{TEL}-Tieren mit beiden genetischen Hintergründen zu einer normalisierten Körperlänge (s. Tabelle 7) die sich von der chow-Gruppe nicht unterschied.

Auch der Bauchumfang stieg in wt- und Mas ko-Mäusen durch die Fütterung einer HFD signifikant an, wobei Mas ko Mäuse generell einen geringeren Bauchumfang aufwiesen als wt. TEL führte auch hier bei beiden Genotypen zu einer Reduktion des Umfangs (s. Tabelle 7).

Tabelle 7: Körperlänge und Bauchumfang (in cm)

Mittelwert ± SEM, n=12-14, *p<0.05 vs. chow_V. † p<0.05 vs. HFD_V

	Gruppe	Körperlänge	Bauchumfang
wt	chow _V	9.5 ± 0.1	8.1 ± 0.1
	HFD _V	10.2 ± 0.1*	9.2 ± 0.1*
	HFD _{TEL}	9.8 ± 0.1†	8.5 ± 0.2†
Mas ko	chow _V	9.5 ± 0.1	7.5 ± 0.1
	HFD _V	10.1 ± 0.1*	8.9 ± 0.2*
	HFD _{TEL}	9.7 ± 0.1†	7.7 ± 0.1†
Stammunterschied		p=0.8089	p<0.0001

3.2.3 Fettmasse

Mittels MRT-Untersuchung wurde an Tag 80 die Fettverteilung des subkutanen und viszeralen Fetts beurteilt (s. Abbildung 7) und das jeweilige Volumen berechnet.

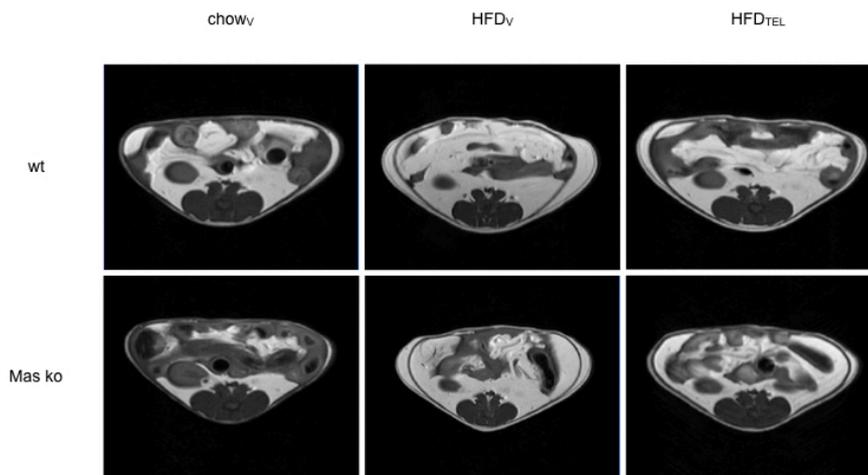


Abbildung 7: Verteilung der subkutanen und viszeralen Fettmasse

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. MRT-Schnittbilder. Die Bilder wurden auf Höhe des unteren rechten Nierenpols aufgenommen. Sie sind nicht maßstabgetreu und dienen lediglich der Veranschaulichung. In den T1 gewichteten Bildern erscheint das Fettgewebe hyperintens. Das subkutane Fettgewebe befindet sich außen zwischen Haut und Bauchfell (Peritoneum), welches als dunkler Rahmen erscheint. Das viszerale Fettgewebe liegt innerhalb des Peritoneums und umgibt die inneren Organe.

Bezüglich des viszeralen Fettgewebes bestand kein genereller Unterschied zwischen den gemessenen Volumina basierend auf dem genetischen Hintergrund. Bei beiden Genotypen bewirkte die HFD im Durchschnitt einen verstärkten Aufbau von Fett im Vergleich zu chow_v. Diese Auswirkung konnte durch die Behandlung mit TEL verringert jedoch nicht vollständig aufgehoben werden. Die HFD_{TEL}-Tiere beider Linien zeigten kleinere Fettvolumina als die HFD_v-Tiere, wobei sie im Vergleich zur chow-Gruppe weiterhin vermehrt Fettgewebe aufbauten. In Mas ko-Mäusen zeigte sich dieser Effekt deutlicher, im Vergleich zur HFD_v-Gruppe wiesen die Tiere der HFD_{TEL}-Gruppe ca. 2.0 ml kleinere Fett-Volumina auf. Dieser Unterschied belief sich in den wt-Tieren nur auf ca. 0.6 ml (s. Abbildung 8 A).

Die subkutane Fettgewebsmasse unterscheidet sich in wt- und Mas ko-Mäusen. Mas ko-Mäuse weisen insgesamt kleinere Volumina an subkutanem Fettgewebe auf. Die beiden chow-Gruppen unterscheiden sich gegeneinander um etwa 0.5 ml subkutaner Fettmasse. Das HFD-Fütterungsregime bewirkte in beiden Stämmen

einen signifikanten Mehraufbau von subkutanem Fettgewebe, welcher jeweils durch die TEL-Behandlung abgeschwächt werden konnte. In beiden Linien wurde durch die TEL-Gabe jedoch keine Normalisierung der Fettgewebismenge erreicht, ein signifikanter Unterschied zwischen den HFD_{TEL}- und den chow_V-Tieren stellte sich weiterhin dar (s. Abbildung 8 B).

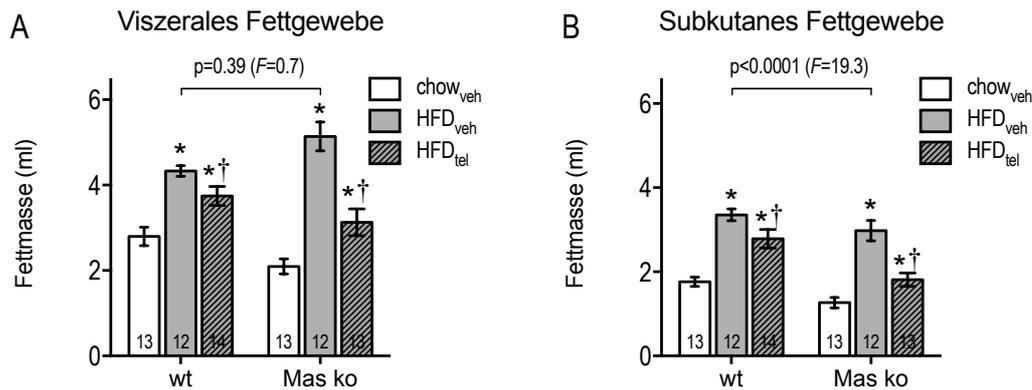


Abbildung 8: Subkutane und viszerale Fettmasse (in ml)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Volumen des viszeralen Fettgewebes (in ml) (A), Volumen des subkutanen Fettgewebes (in ml) (B). Analyse des Einflusses des Stammes durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=12-14, *p<0.05 vs. chow_V. † p<0.05 vs. HFD_V nach Bonferroni-Korrektur

3.2.4 Organgewichte

Bei der finalen Organentnahme an d88 wurden die Nieren, die Leber und der linke Ventrikel gewogen. Die durchschnittlichen Gewichte der verschiedenen Organe finden sich in Tabelle 8. In wt/HFD_V wurden im Vergleich zu wt/chow_V höhere Organgewichte festgestellt. In Mas ko wogen unter HFD nur die Nieren schwerer als bei den chow-Tieren (s. Tabelle 8). Ein Stammesunterschied ergibt sich nur für die Gewichte der Leber und des linken Ventrikels, beide wiegen in wt-Mäusen mehr (s. Tabelle 8).

Die Behandlung mit TEL führte zu einer Reduktion des Gewichts von Leber und linkem Ventrikel in beiden Stämmen, das Gewicht der Nieren änderte sich im Vergleich zu den HFD_V-Tieren nicht (s. Tabelle 8)

Tabelle 8: Organgewichte (in mg)

von wt- und Mas ko-Mäusen bei Organentnahme. Bei den Gewichtsdaten unter „Niere“ handelt es sich um den Mittelwert aus dem durchschnittlichen Gewicht der linken und rechten Nieren. Darstellung der Daten in linearen Graphen als Mittelwert \pm SEM. n=11-14, *p<0.05 vs. chow_V. † p<0.05 vs. HFD_V

		Niere	Leber	Linker Ventrikel
wt	chow _V	194 \pm 6	1545 \pm 45	92 \pm 1
	HFD _V	222 \pm 5*	2208 \pm 118*	109 \pm 3*
	HFD _{TEL}	225 \pm 6*	1824 \pm 64*†	84 \pm 3*†
Mas ko	chow _V	187 \pm 6	1570 \pm 31	89 \pm 3
	HFD _V	215 \pm 7*	1820 \pm 118	97 \pm 3
	HFD _{TEL}	198 \pm 6	1278 \pm 58*†	65 \pm 2*†
Stammunterschied		p=0.0053	p<0.0001	p<0.0001

3.3 Energieumsatz

3.3.1 Energie- und Wasseraufnahme

Die Energie- und Wasseraufnahme wurde mithilfe von Futterwaagen mit „High-Precision“-Sensoren im Rahmen der Kalorimetrie bestimmt. Hell- und Dunkelphase wurden in der Auswertung separat betrachtet. Die Messwerte wurden über einen Zeitraum von 5 Tagen gemittelt. Die Messperiode schloss sich an eine Adaptationszeit von 2 Tagen an.

In den wt-Mäusen führte die HFD unter Placebobehandlung zu einer erhöhten Energieaufnahme in der Licht-Phase, während sie dies unter simultaner TEL-Behandlung nicht induzierte (s. Abbildung 9). In der Dunkelphase war die Energieaufnahme hingegen in den wt-Kontrollen unter HFD-Fütterung gegenüber der chow-Gruppe reduziert, nicht jedoch in den TEL-behandelten Tieren (s. Abbildung 9). In Mas ko-Mäusen war die Energieaufnahme generell höher. In der Licht-, nicht jedoch in der Dunkelphase war diese zudem durch die HFD-Fütterung gesteigert (s. Abbildung 9). Dieser HFD-bedingte Anstieg der Energieaufnahme in der Lichtphase konnte durch TEL vermieden werden. In der Dunkelphase war kein TEL-Einfluss in den Mas ko-Mäusen zu beobachten (s. Abbildung 9).

Insgesamt zeigten Mas ko-Mäuse im Vergleich zu den Wildtypen eine höhere Wasseraufnahme zu jeder Zeit. Die Wasseraufnahme war während der Dunkelphase in beiden Stämmen durch die HFD im Vergleich zu chow-gefütterten Kontrollen vermindert und konnte durch die TEL-Behandlung normalisiert werden (s. Abbildung 10). In der Lichtphase zeigte sich eine höhere Wasseraufnahme durch Mas ko/HFD_{TEL} (s. Abbildung 10). Abgesehen davon waren keine weiteren behandlungsbedingten Unterschiede zu erkennen.

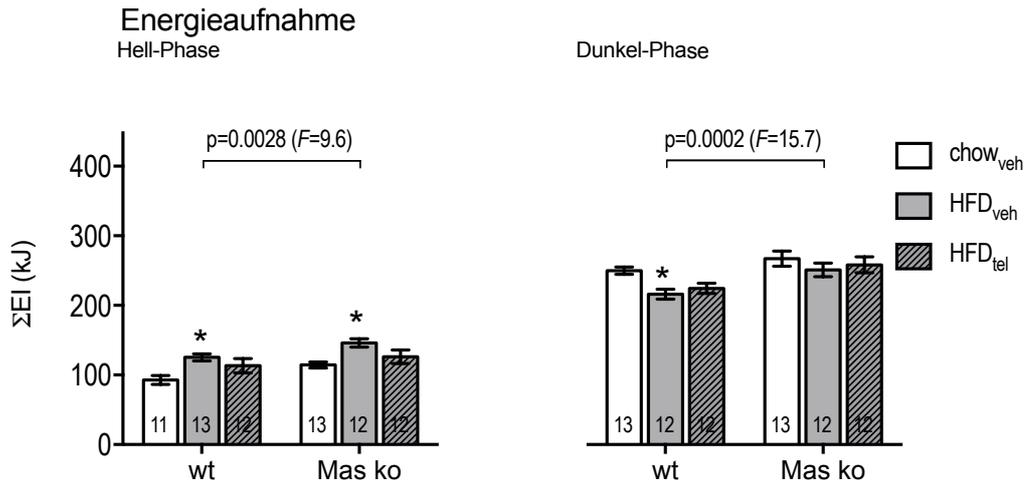


Abbildung 9: Durchschnittliche Energieaufnahme (ΣEI in kJ) pro Tag

während der indirekten Kalorimetrie von chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL ($F_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=9.8$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=0.002$; $F_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}=4.6$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}=0.013$). Der ausgewertete Messzeitraum betrug 5 Tage. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=11-13, * $p < 0.05$ vs. chow_v. † $p < 0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

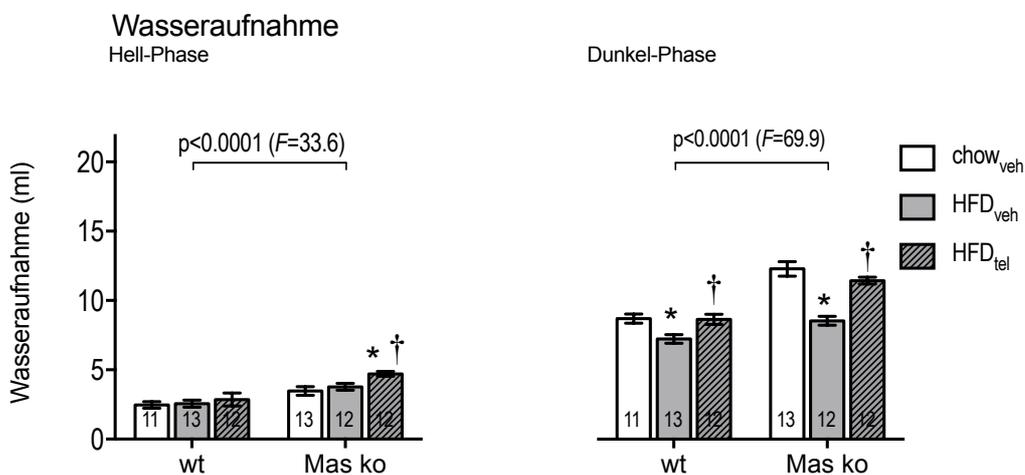


Abbildung 10: Durchschnittliche Wasseraufnahme (in ml) pro Tag

während der indirekten Kalorimetrie von chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL ($F_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=4.0$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=0.022$; $F_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}=17.4$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}<0.0001$). Der ausgewertete Messzeitraum betrug 5 Tage. A) Durchschnittliche Wasseraufnahme in der Hell-Phase, B) Durchschnittliche Wasseraufnahme in der Dunkel-Phase. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=11-13, * $p < 0.05$ vs. chow_v. † $p < 0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

3.3.2 Energieumsatz und Lokomotion

Über die indirekte Kalorimetrie wurden der Energieverbrauch und der respiratorische Quotient (RER) bestimmt. Die Lokomotion wurde mithilfe von Infrarotstrahlen gemessen. Hell- und Dunkel-Phase wurden in der Auswertung separat betrachtet. Die Messwerte wurden über einen Zeitraum von 5 Tagen gemittelt. Die Messperiode schloss sich an eine Adaptationszeit von 2 Tagen an.

Energieverbrauch, Lokomotion und RER waren insgesamt und zu jeder Tageszeit größer in Mas ko-Mäusen. Zwischen den Gruppen chow_{veh}, HFD_{veh} und HFD_{TEL} bestand bezüglich des Energieverbrauchs und der Lokomotion kein signifikanter Unterschied (s. Abbildung 11/ Abbildung 12).

Die HFD führte bei beiden Mausstämmen zu reduzierten RER von ≈ 0.75 . Die TEL-Behandlung zeigte darauf keinen Einfluss, die RER von HFD_{veh} und HFD_{TEL} waren jeweils gleich. Der Unterschied zwischen den Genotypen und zwischen den Diäten chow und HFD war deutlicher in der Dunkelphase (s. Abbildung 13).

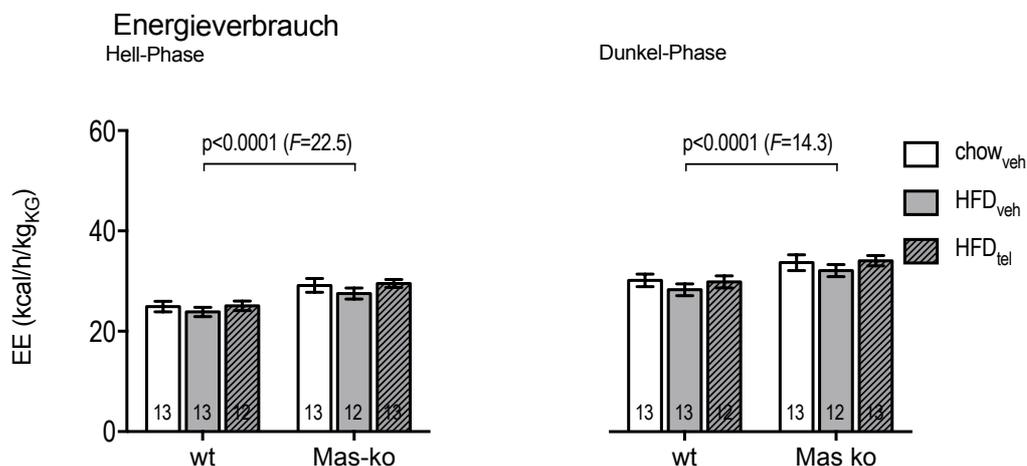


Abbildung 11: Energieverbrauch (in kcal \cdot h \cdot kg $_{KG}^{-1}$) pro Tag

während der indirekten Kalorimetrie von chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL ($F_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=1.3$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=0.737$; $F_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}=1.3$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}=0.289$). Der ausgewertete Messzeitraum betrug 5 Tage. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=12-13, * $p < 0.05$ vs. chow_v. † $p < 0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

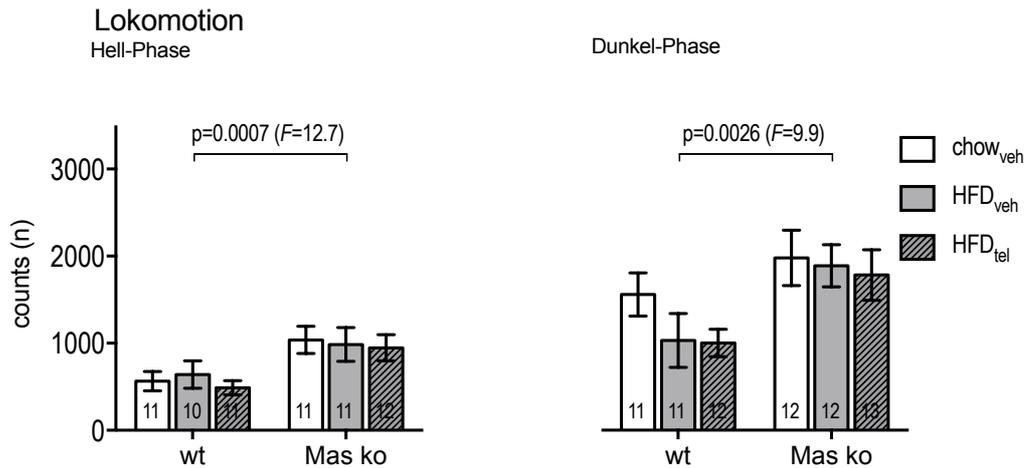


Abbildung 12: Lokomotion (in Zählungen) pro Tag

während der indirekten Kalorimetrie von chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL ($F_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=0.3$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=0.779$; $F_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}=1.1$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}=0.328$). Der ausgewertete Messzeitraum betrug 5 Tage. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. $n=11-13$, * $p<0.05$ vs. chow_v. † $p<0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

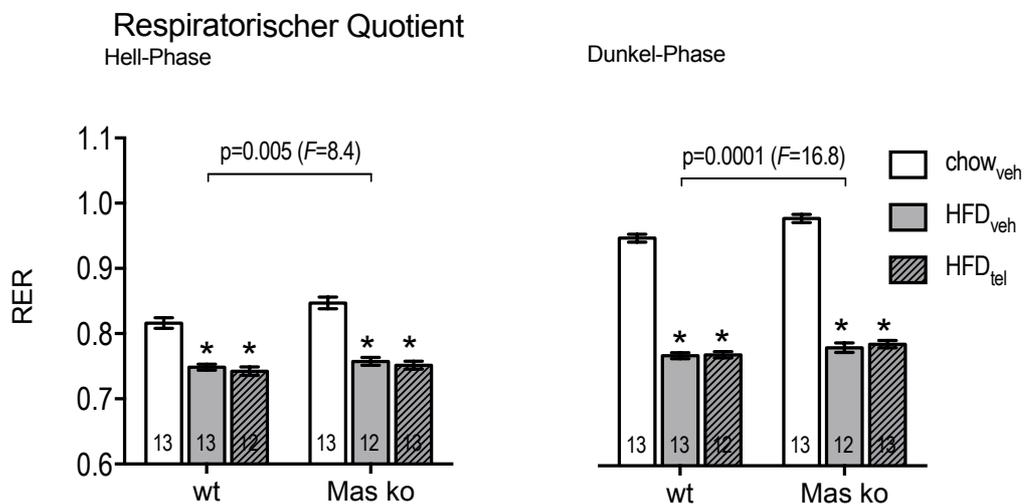


Abbildung 13: Respiratorischer Quotient

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL ($F_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}=95.2$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Hell}}}<0.0001$; $F_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}=696$, $p_{\text{Behandlung}_{\text{Dunkel}}}<0.0001$). Der ausgewertete Messzeitraum betrug 5 Tage. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. $n=12-13$, * $p<0.05$ vs. chow_v. † $p<0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

3.4 Glucosehomöostase

3.4.1 Plasmaspiegel von Glucose, Insulin und C-Peptid

Der Plasmaspiegel von Glucose wurde als Nüchternblutzucker (Nüchtern-BZ) zu Beginn des ITT gemessen. Zwischen wt/chow_v und Mas ko/chow_v bestand diesbezüglich kein Unterschied, jedoch zeigten wt-Mäuse insgesamt höhere Nüchtern-BZ-Werte. Die HFD führte in beiden Maus-Stämmen zu erhöhten Plasmaglucoese-Spiegeln im Vergleich zu den chow-Tieren. Dieser Effekt war jedoch geringer ausgeprägt in Mas ko-Tieren. TEL hatte keinen Effekt auf den BZ der wt-Mäuse. In Mas ko bewirkte TEL eine Reduktion der Plasmaglucoese, sodass zwischen chow_v und HFD_{TEL} kein signifikanter Unterschied mehr bestand (s. Abbildung 14).

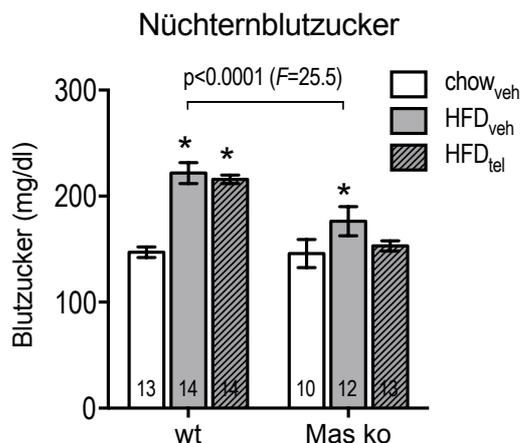


Abbildung 14: Nüchternblutzucker (in mg/dl)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL ($F_{\text{Behandlung}}=18.0$, $p_{\text{Behandlung}} < 0.0001$). Der Nüchternblutzucker entspricht dem Plasmaglucoese Spiegel (in mg/dl) gemessen zum Zeitpunkt $t = 0$ min im Rahmen des Insulintoleranztests (ITT) nach 5.5 h Fasten. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. $n=10-14$, * $p < 0.05$ vs. chow_v. † $p < 0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

Insulin und C-Peptid im Plasma wurden im Rahmen des Multiplex-Assay gemessen. Insgesamt waren die Insulin- und auch die C-Peptid-Level in den wt-Mäusen höher.

Insulin war durch die HFD nur in wt-Tieren erhöht. Eine TEL-Behandlung zeigte keinen Einfluss (s. Abbildung 15 A). C-Peptid war selektiv in wt/HFD_{TEL} erhöht (s. Abbildung 15 B). In Mas ko ergab sich zwischen den drei Diät-Gruppen kein Unterschied, weder für Insulin-Spiegel noch für C-Peptid-Spiegel (s. Abbildung 15 A-B).

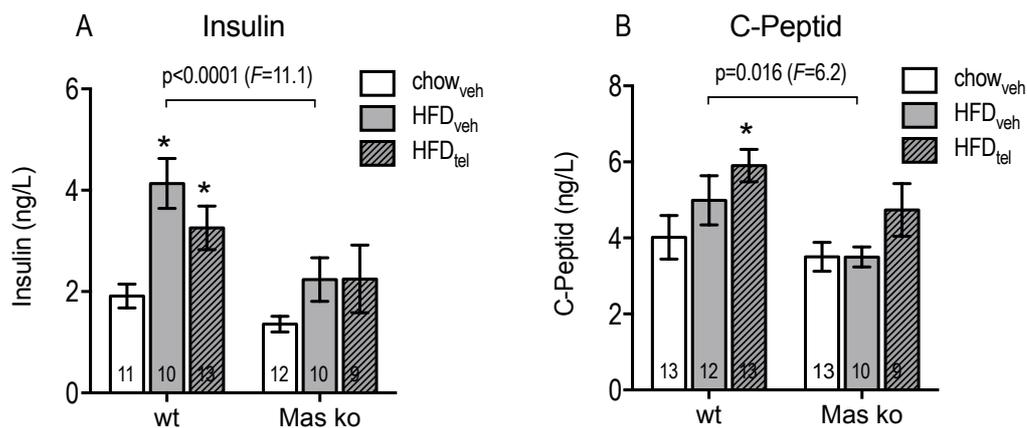


Abbildung 15: Plasmaspiegel von Insulin und C-Peptid (in ng/l)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Insulin (A, $F_{\text{Behandlung}} = 7.8$, $p_{\text{Behandlung}} < 0.0001$), C-Peptid (B, $F_{\text{Behandlung}} = 4.7$, $p_{\text{Behandlung}} = 0.013$). Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=9-13, * $p < 0.05$ vs. chow_v. † $p < 0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

3.4.2 Insulinsensitivität

Im ITT wurde nach Injektion von 1 I.E. Insulin/kg_{KG} die Insulinsensitivität bestimmt, indem die BZ-Werte in Reaktion auf die Insulingabe zu 6 verschiedenen Zeitpunkten gemessen wurden. Bestimmt wurde die Halbwertszeit (HWZ) von Glucose, sowie die *Area under the curve* (AUC) des Glucose-Konzentration-Zeit-Verlaufs.

In wt/HFD_v war die HWZ der Glucose-Utilisation durchschnittlich höher und die AUC kleiner als in der entsprechenden Kontrollgruppe. Eine geringere AUC und eine erhöhte HWZ indizieren eine Einschränkung der Insulinsensitivität. Unter dem Einfluss von TEL war weder die AUC noch die HWZ im Vergleich zu HFD-Kontrollen

verändert, weshalb geschlossen werden kann, dass TEL in diesem Modell keine protektive Wirkung bezüglich der Glukosekontrolle besitzt. In Mas ko konnte in Abhängigkeit von HFD-Fütterung oder TEL-Behandlung keine Veränderung der Insulinsensitivität nachgewiesen werden. Zudem ist ein Stammunterschied für die HWZ und tendenziell auch die AUC nachweisebar (s. Abbildung 16).

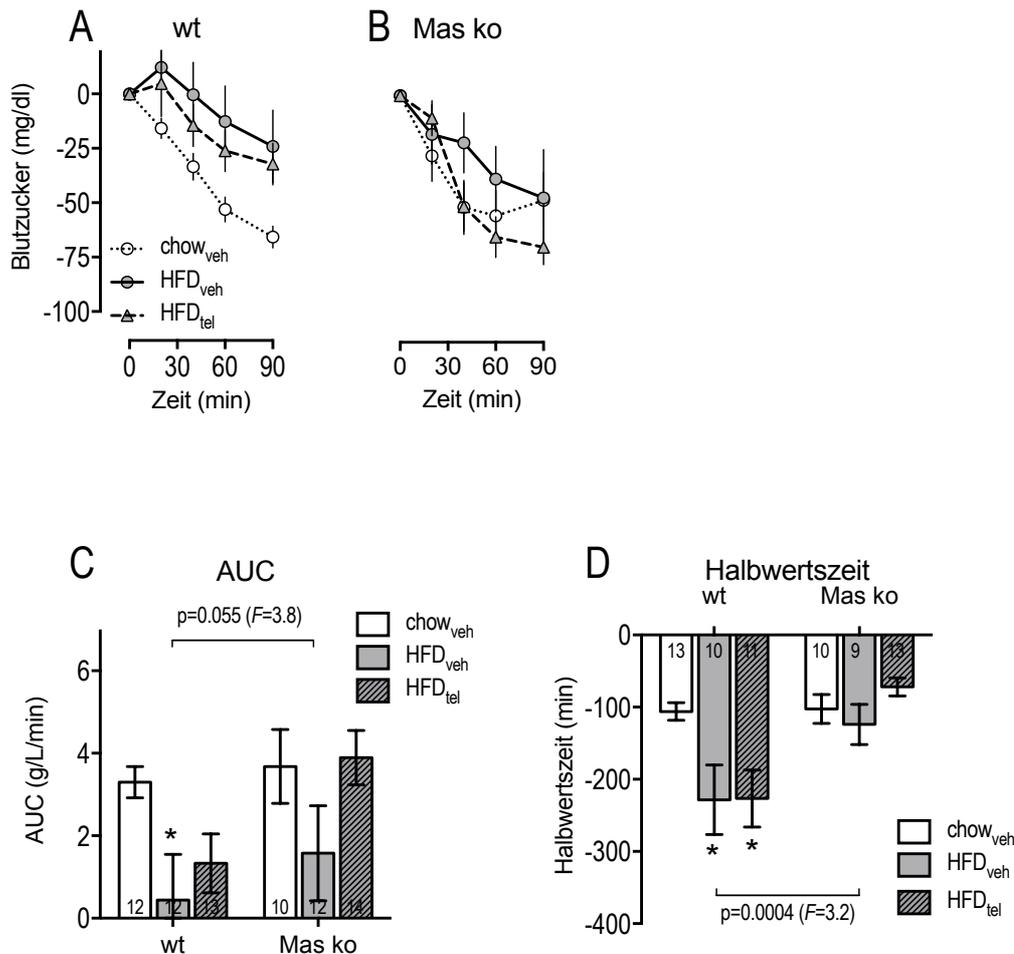


Abbildung 16: Insulintoleranztest (ITT)

Entwicklung der Glucosekonzentration (in mg/dl) über die Zeit (in min) nach Insulin-Gabe in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL (A-B). Die Darstellung der AUC dient als Ausdruck der Insulinsensitivität der Insulin-Gabe auf die Plasmaglukosekonzentration über die Beobachtungszeit bis 90 min (C, $F_{\text{Behandlung}}=3.2$, $p_{\text{Behandlung}}=0.047$). Auch die Halbwertszeit der Glukoseverschwinderate (in min) dient als Parameter für die Insulinsensitivität und wurde intraindividuell nach logarithmischer Konvertierung durch lineare Regression im Zeitintervall 10 bis 60 min berechnet (D, $F_{\text{Behandlung}}=4.2$, $p_{\text{Behandlung}}=0.019$). Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Mittelwert \pm SEM. n=9-14, * $p < 0.05$ vs. chow_v. † $p < 0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

3.4.3 Plasmaspiegel der insulinotropen Hormone GIP und GLP-1

Die Spiegel der insulinotropen Hormone GIP und GLP-1 wurden aus dem Plasma der finalen Blutentnahme bestimmt. Sie unterschieden sich weder zwischen den verschiedenen Genotypen noch unter den verschiedenen Diäten und Behandlungen (s. Abbildung 17 A-B).

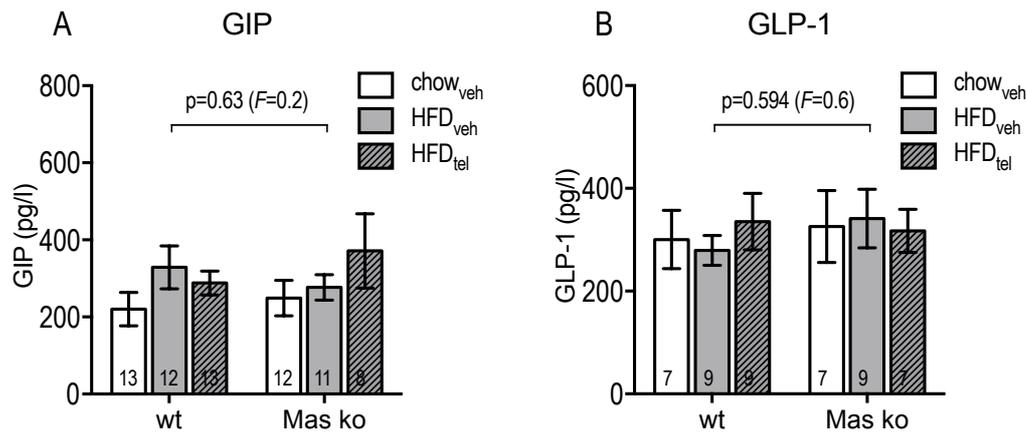


Abbildung 17: Plasmaspiegel von GIP und GLP-1 (in pg/l)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. GIP (in pg/l) (A, $F_{\text{Behandlung}}=1.9$, $p_{\text{Behandlung}}=0.153$; $F_{\text{Interaktion}}=0.9$, $p_{\text{Interaktion}}=0.421$), GLP-1 (in pg/l) (B, $F_{\text{Behandlung}}=0.1$, $p_{\text{Behandlung}}=0.947$; $F_{\text{Interaktion}}=0.3$, $p_{\text{Interaktion}}=0.738$). Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=7-12, * $p<0.05$ vs. chow_v. † $p<0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

3.5 Adipozytokine

Die Adipozytokine Leptin, Resistin, PYY und PP wurden im Rahmen des Multiplex-Assay bestimmt.

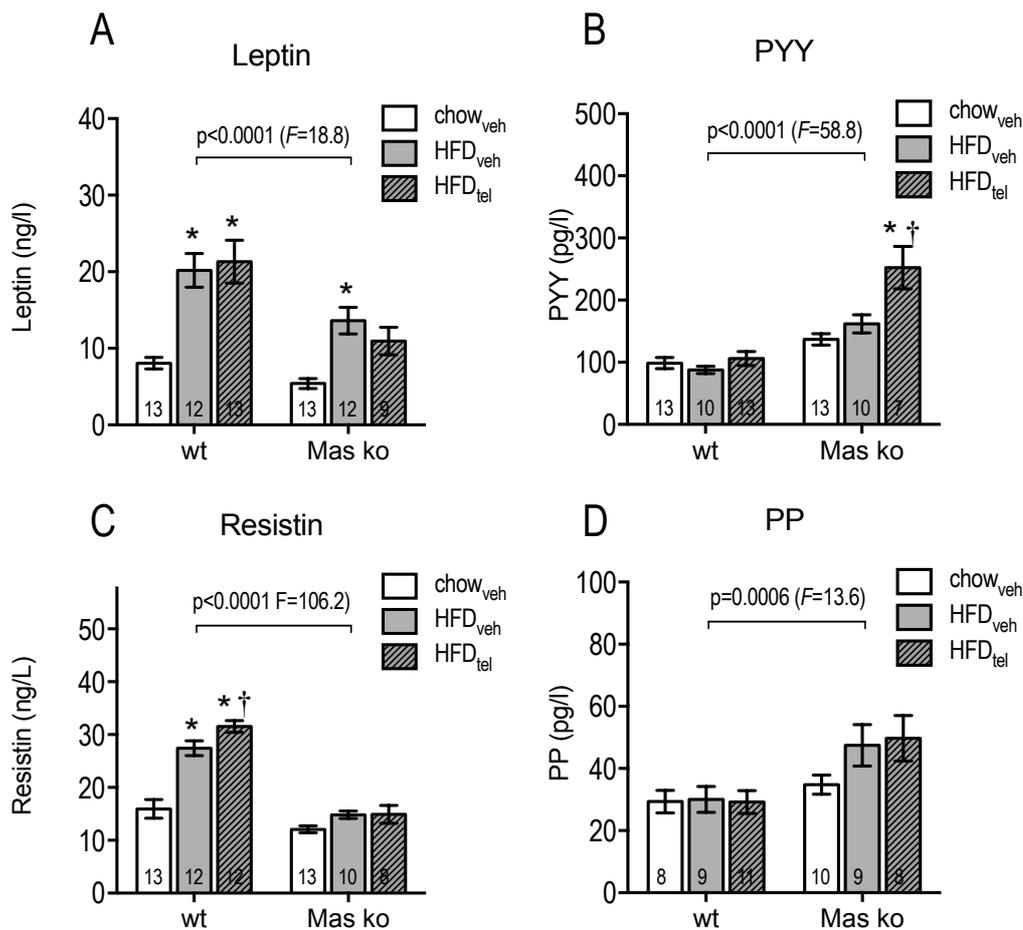


Abbildung 18: Plasmaspiegel der Adipozytokine/ gastrointestinalen Hormone (in ng/l und pg/l)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Leptin-Spiegel (in ng/l) (A, $F_{\text{Behandlung}}=19.9$, $p_{\text{Behandlung}}<0.0001$; $F_{\text{Interaktion}}=2.2$, $p_{\text{Interaktion}}=0.122$), PYY-Spiegel (in pg/l) (B, $F_{\text{Behandlung}}=11.6$, $p_{\text{Behandlung}}<0.0001$; $F_{\text{Interaktion}}=8.0$, $p_{\text{Interaktion}}=0.0008$), Resistin-Spiegel (in ng/l) (C, $F_{\text{Behandlung}}=28.9$, $p_{\text{Behandlung}}<0.0001$; $F_{\text{Interaktion}}=9.9$, $p_{\text{Interaktion}}=0.0007$), PP-Spiegel (in pg/l) (D, $F_{\text{Behandlung}}=1.4$, $p_{\text{Behandlung}}=0.245$; $F_{\text{Interaktion}}=1.4$, $p_{\text{Interaktion}}=0.263$). Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=9-13, * $p<0.05$ vs. chow_v, † $p<0.05$ vs. HFD_v nach Bonferroni-Korrektur

Leptin war in wt/chow_v durchschnittlich höher als in Mas ko/chow_v, dagegen waren das anorektische Peptid PYY in chow-gefütterten Mas ko-Mäusen höher. Hinsichtlich Resistin und PP zeigte sich zwischen diesen beiden Gruppen kein Unterschied, jedoch war Resistin insgesamt höher in wt-Mäusen, während PP insgesamt in Mas ko höher war als in wt (s. Abbildung 18). Die Leptin-Konzentration war in wt/HFD_v und auch in Mas ko/HFD_v im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht (s. Abbildung 18 A-B), wobei der Anstieg in wt deutlicher war. Eine erhöhter Leptinspiegel bei simultan erhöhtem Körpergewicht ist hinweisend auf eine mögliche Leptinresistenz. Die TEL-Therapie verhinderte den Leptin-Spiegel-Anstieg nur in Mas ko-Mäusen. Ein Anstieg von Resistin unter HFD konnte in den wt-Mäusen, nicht jedoch in der Mas ko-Gruppe beobachtet werden. Hier kam es zu einem zusätzlichen Anstieg unter Behandlung mit TEL. In den Mas ko-Mäusen veränderten sich die Resistin-Spiegel durch Diät und TEL-Gabe nicht. Daneben blieben die weiteren Adipozytokine durch TEL, neben einer selektiven Zunahme des PYY-Levels in Mas ko-Mäusen unter TEL-Behandlung, unbeeinflusst (s. Abbildung 18).

3.5.1 Leptinresistenz

Zur Ermittlung einer möglichen Leptinresistenz wurde die Entwicklung von Körpergewicht und Energieaufnahme nach exogener Leptin-Stimulation bestimmt.

Die Energieaufnahme von wt-Mäuse war höher als die von Mas ko-Mäusen (s. Abbildung 19 C). Unter HFD zeigten die Mäuse beider Genotypen trotz Leptin-Injektionen eine erhöhte Energieaufnahme (s. Abbildung 19 A-C), was eine Leptinresistenz indiziert. Nur in den Mas ko-Tieren bewirkte TEL eine Normalisierung der aufgenommenen Energiemenge, was den Rückschluss nahelegt, dass nur in diesen Tieren TEL eine Rekonstitution der Leptinsensitivität bedingt (s. Abbildung 19 B-C). Das Körpergewicht blieb durch die Leptin-Applikation und die veränderte Energieaufnahme unbeeinflusst (s. Abbildung 19 D-F).

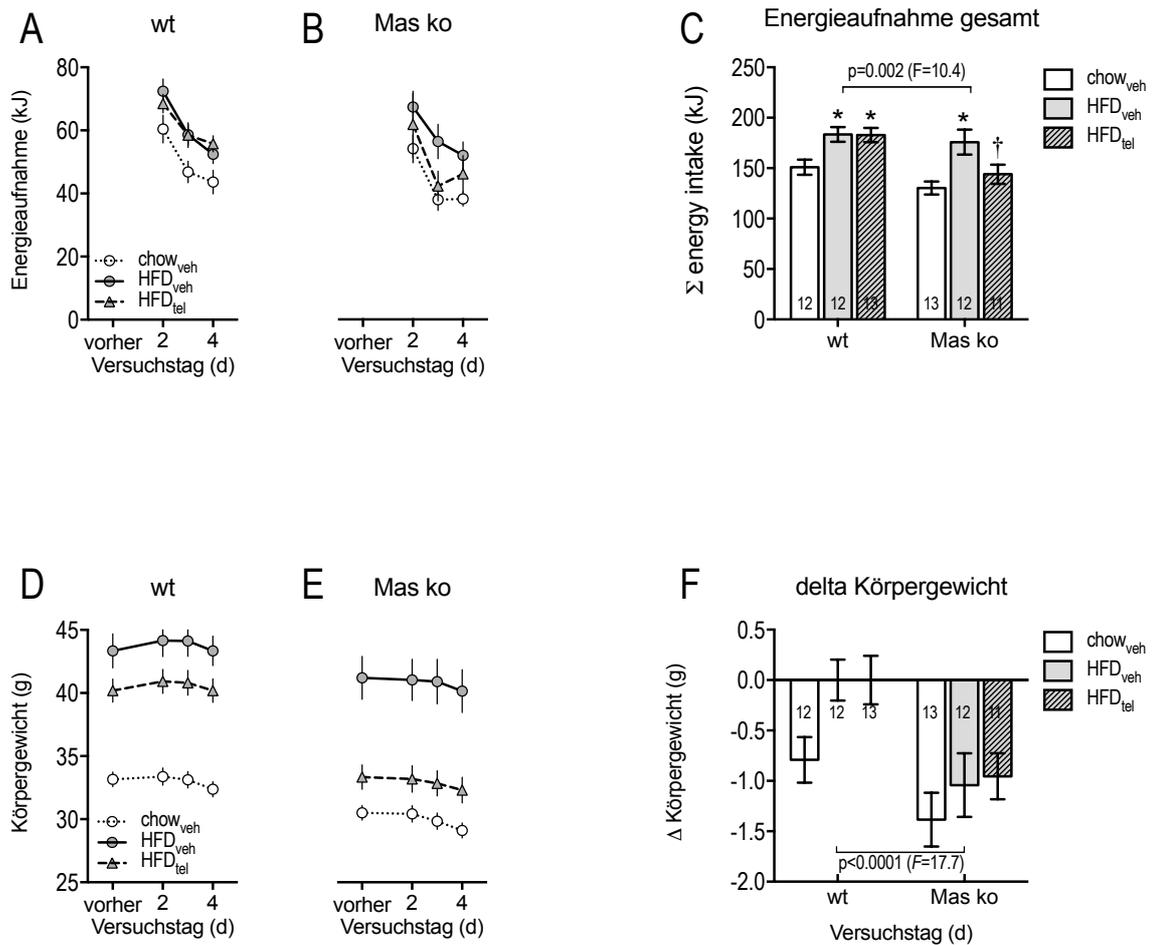


Abbildung 19: Leptinresistenztest (LRT)

Energieaufnahme (in kJ) im Verlauf als Reaktion auf eine repetitive Leptinapplikation in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Injektionszeitpunkte: d1: 17.00 Uhr; d2-3: 09.00 Uhr, 17.00 Uhr; d4: 09.00 Uhr (A-B). Kumulative Energieaufnahme (in kJ) d2-4 (C, $F_{\text{Behandlung}}=10.8$, $p_{\text{Behandlung}}<0.0001$). Körpergewicht (in g) im zeitlichen Verlauf (D-E). delta des Körpergewichts (in g) d4-d0 (F, $F_{\text{Behandlung}}=3.7$, $p_{\text{Behandlung}}=0.03$). Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Mittelwert \pm SEM. n=12-14, * $p<0.05$ vs. chow_V; † $p<0.05$ vs. HFD_V nach Bonferroni-Korrektur

3.6 Lipide

Die Lipid-Spiegel wurden mittels Roche/Hitachi Modular P Chemistry Analyser (Mannheim, Deutschland) bestimmt.

Im Gegensatz zu HDL und LDL bestand zwischen wt und Mas ko kein Unterschied bezüglich ihrer TG-Spiegel (s. Abbildung 20 C). HDL war niedriger und LDL war höher in wt-chow-Mäusen als in Mas ko (s. Abbildung 20 A-B). Die TG waren signifikant niedriger in sowohl beiden HFD_V als auch in beiden HFD_{TEL}-Gruppen als in den entsprechenden chow_V-Gruppen, es zeigte sich hier demnach kein Einfluss der TEL-Therapie (s. Abbildung 20 C). HDL stieg in beiden Stämmen nach HFD-Fütterung an, LDL blieb unbeeinflusst. Die zusätzliche TEL-Behandlung führte zu einer Erhöhung von LDL in HFD_{TEL} beider Stämme, die HDL-Spiegel beeinflusste sie nicht (s. Abbildung 20 A-B).

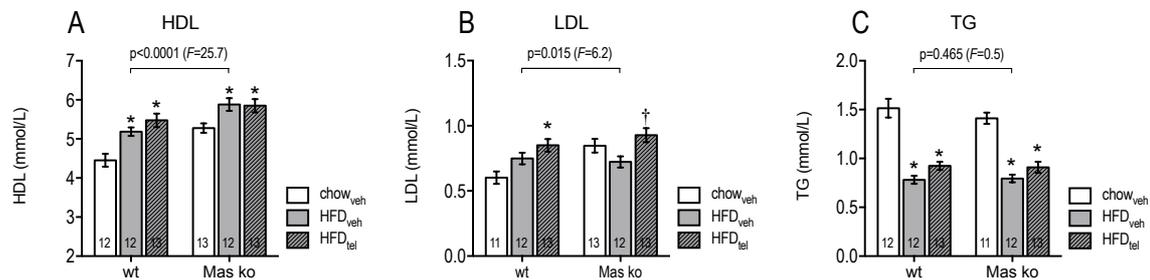


Abbildung 20: Lipid-Plasmakonzentration (in mmol/l) im Nüchternblut

von chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. HDL-Konzentration im Plasma (in mmol/l) (A, $F_{\text{Behandlung}}=15.9$, $p_{\text{Behandlung}}<0.0001$; $F_{\text{Interaktion}}=1.2$, $p_{\text{Interaktion}}=0.317$), LDL-Konzentration im Plasma (in mmol/l) (B, $F_{\text{Behandlung}}=7.3$, $p_{\text{Behandlung}}=0.001$; $F_{\text{Interaktion}}=3.8$, $p_{\text{Interaktion}}=0.026$), TG-Konzentration im Plasma (in mmol/l) (C, $F_{\text{Behandlung}}=72.4$, $p_{\text{Behandlung}}<0.0001$; $F_{\text{Interaktion}}=0.5$, $p_{\text{Interaktion}}=0.591$). Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. Darstellung der Daten im Balkendiagramm als Mittelwert \pm SEM. n=11-13, * $p<0.05$ vs. chow_V, † $p<0.05$ vs. HFD_V nach Bonferroni-Korrektur

3.7 mRNA der RAAS-Komponenten

Quantifiziert wurde die mRNA von AT_{1A/B}- und AT₂-Rezeptoren, Mas- und MrgD-Rezeptor, ACE, ACE2 und AOPEN in Herz, Fettgewebe und Hypothalamus der Mäuse.

Die mRNA von Mas war in den untersuchten Organen der Mas ko-Mäuse Null, was den knockout nachhaltig bestätigt (s. Abbildung 25). Im linken Ventrikel zeigte sich bei Fehlen des Rezeptors eine erhöhte Expression von ACE2, diese konnte im linken Ventrikel und im Hypothalamus nicht nachgewiesen werden (s. Abbildung 24). Außerdem waren die Expression von ACE und AOPEN im linken Ventrikel und im Hypothalamus herunterreguliert (s. Abbildung 22 A-B und Abbildung 23 A-B).

Ein Stammunterschied bezüglich AT_{1A}- und AT_{1B}-Rezeptoren bestand nicht. Durch die HFD oder die TEL-Behandlung wurde die Expression von AT_{1A}- und AT_{1B}-Rezeptoren weder in wt noch in Mas ko beeinflusst, abgesehen von erhöhten mRNA-Spiegeln für AT_{1A}-Rezeptoren in Mas ko/HFD_v und Mas ko/HFD_{TEL} (s. Abbildung 21).

Die AOPEN-Expression wurde durch TEL in den linken Ventrikeln von wt und Mas ko deutlich erhöht, sodass sich die HFD_{TEL}-Gruppe sowohl von der chow-Kontrollgruppe als auch von der HFD-Kontrollgruppe unterschied (s. Abbildung 22 A). Die HFD-Fütterung ohne TEL zeigte keinen Einfluss auf AOPEN-mRNA-Spiegel im linken Ventrikel oder Hypothalamus, jedoch zu einer Reduktion im Fettgewebe. Die TEL-Gabe führte hier zu einer Normalisierung der Expressions-Level. Im Hypothalamus zeigte sich kein Effekt der Diäten auf die verschiedenen mRNA-Level (s. Abbildung 22 A-C).

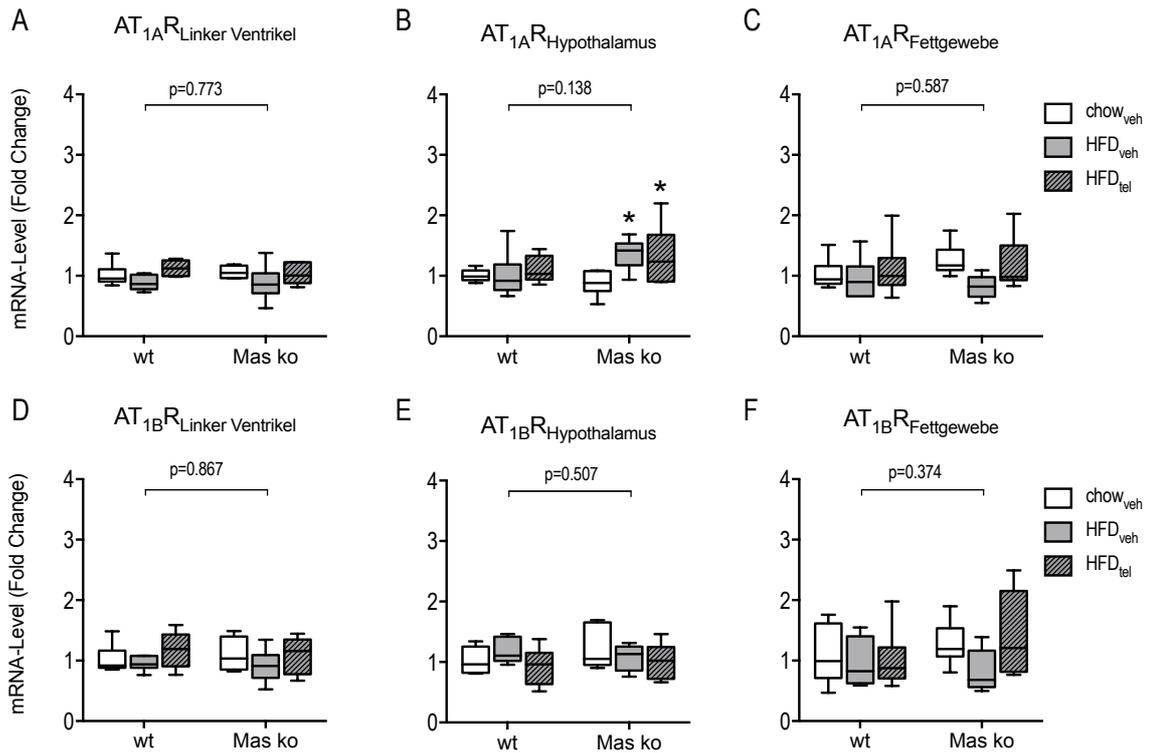


Abbildung 21: mRNA-Level von AT_{1A/B} Rezeptoren (in *Fold Changes*)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Darstellung der Daten als Median mit oberem und unterem Quartil als Boxplot. Die Antennen zeigen die Variabilität zwischen der 10. und 90. Perzentile an. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. n=6, *p<0.05 vs. chow_v, † p<0.05 vs. HFD_v

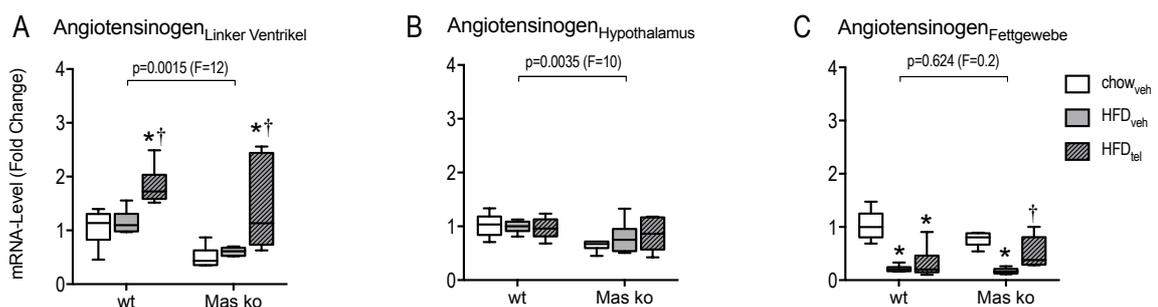


Abbildung 22: mRNA-Level von Angiotensinogen (in *Fold Changes*)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Darstellung der Daten als Median mit oberem und unterem Quartil als Boxplot. Die Antennen zeigen die Variabilität zwischen der 10. und 90. Perzentile an. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. n=6, * p<0.05 vs. chow_v, † p<0.05 vs. HFD_v

ACE wurde in den linken Ventrikeln von HFD-gefütterten Mäusen beider Genotypen im Vergleich zur Kontrollgruppe vermehrt exprimiert, die TEL-Behandlung normalisierte hier jeweils die Expression. In den anderen Geweben blieb die ACE-Expression durch die Diäten unbeeinflusst (s. Abbildung 23).

In Konsequenz der HFD war die mRNA für ACE2 im Fettgewebe beider Stämme vermindert. TEL normalisierte die ACE2-mRNA selektiv in den Mas ko-, nicht aber den wt-Mäusen. Daneben blieben ACE2-mRNA-Level unbeeinflusst (s. Abbildung 24).

Eine erhöhte Expression von Mas-Rezeptoren aufgrund von Diät oder Behandlung zeigte sich ausschließlich im linken Ventrikel von wt/HFD_{TEL} (s. Abbildung 25).

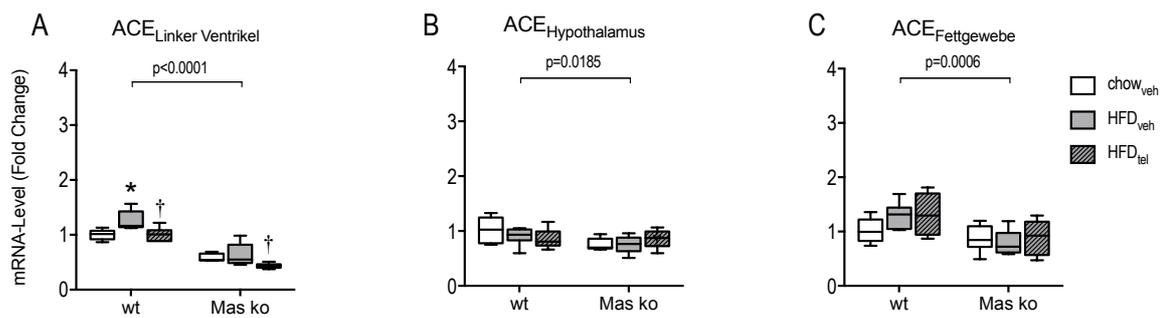


Abbildung 23: mRNA-Level von ACE (in *Fold Changes*)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Darstellung der Daten als Median mit oberem und unterem Quartil als Boxplot. Die Antennen zeigen die Variabilität zwischen der 10. und 90. Perzentile an. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. n=6, *p<0.05 vs. chow_v. † p<0.05 vs. HFD_v

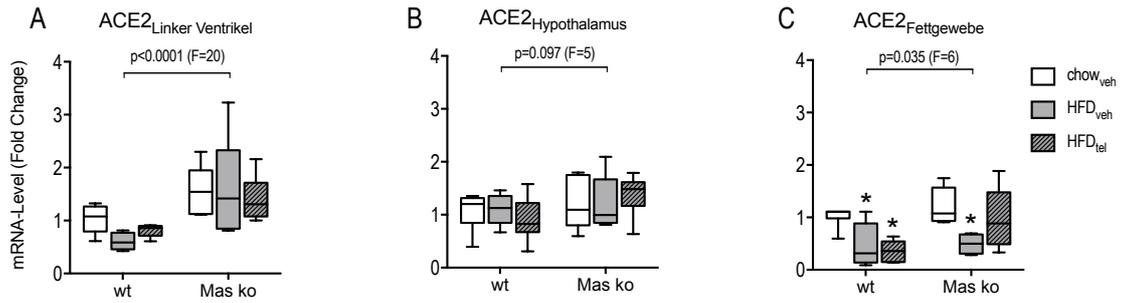


Abbildung 24: mRNA-Level von ACE2 (in Fold Changes)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Darstellung der Daten als Median mit oberem und unterem Quartil als Boxplot. Die Antennen zeigen die Variabilität zwischen der 10. und 90. Perzentile an. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. n=6, *p<0.05 vs. chow_v. † p<0.05 vs. HFD_v

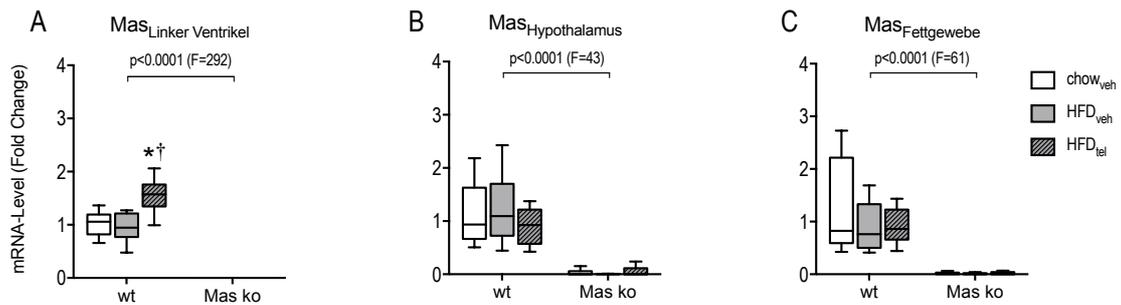


Abbildung 25: mRNA-Level von Mas (in Fold Changes)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Darstellung der Daten als Median mit oberem und unterem Quartil als Boxplot. Die Antennen zeigen die Variabilität zwischen der 10. und 90. Perzentile an. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. n=6, * p<0.05 vs. chow_v, † p<0.05 vs. HFD_v

MrgD-mRNA wurde in den drei untersuchten Geweben gleichermaßen exprimiert, wobei keine Abhängigkeit bezüglich Stamm, Diät und TEL-Behandlung gefunden wurde (s. Abbildung 26).

AT₂-Rezeptor-mRNA wurde in allen Geweben gleichermaßen exprimiert. Lediglich im Fettgewebe war die AT₂-Rezeptor-mRNA bei Mas ko-Mäusen im Vergleich zu wt-Kontrollen vermindert exprimiert, wobei kein Unterschied in Abhängigkeit von HFD und TEL gefunden wurde. (s. Abbildung 27).

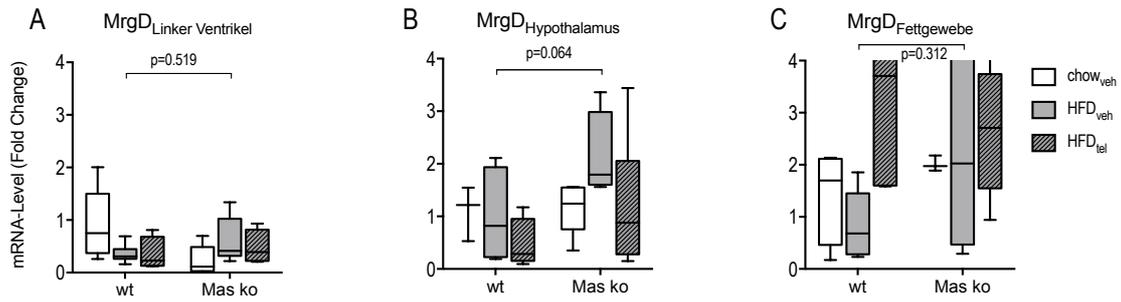


Abbildung 26: mRNA-Level von MrgD (in *Fold Changes*)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Darstellung der Daten als Median mit oberem und unterem Quartil als Boxplot. Die Antennen zeigen die Variabilität zwischen der 10. und 90. Perzentile an. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. n=6, * p<0.05 vs. chow_v, † p<0.05 vs. HFD_v

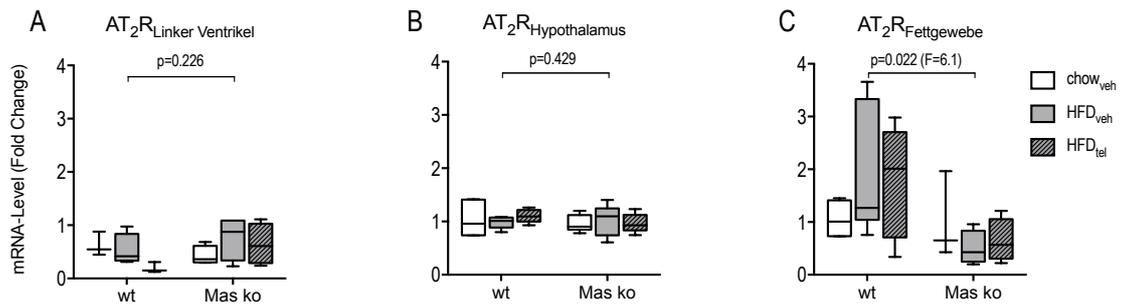


Abbildung 27: mRNA-Level von AT₂-Rezeptor (in *Fold Changes*)

in chow- oder HFD-gefütterten wt- und Mas ko-Mäusen, mit oder ohne Behandlung mit TEL. Darstellung der Daten als Median mit oberem und unterem Quartil als Boxplot. Die Antennen zeigen die Variabilität zwischen der 10. und 90. Perzentile an. Analyse des Einflusses von Stamm und Behandlung durch zweifache ANOVA. n=6, * p<0.05 vs. chow_v, † p<0.05 vs. HFD_v

4 Diskussion

Basierend auf pharmakologischen Ergebnissen unter Verwendung eines Mas-Antagonisten [34] erfolgte die Durchführung dieser Studie mit dem Ziel, im transgenen Modell zu bestätigen, dass der anti-adipöse Effekt einer ARB-Therapie (auch) auf einen Ang(1-7)-Mas-Rezeptor-abhängigen Mechanismus zurückzuführen ist. Hierzu wurden Mäuse mit ubiquitärem Mas ko verwendet, von welchen wir eine verstärkte Neigung zur Entwicklung von Adipositas sowie ein Ausbleiben der anti-adipösen ARB-Wirkung erwarteten. Im Gegensatz zu unserer Erwartung zeigten wir vielmehr, dass Diät-induziertes Übergewicht in den Mas ko-Mäusen weniger und die anti-adipöse und metabolisch begünstigende Wirkung von TEL in diesem Mausmodell sogar noch ausgeprägter war.

Diese Divergenz von aktuell ermittelten Daten zu vorausgegangenen Erwartungen, wirft die Frage nach ihrer Ursache auf. Um dieser Frage nachzugehen, werde ich im Folgenden zunächst die Ergebnisse dieser Studie im Vergleich zur Literatur darstellen, interpretieren und diskutieren. Im Anschluss daran folgt die ausführliche Diskussion möglicher Gründe für die sich abbildenden Inkongruenzen.

4.1 Entwicklung der Phänotypen unter chow- oder High-Fat-Diät

Unter einer kommerziellen HFD entwickelten wt-Mäuse im Vergleich zu Kontrolltieren Übergewicht. Sie zeigten ein verhältnismäßig erhöhtes Körpergewicht auch in Beziehung zur Körperlänge. Wir beobachteten weiterhin einen erhöhten Bauchumfang, eine Zunahme der viszeralen und subkutanen Fettmasse und eine gesteigerte Energieaufnahme zu jeder Tageszeit ohne Steigerung des Energieumsatzes. Die Tiere entwickelten das Bild einer Adipositas [36], [144]. Die Diät bedingte eine fast ausschließliche Verstoffwechslung von Fetten, welche sich in einem reduzierten RER darstellte [139]. Außerdem lassen ein erhöhter Nüchtern-BZ und Insulinspiegel im Plasma sowie eine verzögerte Glucose-Verstoffwechslung in den wt/HFD_v-Mäusen auf eine Insulinresistenz schließen, die Vorstufe und Ursache der Stoffwechselerkrankung DMT2. Erhöhte Resistin-Spiegel in den Tieren deuten zudem auf systemische Auswirkungen des Übergewichtes hin.

Resistin ist ein Adipozytokin, welches im Rahmen einer Adipositas-induzierten Insulinresistenz in unphysiologisch hoher Menge ausgeschüttet wird. Es ist wahrscheinlich an Entzündungsprozessen und der Ausbildung kardiovaskulärer Erkrankungen beteiligt [46], [145]. Dies lässt Rückschlüsse zu, dass die chronische *High-Fat*-Fütterung Prozesse in Gang setzt, welche zum MetS sowie dessen Komorbiditäten führen. Zu diesem zählt definitionsgemäß neben Bauchumfangsvermehrung und Hyperglykämie beim Menschen auch eine Dyslipidämie bzw. ein arterieller Hypertonus [2], [21].

Eine Dyslipidämie konnte in unseren Ergebnissen nicht abgebildet werden. Jedoch erscheinen die Resultate der Plasmalipid-Spiegel-Messungen insgesamt weniger plausibel, da, widersprüchlich zur allgemeinen Annahme und bestehenden Erkenntnissen, dass eine HFD eine Dyslipidämie verursacht [34], [146], [147], die HFD hier einen Triglycerid-Abfall und HDL-Anstieg hervorrief. LDL-Level änderten sich nicht signifikant, diese wären im Falle einer Dyslipidämie erhöht.

Die Blutdruckwerte der Mäuse wurden im Rahmen dieser Studie nicht direkt bestimmt. Jedoch besaßen die wt/HFD_V-Mäuse nachweislich ein erhöhtes Gewicht des linken Ventrikels, welches als Konsequenz einer Nachlaststeigerung durch einen arteriellen Hypertonus interpretiert werden kann. Eine mutmaßliche Gefäßschädigung durch Hyperglykämie und erhöhte Resistin-Spiegel wäre zudem ein Hypertonie-begünstigender Faktor.

Insgesamt kommt diese Versuchsgruppe einem Modell des MetS damit sehr nahe. Diese Ergebnisse bestätigen vorausgegangene Ergebnisse unserer und weiterer Arbeitsgruppen [33], [146]–[149] und damit auch unsere Erwartungen in Bezug auf die Effekte einer HFD.

Infolge der HFD wurden auch die Mas ko-Mäuse übergewichtig und leptinresistent. Der Effekt war jedoch geringfügiger ausgeprägt als in den wt-Kontrollen. Es ergab sich zudem kein Anhalt für eine Insulinresistenz, noch wurde der Resistin-Spiegel der Tiere beeinflusst. Lediglich die Zunahme an viszeralem Fettgewebe war in den ko-Tieren im Vergleich zu den Wildtypen verstärkt zu beobachten. Während wt/HFD_V-Mäuse ein erhöhtes Lebergewicht und damit vermutlich eine Steatosis hepatis entwickelten, blieb dieser Effekt in Mas ko aus. Insgesamt scheinen die Mas

ko-Tiere unserer Studie damit gegen die Auswirkungen der HFD zumindest teilweise geschützt, einhergehend mit einem generell vermehrten Energieumsatz und einem aktiveren Bewegungsprofil der Mas ko-Tiere bei normaler Energieaufnahme. Wenn also die Kombination aus inaktivem Lebensstil und übermäßiger Kalorienzufuhr als maßgeblich ursächlich für die Entwicklung einer Adipositas gilt [37], [38], so trifft sie auf dieses Mas ko-Maus-Modell nicht zu.

Diese Beobachtungen stehen im Kontrast zu unseren Erwartungen und sind teils gegensätzlich zu früheren Befunden. Mit dem Wissen, dass Ang(1-7) als Ligand an den Mas-Rezeptor bindet [57], [59], [60], [64], gingen wir davon aus, dass ein ubiquitärer ko des Mas-Rezeptors gegensätzliche Auswirkungen zu einer Aktivierung der Ang(1-7)/Mas-Achse bewirkt. In vorausgegangenen Untersuchungen zeigten Tiere mit einer stimulierten Ang(1-7)/Mas-Achse metabolisch günstig zu bewertende Eigenschaften. Ang(1-7)-überexprimierende TGR(A1-7)-Ratten z.B. wiesen einen höheren Energieumsatz auf. Trotz HFD konnte in diesen Tieren weiterhin eine Leptinsensitivität beobachtet werden [34], [112], [114]. Solche transgenen Ratten und auch wt-Ratten, die mit Ang(1-7) behandelt wurden, waren vor der Entwicklung einer diät-assoziierten Adipositas geschützt [34], [113]. Wir erwarteten demnach eine verstärkte Entwicklung von Adipositas in den Tieren mit Mas-Defizit, welche wir nicht nachweisen konnten. Jedoch konnte ein geringeres Körpergewicht und eine geringe epididymale Fettmasse in Mas ko-Mäusen verglichen zu Wildtypen neben dieser Studie auch bereits in anderen Arbeiten beschrieben werden [123], [150]. *Wang et al.* zeigten, dass eine diät-induzierte Adipositas in Mas ko-Mäusen nicht stärker ausgeprägt ist als in Wildtyp-Kontrollen [151] und auch in einer Studie von *Santos et. al. 2008*, die einen verschlechterten Metabolismus der Mäuse herausstellte, blieb eine signifikante Erhöhung des Körpergewichts durch einen Mas ko aus [119]. Daraus ergibt sich eine Diskrepanz zwischen Daten zum Körpergewicht die aufgrund eines Mas ko und solchen die aufgrund von erhöhten Mengen Ang(1-7) generiert wurden. Es stellt sich hier also die Frage, ob die Auswirkungen von Ang(1-7) auf das Körpergewicht möglicherweise nicht über Mas sondern andere Signalkaskaden ausgelöst werden. Diese Überlegung soll im weiteren Verlauf ausführlich diskutiert werden.

In ihrer Studie von 2008 zeigten *Santos et al.* auch, dass Mas ko-Mäuse mit FVB/N-Hintergrund unter einer Standard-Diät höhere Level von Insulin und Leptin und eine um 50% erhöhte epididymale und retroperitoneale abdominelle Fettmasse ausbildeten. Daneben waren TG im Plasma und verschiedenen Organ-Geweben erhöht, GLUT4-Transporter und damit im weiteren Sinne die Insulinsensitivität waren reduziert [119]. Auch in Apolipoprotein E (ApoE) ko-Mäusen, einem Mausmodell für Dyslipidämie und Artherosklerose, verschlechterte sich unter einem zusätzlichen Mas ko (*Mas/ApoE-double-knockout*) die Dyslipidämie deutlich [60], [123], [152]. Es wurde zudem bereits mehrfach gezeigt, dass Ang(1-7) als Ligand des Mas-Rezeptors eine Verbesserung von Insulin-Sensitivität und Glucose-Homöostase, auch bei bereits bestehender hyperglykämischer Stoffwechsellage, bewirken konnte [34], [79], [111], [119]–[121], [152], [153], [157].

Eine erhöhte abdominelle Fettmasse konnte in unseren Mas ko-Tieren mit chow-Fütterung nicht gemessen werden (s. Anhang 1), jedoch erreichten die Mas ko-Tiere unter HFD-Regime trotz geringerer Körpergewichte als wt/HFD_v eine im Vergleich höhere viszerale Fettmasse. Entsprechend bestätigen unsere Ergebnisse, dass ein Mas ko eine Zunahme der abdominellen Fettmasse bzw. eine Umverteilung zugunsten des viszeralen Fettes fördert. Hingegen waren die Plasma-TG-Konzentrationen von Mas ko-Mäusen nach chow-Fütterung, im Gegensatz zu oben genannter Literatur, in unserer Studie unbeeinflusst (s. Anhang 1). Unter einer HFD kam es zum Abfall der TG im Plasma, wie jedoch bereits erläutert, steht dieser Effekt im Widerspruch zur allgemeinen Annahme und Erkenntnis eines wenn überhaupt verschlechterten Lipid-Profiles unter HFD [34], [146], [147]. Da wir den gleichen Effekt in wt-Mäusen sahen, kann er nicht durch den Mas ko begründet werden. Daneben stiegen HDL und LDL, anders als in wt-Mäusen, simultan an, sodass von einer Beeinflussung der Plasmalipidspiegel durch den ko ausgegangen werden kann.

Mas ko/chow und Mas ko/HFD_v-Tiere zeigten im Vergleich zu den wt-Gruppen keine Verschlechterung der Insulinsensitivität (s. Anhang 1). Insbesondere die Mas ko-Mäuse unter HFD-Fütterung, welche tendenziell eine schlechtere Glucosehomöostase als ihre chow-Kontrollen aufwiesen, waren durch die HFD weniger beeinträchtigt als die entsprechende wt-Gruppe. Auch *Silva et al. 2013*

konnten in Mäusen mit C57BL6/N-Hintergrund keinen Einfluss des Mas ko auf den Insulin-Spiegel nachweisen [123]. In einer Studie von *Braga et al.* wurde ebenfalls an C57BL6/N-Mäusen nachgewiesen, dass Insulin-Plasma Level in Mas ko-Mäusen aufgrund einer reduzierten Zahl an vorhandenen β -Zellen vermindert waren [156]. Dies könnte womöglich auch in unserer Studie den geringeren Einfluss der HFD in Mas ko-Mäusen auf den Insulinspiegel erklären. Dabei würden wir jedoch als Folge einer verminderten Insulin-Sekretion einen Anstieg des Nüchtern-BZ erwarten, welcher durch die HFD zwar ausgelöst wurde, aber verhältnismäßig niedriger blieb als in den wt-Kontroll-Gruppen. Weiterhin bestünde außerdem die Diskrepanz zur Studie von *Santos et al. 2008*, welche eine Insulinresistenz in Mas ko-FVB/N-Mäusen unter Standard-Diät feststellte. Da der Glucose- und Insulin-Spiegel als störanfällig gelten und von vorausgehender Fastenzeit, Tageszeit, Fütterungsgewohnheiten, genauer Diät-Zusammensetzung und Stressexposition im Rahmen der Messungen abhängig sind, könnten bereits kleine Unterschiede im Versuchsaufbau diese ungleichen Ergebnisse begründen. Insbesondere da in Mäusen aufgrund spezifischer Nahrungsgewohnheiten nicht grundsätzlich von einem Fasten-Effekt wie im Menschen ausgegangen werden kann [137]. Die Inkongruenzen zwischen *Silva et al.*, *Braga et al.* und *Santos et al.* sowie unserer Studie könnten außerdem auch durch die unterschiedlichen genetischen Hintergründe der Mäuse bedingt sein. Die Ergebnisse unserer Studie suggerieren, ein Mas ko schütze vor der Ausbildung einer Insulinresistenz. Dieser Zusammenhang ergäbe einen erneuten Hinweis auf einen möglicherweise Mas-unabhängigen Ang(1-7)-Effekt.

Trotz Zunahme an Körpergewicht, Leptinresistenz und Tendenzen zur Einschränkung der Insulinsensitivität führte die HFD in Mas ko-Mäusen zu keiner Veränderung des Resistin-Spiegels, welche in wt-Tieren durch die fettreiche Diät deutlich erhöht war. Dies wirft die Frage auf, ob möglicherweise akkumulierendes Ang(1-7) Resistin reguliert. Allerdings hatten *Oliveira Andrade et al. 2014* bereits gezeigt, dass Ang(1-7) in HFD-gefütterten Mäusen Resistin nicht beeinflusst [157] und auch für Ang II konnte keine Beeinflussung der Resistin-Gen-Expression oder Sekretion in Adipozyten nachgewiesen werden [158]. Wie auch die Ergebnisse von *Heringer-Walther et al. 2012* zeigten, war die Nahrungs- und Energieaufnahme von

chow-gefütterten Mas ko-Mäusen im Vergleich zu ihren Wildtyp-Kontrollen unverändert (s. Anhang 2). Auch Santos et al. 2008 zeigten keine wesentliche Veränderung der Energieaufnahme durch den knockout [119], [159]. Diese Resultate lassen vermuten, dass die Effekte der Ang(1-7)/Mas-Achse insbesondere den Metabolismus selbst und weniger Appetit und Kalorienaufnahme beeinflussen. Generell maßen wir daneben in den Mas ko-Tiere unserer Studie im Vergleich zu wt-Mäusen höhere Level des PP, ein gastrointestinales Hormon aus dem Pankreas, welches die Nahrungsaufnahme reduziert und den Energieumsatz steigert [160], [161]. Während sich auf die Nahrungsaufnahme keine Effekte der PP-Erhöhung darstellten, wäre ein Einfluss auf den Energieumsatz möglich. Bezüglich der Frage ob Ang(1-7)/Mas die PP-Sekretion hemmen oder fördern kann, bestehen bislang keine weiteren Daten.

4.2 Auswirkungen einer chronischen Applikation von Telmisartan

Auch in Bezug auf die Auswirkungen der TEL-Therapie unterschieden sich unsere Resultate zu den vorangestellten Hypothesen. Die Mäuse der wt/HFD_{TEL}-Gruppe erreichten wie angenommen tendenziell ein niedrigeres Körpergewicht als die Mäuse, welche zur HFD ausschließlich Placebo erhielten. Trotzdem war die Gewichts-zunahme dabei im Vergleich zur chow-Gruppe noch signifikant verstärkt. Damit war der Effekt der TEL-Therapie sichtbar, jedoch weniger drastisch als erwartet. Die AG Raasch hatte bereits mehrmals gezeigt, dass TEL in der Lage ist, nach einer Behandlungszeit von über 40 Tagen das Gewicht von HFD-gefütterten Mäusen auf das Gewicht von chow-gefütterten Mäusen zu normalisieren (s. Anhang 3) [33], [98]. Auch anhand von Ratten konnte die Arbeitsgruppe diesen protektiven Effekt und sogar eine kurative Wirkung durch TEL in Bezug auf Übergewicht demonstrieren [32], [34], [93]–[95]. Leptin- und Resistin-Spiegel blieben in den übergewichtigen Wildtypen unserer Studie durch die TEL-Therapie unbeeinflusst und damit erhöht. Da die Studien der AG Raasch überwiegend unter gleichen Versuchsbedingungen erfolgten, sind diese Divergenzen hinweisend auf einen relevanten Spezies- und Stammes-Unterschied hinsichtlich der Wirkungen von TEL in Nagern. Auch dieser soll im Weiteren genauer erläutert werden.

Da eine vorausgegangene Studie der AG Raasch beweisen konnte, dass der Mas-Rezeptor-Antagonist A-779 in der Lage ist, den gewichtsreduzierenden Effekt von TEL in Ratten zu antagonisieren und da außerdem SD-Ratten unter Behandlung mit einem oral verabreichten Ang(1-7) bzw. Überexpression von Ang(1-7) vor einer diätinduzierten Adipositas geschützt waren [34], [112], [120], erwarteten wir eine Einschränkung der TEL-Wirkung im Falle eines Mas-Rezeptor ko. Hingegen war in unserer Studie die HFD-bedingte Gewichtszunahme durch die TEL-Therapie in der Mas ko-Gruppe deutlich vermindert. Damit war der anti-adipöse Effekt von TEL in Mas ko- wider Erwarten stärker als in wt-Mäusen. Eine TEL-Behandlung verbesserte auch die Leptin-Sensitivität in Mas ko-Mäusen, jedoch nicht in den Wildtypen, welche durch die HFD eine Leptinresistenz entwickelten. Letzteres steht im deutlichen Widerspruch zu Ergebnissen von TEL-behandelten C57BL/6-Mäusen unter HFD-Fütterung, welche neben Übergewicht auch vor einer Leptinresistenz geschützt waren [33]. Ein Einfluss des C57BL/6- bzw. FVB/N-Hintergrundes auf den Effekt einer TEL-Behandlung lässt sich auch hier vermuten. Zudem ist aufgrund der genannten Erkenntnisse zur Antagonisierung der TEL-Wirkung durch A-779 verwunderlich, dass der Mas ko die TEL-Wirkung noch fördert. Auch hier wäre ein Spezies-Unterschied als Ursache denkbar. Fraglich ist aber auch, ob die pharmakologische Mas-Blockade durch A-779 sich von der genetischen unterscheidet und möglicherweise zusätzliche Faktoren beeinflusst. Weitere Hinweise hierzu bestehen bislang keine.

Die HFD führte insbesondere in unseren wt-Tieren zu einem erhöhten Lebergewicht mit Steatose. Durch die TEL-Behandlung wurde das Lebergewicht in den Tieren beider Stämme deutlich reduziert. Dies zeigten auch weitere Untersuchungen, in welchen außerdem die Normalisierung der Steatosis beschrieben werden konnte [93], [102], [162]. Entsprechend wäre im Falle unserer Studie die Rückbildung der Steatosis hepatis unter TEL-Therapie plausibel. Außerdem indiziert dieser Zusammenhang erneut eine Mas-unabhängige Wirkung von TEL.

Übereinstimmend mit der Beobachtung, dass Ang II über AT₁R einen insulinresistenten Status fördert und eine RAAS-Blockade entsprechend die Insulinsensitivität erhält bzw. verbessert, zeigte auch in den HFD-gefütterten wt-Mäusen unserer Studie die TEL-Behandlung protektive Tendenzen bezüglich der

Ausbildung einer Insulinresistenz [32], [78], [80], [86], [89], [102]. In Mas ko beobachteten wir keine Beeinflussung der Insulinsensitivität durch HFD oder TEL, sodass offenbleibt, ob TEL an dieser Stelle protektive Auswirkungen hat. Kürzlich war gezeigt worden, dass A-779 in Ratten auch die HFD-bedingte Insulinresistenz vollständig aufheben kann [34]. Auffällig war weiterhin ein isolierter Anstieg von PYY in Mas ko/HFD_{TEL}-Tieren, zumal in dieser Gruppe keine verminderte Nahrungsaufnahme beobachtet wurde. PYY gilt als anorektisches Peptid, da es postprandial für Sättigung und damit eine Reduktion der Nahrungsaufnahme sorgt [163]. Es wurde bereits gezeigt, dass die Ang II-induzierte Freisetzung von PYY aus Primärkulturen und Maus- und menschlichem Kolon durch ARB blockiert werden konnte [164]. Fraglich ist also, ob eine mögliche Interaktion zwischen PYY und Ang(1-7)/Mas besteht. PP blieb daneben durch Diät oder TEL unbeeinflusst und scheint damit für den gewichtsreduzierenden Effekt von TEL nicht entscheidend.

In Bezug auf die Plasmalipid-Spiegel zeigte sich, dass LDL durch TEL im Plasma beider Mauslinien noch weiter erhöht wurde und TG und HDL durch das Medikament unbeeinflusst blieben. Dazu konträr zeigte die AG Raasch in vorausgegangenen Studien niedrigere LDL-Werte in Ratten unter einem hochkalorischen Nahrungsregime mit simultaner TEL-Behandlung im Vergleich zu solchen, welche neben der hochkalorischen Diät kein TEL erhielten [34], [35]. Auffällig war des Weiteren in den TEL-behandelten Mäusen ein deutlich reduziertes Gewicht des linken Ventrikels. Dieses führen wir am ehesten auf eine adäquate antihypertensive Wirkung des Medikaments zurück [31], aufgrund welcher bei niedrigem arteriellen Druck und damit reduzierter Nachlast einer Hypertrophie des Herzens entgegengewirkt wird.

4.3 Expression der mRNA einzelner RAAS-Komponenten

Hinsichtlich der Expression der RAAS-Komponenten in unseren Versuchsgruppen beobachteten wir, dass die Expression von AT₁R im linken Ventrikel durch den Mas ko unverändert blieb und gleichzeitig ACE2 vermehrt exprimiert wurde. Dies zeigten auch *Guimaraes et al. 2012* [150]. Die Arbeitsgruppe zeigte jedoch auch, dass ACE

durch den knockout unbeeinflusst blieb, während wir eine reduzierte Expression von ACE und AOPEN im linken Ventrikel von Mas ko-Mäusen messen konnten. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die ACE2/Ang(1-7)/Mas-Achse im Sinne eines feedback-Mechanismus durch das Mas-Defizit stimuliert wurde. Diese Vermutung würde auch die Annahme eines Mas-unabhängigen Ang(1-7)-Effektes auf den Metabolismus von Mas ko-Mäusen erhärten. Weiterhin stellten wir jedoch fest, dass ACE2 und AOPEN im Fettgewebe von wt- und Mas ko-Mäusen unter Fütterung mit einer HFD reduziert war. Gleiches zeigte sich auch in geringerem Maße in den linken Ventrikeln von wt-Mäusen. Auch in übergewichtigen HFD-gefütterten wt-Mäusen konnte bereits eine reduzierte ACE2-Expression im Nierengewebe nachgewiesen werden [165]. Zuvor zeigten *Gupte et al.* aber auch, dass im Fettgewebe männlicher C57BL6/N-Mäuse unter 4 Monaten einer HFD-Fütterung die ACE2-mRNA erhöht war. Zeitgleich beobachteten sie jedoch eine reduzierte Enzym-Aktivität [75]. Diese Ergebnisse lassen schlussfolgern, dass die anti-adipöse Wirkung von Ang(1-7) möglicherweise weniger ausgeprägt sein könnte als vermutet. Außerdem erhärtet sich der Verdacht eines relevanten Unterschiedes des Metabolismus von FVB/N- und C57BL6/N-Mäusen. Die TEL-Therapie führte wie erwartet zu einer gesteigerten AOPEN-Expression im Herzmuskel und Fettgewebe im Sinne einer negativen Rückkopplung nach AT₁R-Blockade.

4.4 Erklärungsversuche für die Diskrepanz der eigenen Ergebnisse zu den Literaturbefunden

Um die Diskrepanz zwischen erwarteten und tatsächlich erzielten Effekten des genetischen knockout und von TEL auf die Gewichtsregulation und metabolischen Parameter in FVB/N-Mäusen zu klären, müssen verschiedene potentielle Ursachen in Erwägung gezogen werden und werden im Folgenden diskutiert.

Zunächst stellte sich uns an dieser Stelle die Frage, ob die Mauslinien bei zunächst identischem Aussehen im Rahmen der Gruppierung, Versendung oder des Versuchsablaufs vertauscht worden sein könnten. Diese Möglichkeit konnte jedoch durch eine Re-Genotypisierung mittels qPCR bereits eindeutig ausgeschlossen

werden. Hier wurde herausgestellt, dass der Mas-Rezeptor in Organen der Mas ko-Mäuse nicht exprimiert wurde.

Zweitens muss der Unterschied zwischen den Spezies Ratte und Maus im Vergleich der unterschiedlichen Studien berücksichtigt werden. Da bereits 1987 bzgl. der Ausprägung des RAAS-Systems in Organen der beiden Spezies Verschiedenheiten erwiesen wurden [166], ist dieser Unterschied ursächlich nicht auszuschließen, auch wenn er unterschiedliche Ergebnisse zwischen verschiedenen Maus-Studien nicht erklärt. Ungleichheiten in der Expression und Aktivität der ACE2/Ang(1-7)/Mas-Achse wurden bisher nicht veröffentlicht, sind jedoch im Kontext als plausible Möglichkeit zu betrachten. Gegebenenfalls findet sich hier die Ursache, warum in SD und Spontan Hypertensiven Ratten durch TEL-Gabe eine diätinduzierte Gewichtszunahme vollständig verhindert wurde, in den hier untersuchten FVB/N-Mäusen jedoch nur zum Teil [34], [35], [91], [93], [97].

Drittens muss auch der FVB/N-Hintergrund der Mäuse als mögliche Ursache von Divergenzen in Betracht gezogen werden. Die vorausgegangenen Maus-Studien der AG Raasch erfolgten an C57BL/6-Mäusen. Die jetzige Studie führten wir an FVB/N-Mäusen mit ubiquitärem Mas ko durch, gezüchtet und zur Verfügung gestellt durch das MDC Berlin. Folgend aufgezeigte Beobachtungen unserer und anderer Forschungsgruppen lassen vermuten, dass der genetische Hintergrund der Mäuse maßgeblich an Inkongruenzen zwischen den Daten beteiligt ist. Wie in Anhang 3 dargestellt konnte TEL in den Maus-Studien der AG Raasch bei wt-C57BL/6-Mäusen eine diät-induzierte Adipositas vollständig verhindern [33], [98], während dieser Effekt in wt-FVB/N-Mäusen nur teilweise eintrat. Die Versuche erfolgten unter den gleichen Versuchsbedingungen, womit die Ergebnisse von Fütterungs- bzw. Behandlungszeit und Ort unabhängig sind. Dies legt die Vermutung nahe, dass sich die beiden Maus-Stämme hinsichtlich ihrer Expression einzelner RAAS-Komponenten unterscheiden und sich damit ein relevanter Einfluss des Maus-Stammes auch auf die metabolische Funktion des RAAS ergibt. Schlüssig ist diese Vermutung in Anbetracht der Tatsache, dass C57BL/6- und FVB/N-Mäuse Unterschiede hinsichtlich metabolischer Parameter aufweisen. *Colombo et al.*, *Braga et al.* und *Montgomery et al.* stellten in ihren Untersuchungen heraus, dass sich C57BL/6- und FVB/N-Mäuse hinsichtlich Entwicklung des Körpergewichtes,

Stoffwechselaktivität, Lipidprofil, Insulinsensitivität und der Reaktion auf eine HFD unterscheiden. Eine Übersicht der einzelnen Parameter findet sich in Anhang 5 [119], [148], [149], [156], [167].

Auch bezüglich der Auswirkung eines Mas ko auf das Körpergewicht und die Fettmasse in C57BL6/N- oder FVB/N-Mäusen ergibt sich im Vergleich kein eindeutiges Muster. Der ko des Mas-Rezeptors führte in den beiden Linien zu Veränderungen ihres Phänotyps. Eine Gegenüberstellung unserer und vier weiterer Studien hinsichtlich des Genotyps, Alters, Geschlechts, Körpergewichts und der Fettmasse von Mas ko-Tieren im Vergleich zu wt-Tieren zeigt die Tabelle in Anhang 4. Zudem führte der knockout von Mas in FVB/N-Mäusen zu erhöhten arteriellen Blutdruck-Werten, in C57BL6/N hingegen nicht [124]–[126], [168], [169]. Und auch andere genetische Veränderungen haben in FVB/N- oder C57BL6/N-Mäusen einen unterschiedlichen Ausprägungsgrad in deren Phänotyp. So bewirkt z.B. das oben bereits näher erläuterte ApoE-Defizit in C57BL6/N-Mäusen eine stärkere Entwicklung atherosklerotischer Läsionen der Gefäße als in Mäusen mit FVB/N-Hintergrund [170]. Das gentechnisch modifizierte Mausmodell A-ZIP/F-1 (AZIP) bildet kein weißes Fettgewebe aus und entwickelt dadurch eine ausgeprägte Form der Insulinresistenz. Je nach genetischem Hintergrund, C57BL6/N oder FVB/N, weisen die Mäuse unterschiedliche Mengen an insulinresistentem Muskel- und Lebergewebe auf [167]. Zur eindeutigen Klärung, ob der genetische Hintergrund auch die TEL-Wirkung in Mas ko-Tieren beeinflusst, bedarf es folglich weiterer Untersuchungen unter Einschluss von Mas ko-C57BL6/N-Mäusen.

Viertens ergab sich bereits im Vorausgegangenen die Überlegung, dass eine Ang(1-7)-Wirkung unabhängig von Mas stattgefunden haben könnte. Es bestehen bereits Erkenntnisse, dass Ang(1-7) nicht ausschließlich über seinen Rezeptor Mas agiert. Dies würde erklären warum Ang(1-7) die Entwicklung von Übergewicht verhindert [34], [114], [120], ein Mas ko andersherum Übergewicht aber nicht begünstigt, wie in den hier generierten Ergebnissen abgebildet. Neben dem ACE/Ang II/AT₁R-System und der ACE2/Ang(1-7)/Mas-Kaskade stellt Angiotensin A/Alamandine/MrgD eine weitere Achse des RAAS dar (s. Abbildung 1). Die Kaskaden über die Aktivierung von Mas und MrgD zeigen eher gesundheitlich protektive Effekte, während Ang II, III und IV tendenziell gesundheitsschädigende

Wirkungen bedingen [54], [59], [61]–[63]. Nach anfänglicher Annahme, Alamandine binde ausschließlich an den MrgD-Rezeptor [65], zeigte die AG *Walther* kürzlich, dass auch Mas als Rezeptor für Alamandine fungiert. Daneben zeigten sie außerdem, dass Ang(1-7) als Agonist an MrgD bindet. Gemessen wurde dazu die cAMP-Bildung als Quantifizierung des intrazellulären Signalings [66]. Durch *Tetzner et al.* wurde Ang(1-7) bereits 2 Jahre zuvor als Peptid mit protektiven Eigenschaften hinsichtlich kardiovaskulärer Erkrankungen über die Stimulation von Mas oder auch MrgD identifiziert [67]. Damit wäre eine Ang(1-7)-Wirkung bzw. auch eine Alamandine-Wirkung über MrgD als Ursache der ausgeprägten TEL-Effekte in Mas ko plausibel und könnte diese zumindest teilweise erklären. Leider wurden über MrgD ko-Mäuse nur wenige Daten veröffentlicht, wobei bisher keine Daten zum Körpergewicht der Tiere existieren [63], [66], [67]. In Bezug auf die Regulation von Körpergewicht konnte für Alamandine aber bereits nachgewiesen werden, dass es die Leptin-Sekretion und -Expression in Adipozyten in vitro reduziert und in vivo die Plasmaleptin-Spiegel senkt [171]. Eine Gewichtsreduktion durch MrgD-Stimulierung nach TEL-Therapie ist damit denkbar, zumal sowohl Ang II als auch Ang(1-7) und Alamandine unter TEL-Behandlung in ihrer Konzentration ansteigen [127], [128]. Doch zusätzliche Ergebnisse von *Uchiyama et al.* lösen auch Zweifel bezüglich der Frage aus, ob Alamandine die Freisetzung von Leptin wirklich inhibiert [171] und damit, ob die gerade genannte Schlussfolgerung wirklich richtig ist. So zeigten sie in derselben Studie, dass 10 nM Ang II keinen Effekt auf die Leptin-Sekretion im Fettgewebe zeigten, während mehrere andere Autoren bereits eine Leptin-Sekretion mit Dosen bis zu 10nM Ang II provozieren konnten [106], [172], [173]. Auf der anderen Seite zeigten sie durch Ang(1-7) eine dosisabhängige Steigerung der Leptin-Sekretion aus Fettgewebe und isolierten Adipozyten mit einem Maximaleffekt bei 10nM, während wiederum *Li et al.* herausfanden, dass Ang(1-7) die Leptin-Sekretion aus reifen viszeralen Adipozyten dosisabhängig inhibierte [172]. Unter Berücksichtigung unserer Erkenntnisse, dass die Expression von MrgD im linken Ventrikel, Hypothalamus und im Fettgewebe von wt- und Mas ko-Mäusen gleich war, bedarf es weiterer Abklärung bezüglich der Frage, ob tatsächlich MrgD für das Mas-Defizit der Mas ko-Mäuse kompensiert. Dies könnte beispielsweise durch den Einsatz von MrgD ko- und Mas/MrgD double ko-Mäusen erfolgen.

Doch nicht nur MrgD wäre ein möglicher Rezeptor für Ang(1-7) im Falle eines Mas-Defizits. Es muss in diesem Rahmen auch die Wirkung von Ang(1-7) über den AT₂R diskutiert werden. Wirkungen am AT₂R induzieren konträre Effekte zu denen über AT₁R. Wir gehen jedoch davon aus, dass er vergleichsweise weniger exprimiert wird [50], [53]. Aufgrund von Ergebnissen durch *Walters et al.*, dass Ang(1-7) im Rahmen einer AT₁R-Blockade über AT₂R und einen Bradykinin-NO-Signalweg vasodilatierende Effekte ausübt [174], wäre die Überlegung denkbar, dass eine AT₂R-abhängige Wirkung von Ang(1-7) auch das Körpergewicht beeinflussen kann. Damit könnte eine solche Wirkung zu der effektiveren Gewichtsreduktion durch TEL in den Mas ko-Tieren beitragen. Jedoch konnte auch bezüglich der AT₂R-mRNA kein Konzentrationsunterschied in Herzmuskel, Fettgewebe und Hypothalamus der Tiere beider Genotypen festgestellt werden. Insgesamt war wie erwartet weniger AT₂R-mRNA als AT₁R-mRNA nachweisbar. Eine gesteigerte Wirkung von Ang(1-7) über den AT₂R im Falle eines ARB-Einsatzes ist damit aber nicht ausgeschlossen. Trotzdem ist die Überlegung weniger plausibel, zumal weitere Studien zeigten, wie eine Ang II-Bindung an AT₂R diät-induzierte Adipositas, Hypertonus sowie Insulinresistenz und Dyslipidämie auslöst [53].

Wie bereits angesprochen können auch Unterschiede in Haltung, Fütterung und Versuchsdurchführung zu divergenten Ergebnissen einzelner Parameter führen und müssen damit berücksichtigt werden. Dies gilt insbesondere für sensible, stör anfällige Parameter wie z.B. den Blutzucker-Spiegel [137]. Trotzdem würde man insbesondere bei höherer Zahl zum Vergleich stehender Untersuchungen eine eindeutige Tendenz von Wirkbeziehungen erwarten.

Insgesamt gehen wir von einem multifaktoriellen Geschehen aus, bei welchem sowohl der genetische Hintergrund der verwendeten Mäuse als auch das RAAS als komplexes Hormonsystem, mit einer Vielzahl unterschiedlicher Signalwege und Regulationsmechanismen und entsprechender Sensibilität für systemische Veränderungen, berücksichtigt werden. Noch ist das RAAS nicht vollständig verstanden und bietet damit eine Vielzahl von Möglichkeiten an Hormon-Wirkbeziehungen, welche insbesondere im Fall pharmakologischer Einflussnahme eintreten und zu unerwarteten Reaktionen führen können.

4.5 Limitationen der Studie

Im Folgenden sind Limitationen unserer Studie aufgelistet.

Es wurden lediglich männliche Mäuse untersucht. Jedoch bestehen Hinweise auf Einflüsse des RAAS auf die Reproduktiven Systeme beider Geschlechter [175], [176]. Außerdem konnte bereits gezeigt werden, dass die gewebsspezifische Regulierung von ACE2 durch Diät und Sexualhormone zu Unterschieden in der Ausprägung einer mit Adipositas vergesellschafteten Hypertonie führt [165]. Damit ist ungewiss ob und in welchem Ausmaß die hier dargestellten Ergebnisse in weiblichen Nagern reproduzierbar wären.

Es wurden Ergebnisse zum Energieumsatz der Mäuse mittels indirekter Kalorimetrie generiert. Die Limitationen einer indirekten Kalorimetrie, in welcher ein Energieverbrauch über Wärmeabgabe nicht gemessen werden kann, gelten entsprechend für die Ergebnisse der Studie.

Es wurde eine TEL-Dosierung angewendet, welche nicht der zugelassenen Dosierung für Patienten entspricht, sondern diese übersteigt. Entsprechend ist unklar, inwiefern die Übertragung bzw. Anwendbarkeit der generierten Ergebnisse auf den Patienten möglich ist. Vordergründiges Ziel der Forschung ist es jedoch nicht ARB wie TEL als solches zur anti-adipösen Therapie am Menschen einzusetzen, sondern vielmehr beteiligte Komponenten wie z.B. Ang(1-7) therapeutisch nutzen zu können. Demnach wäre die Problematik der TEL-Dosierung zu vernachlässigen.

Durch den zeitgleichen Beginn von Diät und Behandlung mit TEL untersucht die Studie lediglich den präventiven Effekt des ARB auf eine Gewichtszunahme. Obwohl durch die AG-Raasch bereits Ergebnisse zu kurativen Eigenschaften von TEL in Bezug auf Übergewicht generiert wurden, kann aufgrund dieser Studie von einem kurativen Effekt nicht ausgegangen werden [32].

4.6 Ausblick

Unsere Studie konnte zeigen, dass ein Mas-Defizit in Mäusen relevante Veränderungen metabolischer Funktionen und Prozesse bewirkt und außerdem die Auswirkungen einer TEL-Therapie auf Körpergewicht, Leptinsensitivität, viszerales Fettgewebe und Insulinsensitivität maßgeblich beeinflusst. Zwar ist insbesondere die Veränderung der TEL-Wirkung konträr zu unserer Ausgangshypothese, allerdings finden sich auch in der Literatur divergierende Daten bezüglich der auch von uns untersuchten Konstanten. Unterschiedliche Versuchsbedingungen und Spezies- sowie Stammesunterschiede müssen wie zuvor erläutert als Ursachen hierfür berücksichtigt werden. Daneben ergeben sich aber durch unsere Arbeit auch Hinweise auf alternative RAAS-Signalwege, welche womöglich durch den Mas ko zusätzlich stimuliert werden. Am ehesten gehen wir von einem Zusammenwirken mehrerer Ursachen für das Entstehen divergenter Daten aus. Entsprechend sollen in erneuter Kooperation mit Prof. Dr. M. Bader aus dem MDC in Berlin Folgestudien erfolgen, die den Einfluss der Mauslinie auf die Effekte eines Mas ko sowie einer TEL-Therapie untersuchen sollen, z.B. mit dem Einsatz von C57BL/6-Mäusen mit ubiquitärem Mas ko, welche im Sinne dieses Studienprotokolls phänotypisiert werden könnten. In parallel laufenden Studien konnte die AG Raasch bereits zeigen, dass TEL in wt-C57BL/6-Mäusen eine zur Kontrollgruppe vermehrte Gewichtszunahme durch eine HFD vollständig verhinderte [33]. Außerdem sollen weitere Studien klären, ob es möglicherweise zu einer Kompensation eines Mas-Defizits durch eine Wirkung von Ang(1-7) über MrgD gekommen sein kann.

Daneben untersucht die AG Raasch aktuell in weiteren Projekten andere mögliche Einflussgrößen, die zum präventiven Effekt von TEL auf die Entstehung von diätinduziertem Übergewicht beitragen könnten. Hierzu sollen verschiedene Faktoren untersucht werden, die möglicherweise das RAAS beeinflussen oder unabhängig davon auf die ARB-Behandlung reagieren. Hierzu zählen unter anderen das Mikrobiom des Darms, die Darm-Mukosa, das zentrale Nervensystem und die physiologischen Auswirkungen von Leptin.

Neben der Ang(1-7)/Mas-Achse muss nun auch die Alamandin/MrgD-Achse oder die Ang(1-7)-Wirkung über MrgD auf die Möglichkeit eines pharmakologisch therapeutischen Nutzen im Rahmen der MetS-Therapie berücksichtigt werden.

5 Zusammenfassung

Um zu prüfen, ob der anti-adipöse Effekt einer ARB-Behandlung auf einen Ang(1-7)-Mas-Rezeptor-abhängigen Mechanismus zurückzuführen ist, wurden Mäuse mit ubiquitärem Mas ko über einen definierten Zeitraum mit einer HFD gefüttert und parallel täglich mit einer oralen Gabe von 8 mg/kg_{KG} TEL behandelt. Es erfolgte eine Phänotypisierung der Mäuse und ihrer Kontrollen bezüglich Größe und Gewicht, Fettmasse, Energieumsatz, Stoffwechselfunktionen wie Insulin- und Leptin-Wirkung sowie Adipokin-Expression, Plasmaleptinspiegel und Expression der RAAS-Komponenten in verschiedenen Geweben. Wider Erwarten konnten wir in unserer Studie nachweisen, dass Diät-induziertes Übergewicht in den Mas ko-Mäusen weniger ausgeprägt war. Außerdem war sowohl die anti-adipöse als auch metabolisch begünstigende Wirkung einer TEL-Therapie verstärkt. Diese Resultate waren konträr zu vorausgehenden Ergebnissen der AG Raasch, welche ergaben, dass höhere Level des Mas-Liganden Ang(1-7) Ratten vor einer diätinduzierten Adipositas einhergehend mit metabolischen Dysfunktionen schützten und dass der Mas-Rezeptor-Antagonist A-779 die TEL-Wirkung in Bezug auf das Körpergewicht aufheben konnte. Auch bezüglich des Mas ko selbst waren unsere Beobachtungen teils gegensätzlich zu Ergebnissen aus Studien anderer Forschergruppen, welche eine Dyslipidämie, Leptin- und Insulinresistenz der Tiere beschrieben. Hingegen generierten wir bezüglich Körpergewicht und Fettmasse auch übereinstimmende Ergebnisse in Bezug auf den Mas ko. Zudem finden sich auch in der Literatur bezüglich der Auswirkungen eines Mas-Defizits in Nagern divergierende Daten. Wir nehmen an, dass diese Unstimmigkeiten neben dem Speziesunterschied Ratte zu Maus zumindest teilweise auch durch den genetischen Hintergrund der unterschiedlichen Mauslinien begründet werden kann. Weiterhin ist eine stattgehabte Kompensation des Mas-Defizits der Tiere denkbar – beispielsweise durch den Rezeptor MrgD, welcher als potentieller weiterer Rezeptor für Ang(1-7) gilt und dem ebenfalls protektive Effekte zugeschrieben werden konnten. Dass die Ang(1-7)/Mas-Achse Anteil am gewichtsreduzierenden Effekt durch ARB hat, kann schlussendlich weder bestätigt noch widerlegt werden. Die vorausgehenden Ergebnisse der AG Raasch und allgemeine Erkenntnisse zur Ang(1-7)/Mas-Achse lassen dies jedoch weiterhin vermuten. Dabei zeigt unsere Arbeit insbesondere,

dass es Spezies- und Stammes-Unterschiede sowie mögliche alternative Signalwege im Rahmen folgender Untersuchungen dringend zu berücksichtigen gilt.

6 Literaturverzeichnis

- [1] P. W. F. Wilson, R. B. D'Agostino, H. Parise, L. Sullivan, und J. B. Meigs, „Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus“, *Circulation*, Bd. 112, Nr. 20, S. 3066–3072, Nov. 2005.
- [2] International Diabetes Federation, „The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome“, *Obe. Metab.*, Nr. 3, S. 47, 2005.
- [3] C. Day, „Metabolic syndrome, or What you will: definitions and epidemiology“, *Diabetes Vasc. Dis. Res.*, Bd. 4, Nr. 1, S. 32–38, 2007.
- [4] G. D. Kolovou, K. K. Anagnostopoulou, K. D. Salpea, und D. P. Mikhailidis, „The prevalence of metabolic syndrome in various populations.“, *Am. J. Med. Sci.*, Bd. 333, Nr. 6, S. 362–71, Juni 2007.
- [5] S. Desroches und B. Lamarche, „The evolving definitions and increasing prevalence of the metabolic syndrome“, *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, Bd. 32, Nr. 1, S. 23–32, Feb. 2007.
- [6] A. J. Cameron, J. E. Shaw, und P. Z. Zimmet, „The metabolic syndrome: Prevalence in worldwide populations“, *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, Bd. 33, Nr. 2. Elsevier, S. 351–375, 01-Juni-2004.
- [7] Y.-W. Park, S. Zhu, L. Palaniappan, S. Heshka, M. R. Carnethon, und S. B. Heymsfield, „The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994.“, *Arch. Intern. Med.*, Bd. 163, Nr. 4, S. 427–36, Feb. 2003.
- [8] E. S. Ford, W. H. Giles, und W. H. Dietz, „Prevalence of the Metabolic Syndrome Among US Adults“, *JAMA*, Bd. 287, Nr. 3, S. 356, Jan. 2002.
- [9] S. O'Neill und L. O'Driscoll, „Metabolic syndrome: A closer look at the growing epidemic and its associated pathologies“, *Obes. Rev.*, Bd. 16, Nr. 1, S. 1–12, 2015.
- [10] K. G. M. M. Alberti *u. a.*, „Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International“, *Circulation*, Bd. 120, Nr. 16. S. 1640–1645, 2009.
- [11] International Diabetes Federation, *IDF Diabetes Atlas 8th Edition 2017*. 2017.
- [12] T. M. Dall *u. a.*, „The Economic Burden of Elevated Blood Glucose Levels in 2012: Diagnosed and Undiagnosed Diabetes, Gestational Diabetes Mellitus, and Prediabetes“, *Diabetes Care*, Bd. 37, Nr. 12, S. 3172 LP – 3179, Dez. 2014.
- [13] M. A. Creager, T. F. Lüscher, F. Cosentino, und J. A. Beckman, „Diabetes and Vascular Disease Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I“, 2003.
- [14] P. J. Anderson *u. a.*, „Factor analysis of the metabolic syndrome: Obesity vs insulin resistance as the central abnormality“, *Int. J. Obes.*, Bd. 25, Nr. 12, S. 1782–1788, Dez. 2001.
- [15] P. C. Deedwania und R. Gupta, „Management issues in the metabolic syndrome.“,

- J. Assoc. Physicians India*, Bd. 54, S. 797–810, 2006.
- [16] E. J. Gallagher, D. Leroith, und E. Karnieli, „Insulin resistance in obesity as the underlying cause for the metabolic syndrome“, *Mount Sinai Journal of Medicine*, Bd. 77, Nr. 5. Wiley-Blackwell, S. 511–523, 01-Sep-2010.
- [17] G. M. Reaven, „Role of insulin resistance in human disease“, *Diabetes*, 1988.
- [18] M. L. G. Correia und K. Rahmouni, „Role of leptin in the cardiovascular and endocrine complications of metabolic syndrome“, *Diabetes, Obesity and Metabolism*, Bd. 8, Nr. 6. Wiley/Blackwell (10.1111), S. 603–610, 01-Nov-2006.
- [19] D. Festi, R. Schiumerini, L. H. Eusebi, G. Marasco, M. Taddia, und A. Colecchia, „Gut microbiota and metabolic syndrome“, *World J. Gastroenterol.*, Bd. 20, Nr. 43, S. 16079, 2014.
- [20] K. G. M. M. Alberti und P. Zimmet, „Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation“, *Diabet. Med.*, Bd. 15, Nr. 7, S. 539–553, Juli 1998.
- [21] K. G. M. M. Alberti, P. Zimmet, und J. Shaw, „The metabolic syndrome - A new worldwide definition“, *Lancet*, Bd. 366, Nr. 9491. S. 1059–1062, 2005.
- [22] A. Lopez-Candales, P. M. Hernández Burgos, D. F. Hernandez-Suarez, und D. Harris, „Linking Chronic Inflammation with Cardiovascular Disease: From Normal Aging to the Metabolic Syndrome.“, *J. Nat. Sci.*, Bd. 3, Nr. 4, Apr. 2017.
- [23] R. Monteiro und I. Azevedo, „Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome.“, *Mediators Inflamm.*, Bd. 2010, 2010.
- [24] A. Berg *u. a.*, „Evidenzbasierte Leitlinie Prävention und Therapie der Adipositas“, *S3-Leitlinie*, 2014. [Online]. Verfügbar unter: <http://www.adipositas-gesellschaft.de>. [Zugegriffen: 11-Okt-2018].
- [25] D. H. Bessesen und L. F. Van Gaal, „Progress and challenges in anti-obesity pharmacotherapy.“, *lancet. Diabetes Endocrinol.*, Bd. 6, Nr. 3, S. 237–248, März 2018.
- [26] S. Lim und R. H. Eckel, „Pharmacological treatment and therapeutic perspectives of metabolic syndrome“, *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, Bd. 15, Nr. 4, S. 329–341, Dez. 2014.
- [27] A. Siebenhofer *u. a.*, „Long-term effects of weight-reducing drugs in people with hypertension“, *Cochrane Database Syst. Rev.*, Nr. 3, März 2016.
- [28] R. Khera *u. a.*, „Association of pharmacological treatments for obesity with weight loss and adverse events a systematic review and meta-analysis“, *JAMA - J. Am. Med. Assoc.*, Bd. 315, Nr. 22, S. 2424–2434, Juni 2016.
- [29] B. R. Gedulin *u. a.*, „Exenatide (Exendin-4) Improves Insulin Sensitivity and β -Cell Mass in Insulin-Resistant Obese *fa/fa* Zucker Rats Independent of Glycemia and Body Weight“, *Endocrinology*, Bd. 146, Nr. 4, S. 2069–2076, Apr. 2005.
- [30] K. J. Mather, S. Verma, und T. J. Anderson, „Improved endothelial function with metformin in type 2 diabetes mellitus“, *J. Am. Coll. Cardiol.*, Bd. 37, Nr. 5, S. 1344–1350, Apr. 2001.

- [31] European Society of Cardiology und European Society of Hypertension, *2018 ESC / ESH Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of*, Nr. August. 2018.
- [32] H. Müller-Fielitz, N. Hübel, M. Mildner, F. M. Vogt, J. Barkhausen, und W. Raasch, „Chronic blockade of angiotensin AT1 receptors improves cardinal symptoms of metabolic syndrome in diet-induced obesity in rats“, *Br. J. Pharmacol.*, Bd. 171, Nr. 3, S. 746–760, 2014.
- [33] F. Schuster *u. a.*, „Telmisartan prevents diet-induced obesity and preserves leptin transport across the blood-brain barrier in high-fat diet-fed mice“, *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, S. 1–17, 05-Juli-2018.
- [34] J. Schuchard *u. a.*, „Lack of weight gain after angiotensin AT1 receptor blockade in diet-induced obesity is partly mediated by an angiotensin-(1-7)/Mas-dependent pathway“, *Br. J. Pharmacol.*, Bd. 172, Nr. 15, S. 3764–3778, Aug. 2015.
- [35] H. Müller-Fielitz *u. a.*, „Improved Insulin Sensitivity after Long-Term Treatment with AT 1 Blockers Is Not Associated with PPAR γ Target Gene Regulation“, *Endocrinology*, Bd. 153, Nr. 3, S. 1103–1115, März 2012.
- [36] P. Bjorntorp *u. a.*, „Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic“, *WHO Tech. Rep. Ser.*, S. 253, 2000.
- [37] J. G. Karam, & Samy, und I. Mcfarlane, „Secondary causes of obesity“, *Therapy*, Bd. 4, Nr. 5, S. 641–650, 2007.
- [38] S. B. Wyatt, K. P. Winters, und P. M. Dubbert, „Overweight and Obesity: Prevalence, Consequences, and Causes of a Growing Public Health Problem“, *Am. J. Med. Sci.*, Bd. 331, Nr. 4, S. 166–174, Apr. 2006.
- [39] B. Kurth, „Erste Ergebnisse aus der ‚Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland‘ (DEGS)“, *Bundesgesundheitsblatt*, Bd. 55, Nr. 8, S. 980–990, 2012.
- [40] B. M. Kurth und A. S. Rosario, „Die Verbreitung von Übergewicht und Adipositas bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland: Ergebnisse des bundesweiten Kinder- und Jugendgesundheits surveys (KiGGS)“, *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforsch. - Gesundheitsschutz*, Bd. 50, Nr. 5–6, S. 736–743, Mai 2007.
- [41] G. B. M. Mensink, A. Schienkiewitz, M. Haftenberger, T. Lampert, T. Ziese, und C. Scheidt-Nave, „Übergewicht und Adipositas in Deutschland: Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1)“, *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, Bd. 56, Nr. 5–6. S. 786–794, 25-Mai-2013.
- [42] M. Weiss, D. F. Steiner, und L. H. Philipson, *Insulin Biosynthesis, Secretion, Structure, and Structure-Activity Relationships*. MDText.com, Inc., 2000.
- [43] E. Leighton, C. A. Sainsbury, und G. C. Jones, „A Practical Review of C-Peptide Testing in Diabetes“, *Diabetes Therapy*, Bd. 8, Nr. 3. S. 475–487, 2017.
- [44] J. Boucher, A. Kleinridders, und C. Ronald Kahn, „Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states“, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, Bd. 6, Nr. 1, Jan. 2014.
- [45] M. Fujishiro *u. a.*, „Three Mitogen-Activated Protein Kinases Inhibit Insulin Signaling

- by Different Mechanisms in 3T3-L1 Adipocytes“, *Mol. Endocrinol.*, Bd. 17, Nr. 3, S. 487–497, März 2003.
- [46] B. Antuna-Puente, B. Feve, S. Fellahi, und J.-P. Bastard, „Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity“, *Diabetes Metab.*, Bd. 34, Nr. 1, S. 2–11, Feb. 2008.
- [47] M. G. Myers, R. L. Leibel, R. J. Seeley, M. W. Schwartz, und M. W. Schwartz, „Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect.“, *Trends Endocrinol. Metab.*, Bd. 21, Nr. 11, S. 643–51, Nov. 2010.
- [48] H. Münzberg und C. D. Morrison, „Structure, production and signaling of leptin.“, *Metabolism.*, Bd. 64, Nr. 1, S. 13–23, Jan. 2015.
- [49] S. Lin, T. C. Thomas, L. H. Storlien, und X. F. Huang, „Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57B1/6J mice“, *Int. J. Obes.*, Bd. 24, Nr. 5, S. 639–646, Mai 2000.
- [50] I. Herichova und K. Szantoova, „Renin-angiotensin system: Upgrade of recent knowledge and perspectives“, *Endocr. Regul.*, Bd. 47, Nr. 1, S. 39–52, 2013.
- [51] J. Skov, F. Persson, J. Frøkiær, und J. S. Christiansen, „Tissue renin-angiotensin systems: A unifying hypothesis of metabolic disease“, *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, Bd. 5, Nr. FEB, S. 1–7, 2014.
- [52] K. Putnam, R. Shoemaker, F. Yiannikouris, und L. A. Cassis, „The renin-angiotensin system: a target of and contributor to dyslipidemias, altered glucose homeostasis, and hypertension of the metabolic syndrome“, *AJP Hear. Circ. Physiol.*, Bd. 302, Nr. 6, S. H1219–H1230, 2012.
- [53] A. D. de Kloet, E. G. Krause, und S. C. Woods, „The renin angiotensin system and the metabolic syndrome“, *Physiol. Behav.*, Bd. 100, Nr. 5, S. 525–534, Juli 2010.
- [54] R. A. S. Santos *u. a.*, „The ACE2/Angiotensin-(1–7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1–7)“, *Physiol. Rev.*, Bd. 98, Nr. 1, S. 505–553, 2018.
- [55] J. Stegbauer und T. M. Coffman, „New insights into angiotensin receptor actions: from blood pressure to aging.“, *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, Bd. 20, Nr. 1, S. 84–8, Jan. 2011.
- [56] L. te Riet, J. H. M. van Esch, A. J. M. Roks, A. H. van den Meiracker, und A. H. J. Danser, „Renin-Angiotensin-Aldosterone System Alterations“, *Circ. Res.*, Bd. 116, Nr. 6, S. 960–975, März 2015.
- [57] R. A. S. Santos, A. J. Ferreira, T. Verano-Braga, und M. Bader, „Angiotensin-converting enzyme 2, angiotensin-(1-7) and Mas: New players of the renin-angiotensin system“, *J. Endocrinol.*, Bd. 216, Nr. 2, 2013.
- [58] L. Pernomian, L. Pernomian, und C. Baraldi Araújo Restini, „Counter-regulatory effects played by the ACE – Ang II – AT1 and ACE2 – Ang-(1–7) – Mas axes on the reactive oxygen species-mediated control of vascular function: perspectives to pharmacological approaches in controlling vascular complications“, *Vasa*, Bd. 43, Nr. 6, S. 404–414, Nov. 2014.
- [59] M. Bader, „ACE2, angiotensin-(1–7), and Mas: the other side of the coin.“, *Pflugers Arch.*, Bd. 465, Nr. 1, S. 79–85, Jan. 2013.

- [60] R. A. S. Santos, „Angiotensin-(1-7)“, *Hypertension*, Bd. 63, S. 265–272, 2014.
- [61] J. Hrenak, L. Paulis, und F. Simko, „Angiotensin A/Alamandine/MrgD axis: Another clue to understanding cardiovascular pathophysiology“, *International Journal of Molecular Sciences*, Bd. 17, Nr. 7. 2016.
- [62] G. Huber, F. Schuster, und W. Raasch, „Brain renin-angiotensin system in the pathophysiology of cardiovascular diseases“, *Pharmacol. Res.*, Bd. 125, Nr. Pt A, S. 72–90, Nov. 2017.
- [63] T. Qaradakhi, V. Apostolopoulos, und A. Zulli, „Angiotensin (1-7) and Alamandine: Similarities and differences“, *Pharmacological Research*, Bd. 111. 2016.
- [64] R. A. S. Santos *u. a.*, „Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas“, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Bd. 100, Nr. 14, S. 8258–8263, Juli 2003.
- [65] R. Q. Lautner *u. a.*, „Discovery and Characterization of Alamandine“, *Circ. Res.*, Bd. 112, Nr. 8, S. 1104–1111, Apr. 2013.
- [66] A. Tetzner *u. a.*, „Decarboxylation of Ang-(1–7) to Ala1-Ang-(1–7) leads to significant changes in pharmacodynamics“, *Eur. J. Pharmacol.*, Bd. 833, S. 116–123, Aug. 2018.
- [67] A. Tetzner *u. a.*, „G-Protein-Coupled Receptor MrgD Is a Receptor for Angiotensin-(1-7) Involving Adenylyl Cyclase, cAMP, and Phosphokinase A“, *Hypertension*, Bd. 68, Nr. 1, 2016.
- [68] X. Dong, S. Han, M. J. Zylka, M. I. Simon, und D. J. Anderson, „A diverse family of GPCRs expressed in specific subsets of nociceptive sensory neurons.“, *Cell*, Bd. 106, Nr. 5, S. 619–32, Sep. 2001.
- [69] A. C. Oliveira *u. a.*, „Genetic deletion of the alamandine receptor MRGD leads to dilated cardiomyopathy in mice“, *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.*, Bd. 316, Nr. 1, 2018.
- [70] M. Bader, „Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone Systems: Targets for Pharmacological Therapy“, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, Bd. 50, Nr. 1, S. 439–465, Feb. 2010.
- [71] S. Zorad, M. Fickova, B. Zelezna, L. Macho, und J. G. Kral, „The role of angiotensin II and its receptors in regulation of adipose tissue metabolism and cellularity.“, *Gen. Physiol. Biophys.*, Bd. 14, Nr. 5, S. 383–91, Okt. 1995.
- [72] M. T. J. Schütten, A. J. H. M. Houben, P. W. de Leeuw, und C. D. A. Stehouwer, „The Link Between Adipose Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System Signaling and Obesity-Associated Hypertension“, *Physiology*, Bd. 32, Nr. 3, S. 197–209, 2017.
- [73] G. Giacchetti *u. a.*, „Overexpression of the renin-angiotensin system in human visceral adipose tissue in normal and overweight subjects“, *Am. J. Hypertens.*, Bd. 15, Nr. 5, S. 381–388, Mai 2002.
- [74] A. Cabassi *u. a.*, „Sympathetic Modulation by Carvedilol and Losartan Reduces Angiotensin II-Mediated Lipolysis in Subcutaneous and Visceral Fat“, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, Bd. 90, Nr. 5, S. 2888–2897, Mai 2005.
- [75] M. Gupte *u. a.*, „ACE2 is expressed in mouse adipocytes and regulated by a high-fat

- diet.“, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Bd. 295, Nr. 3, S. R781-8, Sep. 2008.
- [76] C. M. Boustany, „Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension“, *AJP Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Bd. 287, Nr. 4, S. R943–R949, Okt. 2004.
- [77] R. B. Wichi, V. Farah, Y. Chen, M. C. Irigoyen, und M. Morris, „Deficiency in angiotensin AT1a receptors prevents diabetes-induced hypertension“, *AJP Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Bd. 292, Nr. 3, S. R1184–R1189, 2006.
- [78] P. C. Underwood und G. K. Adler, „The renin angiotensin aldosterone system and insulin resistance in humans“, *Current Hypertension Reports*, Bd. 15, Nr. 1. S. 59–70, 2013.
- [79] G. A. Favre, V. L. M. Esnault, und E. Van Obberghen, „Modulation of glucose metabolism by the renin-angiotensin-aldosterone system“, *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.*, Bd. 308, Nr. 6, S. E435–E449, 2015.
- [80] C. Tikellis, P. J. Wookey, R. Candido, S. Andrikopoulos, M. C. Thomas, und M. E. Cooper, „Improved islet morphology after blockade of the renin- angiotensin system in the ZDF rat.“, *Diabetes*, Bd. 53, Nr. 4, S. 989–97, Apr. 2004.
- [81] C.-L. Lu, W. Ying, L. Yuan, Y. Li, und X.-Y. Li, „The angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin (1–7)/Mas axis protects the function of pancreatic β cells by improving the function of islet microvascular endothelial cells“, *Int. J. Mol. Med.*, Bd. 34, Nr. 5, S. 1293–1300, Nov. 2014.
- [82] G. H. Goossens, E. E. Blaak, W. H. M. Saris, und M. A. van Baak, „Angiotensin II-Induced Effects on Adipose and Skeletal Muscle Tissue Blood Flow and Lipolysis in Normal-Weight and Obese Subjects“, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, Bd. 89, Nr. 6, S. 2690–2696, Juni 2004.
- [83] R. Muniyappa und S. Yavuz, „Metabolic actions of angiotensin II and insulin: A microvascular endothelial balancing act“, *Mol. Cell. Endocrinol.*, Bd. 378, Nr. 1–2, S. 59–69, Sep. 2013.
- [84] F. Andreozzi, E. Laratta, A. Sciacqua, F. Perticone, und G. Sesti, „Angiotensin II Impairs the Insulin Signaling Pathway Promoting Production of Nitric Oxide by Inducing Phosphorylation of Insulin Receptor Substrate-1 on Ser 312 and Ser 616 in Human Umbilical Vein Endothelial Cells“, 2004.
- [85] F. Folli, † C Ronald Kahn, H. Hansen, J. L. Bouchie, und E. P. Feener, „Angiotensin II Inhibits Insulin Signaling in Aortic Smooth Muscle Cells at Multiple Levels A Potential Role for Serine Phosphorylation in Insulin/Angiotensin II Crosstalk angiotensin II • insulin receptor substrate-1 • phosphatidylinositol 3-kinase • vasc“, 1997.
- [86] E. J. Henriksen und M. Prasannarong, „The role of the renin-angiotensin system in the development of insulin resistance in skeletal muscle“, *Mol. Cell. Endocrinol.*, Bd. 378, Nr. 1–2, S. 15–22, Sep. 2013.
- [87] K. H. Chhabra, H. Xia, K. B. Pedersen, R. C. Speth, und E. Lazartigues, „Pancreatic angiotensin-converting enzyme 2 improves glycemia in angiotensin II-infused mice.“, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Bd. 304, Nr. 8, S. E874-84, Apr. 2013.
- [88] H.-W. Wang, M. Mizuta, Y. Saitoh, K. Noma, H. Ueno, und M. Nakazato, „Glucagon-

- like peptide-1 and candesartan additively improve glucolipotoxicity in pancreatic β -cells“, *Metabolism*, Bd. 60, Nr. 8, S. 1081–1089, Aug. 2011.
- [89] H. Müller-Fielitz und W. Raasch, „Angiotensin II impairs glucose utilization in obese Zucker rats by increasing HPA activity via an adrenal-dependent mechanism“, *Horm. Metab. Res.*, Bd. 45, Nr. 2, S. 173–180, Okt. 2013.
- [90] H. He *u. a.*, „Telmisartan prevents weight gain and obesity through activation of peroxisome proliferator-activated receptor- δ -dependent pathways“, *Hypertension*, Bd. 55, Nr. 4, S. 869–879, 2010.
- [91] H. Müller-Fielitz, M. Lau, C. Geißler, L. Werner, M. Winkler, und W. Raasch, „Preventing leptin resistance by blocking angiotensin II AT₁ receptors in diet-induced obese rats“, *Br. J. Pharmacol.*, Bd. 172, Nr. 3, S. 857–868, 2015.
- [92] M. Schupp *u. a.*, „Molecular characterization of new selective peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulators with angiotensin receptor blocking activity“, *Diabetes*, Bd. 54, Nr. 12, S. 3442–3452, 2005.
- [93] M. Winkler *u. a.*, „The brain renin-angiotensin system plays a crucial role in regulating body weight in diet-induced obesity in rats.“, *Br. J. Pharmacol.*, Bd. 173, Nr. 10, S. 1602–17, 2016.
- [94] H. Müller-Fielitz, A. Markert, C. Wittmershaus, F. Pahlke, O. Jöhren, und W. Raasch, „Weight loss and hypophagia after high-dose AT₁-blockade is only observed after high dosing and depends on regular leptin signalling but not blood pressure“, *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.*, Bd. 383, Nr. 4, S. 373–384, Apr. 2011.
- [95] A. Miesel, H. Müller-Fielitz, O. Jöhren, F. M. Vogt, und W. Raasch, „Double blockade of angiotensin II (AT₁)- Receptors and ACE does not improve weight gain and glucose homeostasis better than single-drug treatments in obese rats“, *Br. J. Pharmacol.*, Bd. 165, Nr. 8, S. 2721–2735, 2012.
- [96] U. Kintscher, P. Bramlage, W. D. Paar, M. Thoenes, und T. Unger, „Irbesartan for the treatment of hypertension in patients with the metabolic syndrome: A sub analysis of the Treat to Target post authorization survey. Prospective observational, two armed study in 14,200 patients“, *Cardiovasc. Diabetol.*, Bd. 6, Nr. 1, S. 12, Apr. 2007.
- [97] V. Gustaityte, M. Winkler, I. Stölting, und W. Raasch, „Influence of AT₁ blockers on obesity and stress-induced eating of cafeteria diet“, *J. Endocrinol.*, Bd. 240, Nr. 1, S. 65–79, Jan. 2019.
- [98] E. Rawish *u. a.*, „Telmisartan prevents development of obesity and normalizes hypothalamic lipid droplets“, *J. Endocrinol.*, Bd. 244, Nr. 1, S. 95–110, Jan. 2020.
- [99] S. Tyagi, P. Gupta, A. Saini, C. Kaushal, und S. Sharma, „The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases“, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, Bd. 2, Nr. 4. Wolters Kluwer -- Medknow Publications, S. 236–240, Okt-2011.
- [100] A. Penna-de-Carvalho, F. Graus-Nunes, J. Rabelo-Andrade, C. A. Mandarim-de-Lacerda, und V. Souza-Mello, „Enhanced pan-peroxisome proliferator-activated receptor gene and protein expression in adipose tissue of diet-induced obese mice treated with telmisartan“, *Exp. Physiol.*, Bd. 99, Nr. 12, S. 1663–1678, 2014.
- [101] K. Ushijima *u. a.*, „Effects of telmisartan and valsartan on insulin sensitivity in obese diabetic mice“, *Eur. J. Pharmacol.*, Bd. 698, Nr. 1–3, S. 505–510, Jan. 2013.

- [102] X. Rong *u. a.*, „Angiotensin II type 1 receptor-independent beneficial effects of telmisartan on dietary-induced obesity, insulin resistance and fatty liver in mice“, *Diabetologia*, Bd. 53, Nr. 8, S. 1727–1731, 2010.
- [103] H. Müller-Fielitz, M. Lau, O. Jöhren, F. Stellmacher, M. Schwaninger, und W. Raasch, „Blood pressure response to angiotensin II is enhanced in obese Zucker rats and is attributed to an aldosterone-dependent mechanism“, *Br. J. Pharmacol.*, Bd. 166, Nr. 8, S. 2417–2429, Aug. 2012.
- [104] T. Yoshida, L. Semprun-Prieto, R. D. Wainford, S. Sukhanov, D. R. Kapusta, und P. Delafontaine, „Angiotensin II reduces food intake by altering orexigenic neuropeptide expression in the mouse hypothalamus.“, *Endocrinology*, Bd. 153, Nr. 3, S. 1411–20, März 2012.
- [105] M. Brink, J. Wellen, und P. Delafontaine, „Angiotensin II and Insulin-like Growth Factor I Angiotensin II Causes Weight Loss and Decreases Circulating Insulin-like Growth Factor I in Rats through a Pressor-independent Mechanism Key words: congestive heart fail-ure • hypertension • IGF binding proteins • metabolism • receptors, growth factor“, 1996.
- [106] T. Skurk, V. van Harmelen, W. F. Blum, und H. Hauner, „Angiotensin II Promotes Leptin Production in Cultured Human Fat Cells by an ERK1/2-dependent Pathway“, *Obes. Res.*, Bd. 13, Nr. 6, S. 969–973, Juni 2005.
- [107] Y.-H. Song, Y. Li, J. Du, W. E. Mitch, N. Rosenthal, und P. Delafontaine, „Muscle-specific expression of IGF-1 blocks angiotensin II-induced skeletal muscle wasting“, *J. Clin. Invest.*, Bd. 115, Nr. 2, S. 451–458, Feb. 2005.
- [108] A. M. Tabony, T. Yoshida, S. Sukhanov, und P. Delafontaine, „Protein phosphatase 2C-alpha knockdown reduces angiotensin II-mediated skeletal muscle wasting via restoration of mitochondrial recycling and function“, *Skelet. Muscle*, Bd. 4, Nr. 1, S. 20, Okt. 2014.
- [109] L. Zhang *u. a.*, „IL-6 and serum amyloid A synergy mediates angiotensin II-induced muscle wasting“, *J. Am. Soc. Nephrol.*, Bd. 20, Nr. 3, S. 604–612, März 2009.
- [110] L. B. Teixeira *u. a.*, „Ang-(1-7) is an endogenous β -arrestin-biased agonist of the AT1receptor with protective action in cardiac hypertrophy“, *Sci. Rep.*, Bd. 7, Nr. 1, 2017.
- [111] R. A. S. Santos *u. a.*, „Expression of an angiotensin-(1-7)-producing fusion protein produces cardioprotective effects in rats“, *Physiol. Genomics*, Bd. 17, Nr. 3, S. 292–299, 2004.
- [112] S. H. S. Santos *u. a.*, „Improved Lipid and Glucose Metabolism in Transgenic Rats with Increased Circulating Angiotensin-(1-7)“, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, Bd. 30, Nr. 5, S. 953–961, 2010.
- [113] S. H. S. Santos *u. a.*, „Oral Angiotensin-(1-7) prevented obesity and hepatic inflammation by inhibition of resistin/TLR4/MAPK/NF- κ B in rats fed with high-fat diet“, *Peptides*, Bd. 46, S. 47–52, 2013.
- [114] K. Blanke *u. a.*, „Effect of Angiotensin(1-7) on Heart Function in an Experimental Rat Model of Obesity.“, *Front. Physiol.*, Bd. 6, S. 392, 2015.
- [115] S. H. S. Santos *u. a.*, „Increased circulating angiotensin-(1-7) protects white adipose tissue against development of a proinflammatory state stimulated by a high-fat diet“,

Regul. Pept., Bd. 178, Nr. 1–3, S. 64–70, 2012.

- [116] J. F. Giani *u. a.*, „Angiotensin-(1–7) attenuates diabetic nephropathy in Zucker diabetic fatty rats“, *Am. J. Physiol. Physiol.*, Bd. 302, Nr. 12, S. F1606–F1615, Juni 2012.
- [117] J. F. Giani *u. a.*, „Chronic infusion of angiotensin-(1–7) improves insulin resistance and hypertension induced by a high-fructose diet in rats“, *Am. J. Physiol. Metab.*, Bd. 296, Nr. 2, S. E262–E271, Feb. 2009.
- [118] C. Liu *u. a.*, „Angiotensin-(1-7) suppresses oxidative stress and improves glucose uptake via Mas receptor in adipocytes“, *Acta Diabetol.*, Bd. 49, Nr. 4, S. 291–299, Aug. 2012.
- [119] S. H. S. Santos *u. a.*, „Mas deficiency in FVB/N mice produces marked changes in lipid and glycemic metabolism“, *Diabetes*, Bd. 57, Nr. 2, S. 340–347, 2008.
- [120] S. H. S. Santos *u. a.*, „Oral administration of angiotensin-(1–7) ameliorates type 2 diabetes in rats“, *J. Mol. Med.*, Bd. 92, Nr. 3, S. 255–265, 2013.
- [121] X. Cao, F. Y. Yang, Z. Xin, R. R. Xie, and J. K. Yang, „The ACE2/Ang-(1-7)/Mas axis can inhibit hepatic insulin resistance“, *Mol. Cell. Endocrinol.*, Bd. 393, Nr. 1–2, S. 30–38, Aug. 2014.
- [122] J. F. Giani, M. M. Gironacci, M. C. Muñoz, C. Peña, D. Turyn, und F. P. Dominici, „Angiotensin-(1–7) stimulates the phosphorylation of JAK2, IRS-1 and Akt in rat heart in vivo: role of the AT₁ and Mas receptors“, *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.*, Bd. 293, Nr. 2, S. H1154–H1163, Aug. 2007.
- [123] A. R. Silva *u. a.*, „Mas receptor deficiency is associated with worsening of lipid profile and severe hepatic steatosis in ApoE-knockout mice“, *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.*, Bd. 305, Nr. 11, S. R1323–R1330, Dez. 2013.
- [124] M. M. de Moura *u. a.*, „Altered cardiovascular reflexes responses in conscious Angiotensin-(1-7) receptor Mas-knockout mice“, *Peptides*, Bd. 31, Nr. 10, S. 1934–1939, Okt. 2010.
- [125] G. A. Botelho-Santos, M. Bader, N. Alenina, und R. A. S. Santos, „Altered regional blood flow distribution in Mas-deficient mice“, *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.*, Bd. 6, Nr. 5, S. 201–211, Okt. 2012.
- [126] K. Rabello Casali *u. a.*, „Increased vascular sympathetic modulation in mice with Mas receptor deficiency“, *J. Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst.*, Bd. 17, Nr. 2, S. 147032031664364, Juni 2016.
- [127] M. Igase, W. B. Strawn, P. E. Gallagher, R. L. Geary, und C. M. Ferrario, „Angiotensin II AT₁ receptors regulate ACE2 and angiotensin-(1–7) expression in the aorta of spontaneously hypertensive rats“, *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.*, Bd. 289, Nr. 3, S. H1013–H1019, Sep. 2005.
- [128] Y. Ishiyama, P. E. Gallagher, D. B. Averill, E. A. Tallant, K. B. Brosnihan, und C. M. Ferrario, „Upregulation of Angiotensin-Converting Enzyme 2 After Myocardial Infarction by Blockade of Angiotensin II Receptors“, *Hypertension*, Bd. 43, Nr. 5, S. 970–976, Mai 2004.
- [129] Z. Lin *u. a.*, „[Telmisartan reduces retina vessel endothelial cell apoptosis via upregulating retinal ACE2-Ang-(1-7)-Mas axis in spontaneous hypertensive rats].“

Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi, Bd. 43, Nr. 7, S. 625–30, Juli 2015.

- [130] I. F. Benter, M. H. M. Yousif, F. M. Al-Saleh, R. Raghupathy, M. C. Chappell, und D. I. Diz, „Angiotensin-(1-7) blockade attenuates captopril- or hydralazine-induced cardiovascular protection in spontaneously hypertensive rats treated with NG-nitro-L-arginine methyl ester.“, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, Bd. 57, Nr. 5, S. 559–67, Mai 2011.
- [131] C. M. Ferrario *u. a.*, „Effects of renin-angiotensin system blockade on renal angiotensin-(1-7) forming enzymes and receptors“, *Kidney Int.*, Bd. 68, Nr. 5, S. 2189–2196, Nov. 2005.
- [132] Y.-B. Oh, J. H. Kim, B. M. Park, B. H. Park, und S. H. Kim, „Captopril intake decreases body weight gain via angiotensin-(1–7)“, *Peptides*, Bd. 37, Nr. 1, S. 79–85, Sep. 2012.
- [133] W. Raasch, T. Bartels, C. Schwartz, W. Häuser, H. Rütten, und P. Dominiak, „Regression of ventricular and vascular hypertrophy: are there differences between structurally different angiotensin-converting enzyme inhibitors?“, *J. Hypertens.*, Bd. 20, Nr. 12, S. 2495–504, Dez. 2002.
- [134] C. Z.) Jiang, „Angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin 1-7: novel therapeutic targets“, *Nat. Rev. I Cardiol.*, Bd. 11, S. 413–426, 2014.
- [135] Nih, Od, Oer, und Olaw, *GUIDE LABORATORY ANIMALS FOR THE CARE AND USE OF Eighth Edition Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies*. 2011.
- [136] S. Parasuraman, R. Raveendran, und R. Kesavan, „Blood sample collection in small laboratory animals.“, *J. Pharmacol. Pharmacother.*, Bd. 1, Nr. 2, S. 87–93, Juli 2010.
- [137] J. E. Ayala *u. a.*, „Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice“, *Disease Models & Mechanisms*, Bd. 3, Nr. 9–10. S. 525–534, 2010.
- [138] O. P. McGuinness, J. E. Ayala, M. R. Laughlin, und D. H. Wasserman, „NIH experiment in centralized mouse phenotyping: the Vanderbilt experience and recommendations for evaluating glucose homeostasis in the mouse.“, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Bd. 297, Nr. 4, S. E849-55, Okt. 2009.
- [139] Y. Schutz, „The basis of direct and indirect calorimetry and their potentials“, *Diabetes / Metab. Rev.*, Bd. 11, Nr. 4, S. 383–408, Dez. 1995.
- [140] G. Lusk, „Analysis of the oxidation of mixtures of carbohydrate and fat. A correction.“, 1923.
- [141] M. M. Glavas *u. a.*, „Early overnutrition results in early-onset arcuate leptin resistance and increased sensitivity to high-fat diet“, *Endocrinology*, Bd. 151, Nr. 4, S. 1598–1610, 2010.
- [142] M. A. Mori *u. a.*, „Kinin B₁ Receptor Deficiency Leads to Leptin Hypersensitivity and Resistance to Obesity“, *Diabetes*, Bd. 57, Nr. 6, S. 1491 LP – 1500, Juni 2008.
- [143] A. Miesel, H. Müller, M. Thermann, M. Heidbreder, P. Dominiak, und W. Raasch, „Overfeeding-Induced Obesity in Spontaneously Hypertensive Rats: An Animal Model of the Human Metabolic Syndrome“, *Ann. Nutr. Metab.*, Bd. 56, Nr. 2, S. 127–

142, 2010.

- [144] DAG e.V., „DAG - Deutsche Adipositas Gesellschaft: Definition“, 2012. [Online]. Verfügbar unter: <http://www.adipositas-gesellschaft.de/index.php?id=39>. [Zugegriffen: 28-Sep-2018].
- [145] M. S. Jamaluddin, S. M. Weakley, Q. Yao, und C. Chen, „Resistin: Functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease“, *British Journal of Pharmacology*, Bd. 165, Nr. 3. Wiley-Blackwell, S. 622–632, Feb-2012.
- [146] M.-S. Choi, Y.-J. Kim, E.-Y. Kwon, J. Y. Ryoo, S. R. Kim, und U. J. Jung, „High-fat diet decreases energy expenditure and expression of genes controlling lipid metabolism, mitochondrial function and skeletal system development in the adipose tissue, along with increased expression of extracellular matrix remodelling- and inflammation-related genes“, *Br. J. Nutr.*, Bd. 113, Nr. 6, S. 867–877, März 2015.
- [147] K. E. Trajcevski u. a., „Enhanced Lipid Oxidation and Maintenance of Muscle Insulin Sensitivity Despite Glucose Intolerance in a Diet-Induced Obesity Mouse Model“, *PLoS One*, Bd. 8, Nr. 8, S. e71747, Aug. 2013.
- [148] M. K. Montgomery, S. H. J. Brown, T. W. Mitchell, A. C. F. Coster, G. J. Cooney, und N. Turner, „Association of muscle lipidomic profile with high-fat diet-induced insulin resistance across five mouse strains“, *Sci. Rep.*, Bd. 7, Nr. 1, S. 13914, Dez. 2017.
- [149] M. K. Montgomery u. a., „Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding“, *Diabetologia*, Bd. 56, Nr. 5, S. 1129–1139, Mai 2013.
- [150] G. G. Guimarães u. a., „Exercise induces renin–angiotensin system unbalance and high collagen expression in the heart of Mas-deficient mice“, *Peptides*, Bd. 38, Nr. 1, S. 54–61, Nov. 2012.
- [151] Y. Wang, R. Shoemaker, D. Powell, W. Su, S. Thatcher, und L. Cassis, „Differential effects of Mas receptor deficiency on cardiac function and blood pressure in obese male and female mice.“, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, Bd. 312, Nr. 3, S. H459–H468, März 2017.
- [152] M. Buzello, J. Törnig, J. Faulhaber, H. Ehmke, E. Ritz, und K. Amann, „The apolipoprotein E knockout mouse: A model documenting accelerated atherogenesis in uremia“, *J. Am. Soc. Nephrol.*, Bd. 14, Nr. 2, S. 311–316, Feb. 2003.
- [153] C. Liu u. a., „Angiotensin-(1-7) suppresses oxidative stress and improves glucose uptake via Mas receptor in adipocytes“, *Acta Diabetol.*, Bd. 49, Nr. 4, S. 291–299, Aug. 2012.
- [154] J. F. Giani u. a., „Chronic infusion of angiotensin-(1–7) improves insulin resistance and hypertension induced by a high-fructose diet in rats“, *Am. J. Physiol. Metab.*, Bd. 296, Nr. 2, S. E262–E271, Feb. 2009.
- [155] Z. Fu, L. Zhao, K. W. Aylor, R. M. Carey, E. J. Barrett, und Z. Liu, „Angiotensin-(1-7) recruits muscle microvasculature and enhances insulin’s metabolic action via Mas receptor“, *Hypertension*, Bd. 63, Nr. 6, 2014.
- [156] J. Felix Braga, D. R. Dartora, N. Alenina, M. Bader, und R. A. S. Santos, „Glucagon-producing cells are increased in mas-deficient mice“, *Endocr. Connect.*, Bd. 6, Nr. 1, S. 27–32, Jan. 2017.

- [157] J. M. Oliveira Andrade *u. a.*, „Cross talk between angiotensin-(1–7)/Mas axis and sirtuins in adipose tissue and metabolism of high-fat feed mice“, *Peptides*, Bd. 55, S. 158–165, Mai 2014.
- [158] M. Fasshauer, J. Klein, S. Neumann, M. Eszlinger, und R. Paschke, „Tumor Necrosis Factor α Is a Negative Regulator of Resistin Gene Expression and Secretion in 3T3-L1 Adipocytes“, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Bd. 288, Nr. 4, S. 1027–1031, Nov. 2001.
- [159] S. Heringer-Walther, F. Gembardt, F. H. Perschel, N. Katz, H.-P. Schultheiss, und T. Walther, „The genetic deletion of Mas abolishes salt induced hypertension in mice“, *Eur. J. Pharmacol.*, Bd. 689, Nr. 1–3, S. 147–153, Aug. 2012.
- [160] R. L. Batterham *u. a.*, „Pancreatic Polypeptide Reduces Appetite and Food Intake in Humans“, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, Bd. 88, Nr. 8, S. 3989–3992, Aug. 2003.
- [161] K. Loh, H. Herzog, und Y. C. Shi, „Regulation of energy homeostasis by the NPY system“, *Trends in Endocrinology and Metabolism*, Bd. 26, Nr. 3. Elsevier Inc., S. 125–135, 01-März-2015.
- [162] S. H. Chin *u. a.*, „Opposing Effects of Reduced Kidney Mass on Liver and Skeletal Muscle Insulin Sensitivity in Obese Mice“, *Diabetes*, Bd. 64, Nr. 4, S. 1131–1141, Apr. 2015.
- [163] R. L. Batterham *u. a.*, „Gut hormone PYY3-36 physiologically inhibits food intake“, *Nature*, Bd. 418, Nr. 6898, S. 650–654, Aug. 2002.
- [164] R. Pais, J. Rievaj, P. Larraufie, F. Gribble, und F. Reimann, „Angiotensin II type 1 receptor-dependent GLP-1 and PYY secretion in mice and humans“, *Endocrinology*, Bd. 157, Nr. 10, S. 3821–3831, 2016.
- [165] M. Gupte *u. a.*, „Angiotensin converting enzyme 2 contributes to sex differences in the development of obesity hypertension in C57BL/6 mice“, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, Bd. 32, Nr. 6, S. 1392–1399, Juni 2012.
- [166] V. J. DZAU, K. E. ELLISON, T. BRODY, J. INGELFINGER, und R. E. PRATT, „A Comparative Study of the Distributions of Renin and Angiotensinogen Messenger Ribonucleic Acids in Rat and Mouse Tissues“, *Endocrinology*, Bd. 120, Nr. 6, S. 2334–2338, Juni 1987.
- [167] C. Colombo *u. a.*, „Opposite effects of background genotype on muscle and liver insulin sensitivity of lipoatrophic mice: Role of triglyceride clearance“, *J. Biol. Chem.*, Bd. 278, Nr. 6, S. 3992–3999, Feb. 2003.
- [168] L. A. Rabelo *u. a.*, „Genetic deletion of ACE2 induces vascular dysfunction in C57BL/6 mice: Role of nitric oxide imbalance and oxidative stress“, *PLoS One*, Bd. 11, Nr. 4, S. 1–16, 2016.
- [169] P. Xu *u. a.*, „Endothelial dysfunction and elevated blood pressure in MAS gene-deleted mice.“, *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)*, Bd. 51, Nr. 2, S. 574–80, Feb. 2008.
- [170] H. M. Dansky *u. a.*, „Genetic Background Determines the Extent of Atherosclerosis in ApoE-Deficient Mice“, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, Bd. 19, Nr. 8, S. 1960–1968, Aug. 1999.
- [171] T. Uchiyama, F. Okajima, C. Mogi, A. Tobo, S. Tomono, und K. Sato, „Alamandine reduces leptin expression through the c-Src/p38 MAP kinase pathway in adipose

tissue“, *PLoS One*, Bd. 12, Nr. 6, S. e0178769, Juni 2017.

- [172] H. Li *u. a.*, „Telmisartan Ameliorates Nephropathy in Metabolic Syndrome by Reducing Leptin Release From Perirenal Adipose Tissue.“, *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)*, Bd. 68, Nr. 2, S. 478–90, Aug. 2016.
- [173] S. Kim, J. Whelan, K. Claycombe, D. B. Reath, und N. Moustaid-Moussa, „Angiotensin II Increases Leptin Secretion by 3T3-L1 and Human Adipocytes via a Prostaglandin-Independent Mechanism“, *J. Nutr.*, Bd. 132, Nr. 6, S. 1135–1140, Juni 2002.
- [174] P. E. Walters, T. A. Gaspari, und R. E. Widdop, „Angiotensin-(1–7) Acts as a Vasodepressor Agent Via Angiotensin II Type 2 Receptors in Conscious Rats“, *Hypertension*, Bd. 45, Nr. 5, S. 960–966, Mai 2005.
- [175] D. Herr, I. Bekes, und C. Wulff, „Local Renin-Angiotensin system in the reproductive system.“, *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, Bd. 4, S. 150, Okt. 2013.
- [176] A. C. S. Castilho, P. K. Fontes, F. F. Franchi, P. H. Santos, und E. M. Razza, „Renin-Angiotensin System on Reproductive Biology“, in *Renin-Angiotensin System - Past, Present and Future*, InTech, 2017.

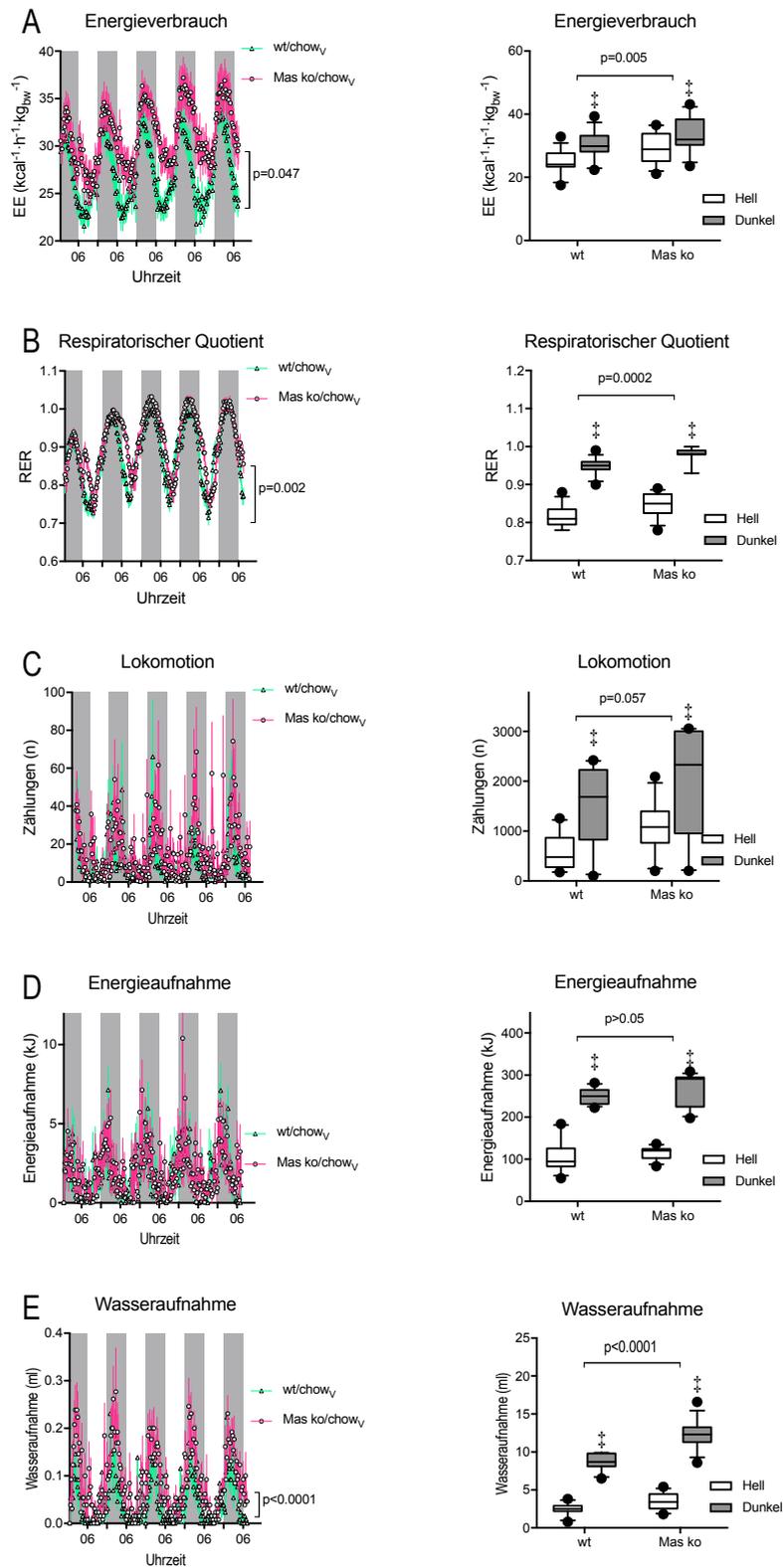
7 Anlagen

7.1 Anhang

Anhang 1: Tabelle - Vergleich chow-gefütterter wt- und Mas ko-Mäuse

bzgl. Körpergewicht, BMI, Fettmasse, Leptin-, Glucose-, Insulin-, C-Peptid-, HDL-, LDL- und TG-Spiegel. Mittelwert±SEM (n=12-13)

	wt	Mas ko	
Finales Körpergewicht (g)	33.1±0.5	30.5±0.6	p=0.0039
BMI	3.69±0.06	3.35±0.06	p=0.0007
Totale Fettmasse (mL)	4.56±0.32	3.36±0.29	p=0.0116
Leptin (ng/L)	8.06±0.74	5.40±0.97	p=0.0119
Glucose (mg/dL)	147±5	145±13	p=0.928
Insulin (ng/L)	1.91±0.23	1.36±0.15	p=0.0564
C-Peptid (ng/L)	4.02±0.58	3.50±0.38	p=0.467
HDL (mmol/L)	4.45±0.16	5.27±0.12	p=0.0005
LDL (mmol/L)	0.60±0.05	0.85±0.05	p=0.0024
TG (mmol/L)	1.51±0.09	1.41±0.06	p=0.375



Anhang 2: Abbildung - Vergleich chow-gefütterter wt- und Mas ko-Mäuse

A) Energieverbrauch, B) Respiratorischer Quotient, C) Lokomotion, D) Energieaufnahme, E) Wasseraufnahme. Darstellung der Daten als Median mit oberem und unterem Quartil als Boxplot. Die Antennen zeigen die Variabilität zwischen der 10. und 90. Perzentile an. Darstellung der Daten in linearen Graphen als Mittelwert \pm SEM. n=12-14, † p<0.05 verglichen mit der Hell-Phase

Anhang 3: Tabelle - Entwicklung des Körpergewichts von C57BL/6-Mäusen

unter Fütterung mit einer HFD verglichen mit chow-gefütterten Kontrollen und nach Behandlung mit TEL (8 mg/kg/d); * $p < 0.05$ vs. V_{chow}

Studie	Fütterungsdauer (d)	V_{chow}	V_{HFD}	TEL _{HFD}
Schuster et al. 2018 (Seattle, USA)	42	26.8±0.4 g	34.6±1.1 g*	25.7±0.6 g
Schuster et al. 2018 (Lübeck, Germany)	46	23.9±0.2 g	34.4±0.5 g*	25.7±0.4 g
Rawish et al. 2019 (Lübeck Germany)	78	26.8±0.5 g	37.4±1.2 g*	25.9±0.5 g

Anhang 4: Tabelle - Entwicklung von Körpergewicht und Fettmasse von Mas ko- verglichen zu wt-Mäusen

Studie	gen. Hintergrund	Alter (Wochen)	Geschlecht	Diät	KG	Fett- masse
Santos et al. 2008	FVB/N	9-10	männlich	chow	→	↑
Guimaraes et al. 2012	FVB/N	12	männlich	chow	→	
Silva et al. 2013	C57BL/6		männlich	chow	↓	↓
Honorato- Sampaio et al. 2018	C57BL/6	präpubertär			→	
diese Studie	FVB/N	12	männlich	chow	↓	↓

Anhang 5: Tabelle - Metabolische Parameter von C57BL6/N- und FVB/N-Mäusen

Studie	Parameter	
Colombo et al. 2003	Körpergewicht	höher in 28 Wochen alten C57BL6/N- als in FVB/N-Mäusen
Montgomery et al. 2013	Körpergewicht	gleich in 17 Wochen alten C57BL6/N- und FVB/N-Mäusen
Colombo et al. 2003	Fettsäuren und TG	höher in jungen FVB/N- als in C57BL6/N-Mäusen, wobei die Plasma-Spiegel mit zunehmendem Alter der Tiere konvergieren
Montgomery et al. 2013	braunes Fettgewebe	erhöht unter HFD ausschließlich in FVB/N-Mäusen
Montgomery et al. 2013	Energieumsatz	erhöht unter HFD ausschließlich in FVB/N-Mäusen
Montgomery et al. 2013	TNF- α , Mcp1	erhöht im Fettgewebe unter HFD-Fütterung ausschließlich in FVB/N-Mäusen
Montgomery et al. 2013	Plasms TG	vermindert unter HFD-Fütterung ausschließlich in FVB/N-Mäusen
Montgomery et al. 2013	Plasma TG	vermindert unter HFD-Fütterung ausschließlich in FVB/N-Mäusen
Colombo et al. 2003	Lipogenese, Fettsäureoxidation, Gluconeogenese, Genexpression	höher in C57BL6/N-Mäusen
Colombo et al. 2003	hep. CD36 mRNA	20-fach erhöht in C57BL6/N- im Vergleich zu FVB/N-Mäusen
Colombo et al. 2003	Blutzucker	niedriger in weibl. FVB/N- als in C57BL6/N-Mäusen
Colombo et al. 2003	Plasmainsulin	gleich in beiden Stämmen
Colombo et al. 2003	Insulinsensitivität	erhöhter Gehalt an hepatischen Triglyceriden in FVB/N als in B6-Mäusen sind hinweisend auf eine

gestörte Insulinsensitivität; allerdings zeigten euglycämische-hyperinsulinämische Clamps keine Unterschiede der Stämme bzgl. der Insulinsensitivität der Gewebe

Felix Braga et al. 2017

pankreatische β - und α -Zellen

höher in FVB/N- als in C57BL6/N-Mäusen

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die neue Definition des Metabolischen Syndroms _____	- 8 -
Tabelle 2: Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen anhand des BMI (WHO 2000) ___	- 10 -
Tabelle 3: Tierversuchsantrag und Genehmigungsdatum _____	- 26 -
Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Diäten mit Nährstoff- und Energiegehalt _____	- 27 -
Tabelle 5: Übersicht über die Versuchsgruppen _____	- 28 -
Tabelle 6: Stabilisatoren für den Multiplex-Assay _____	- 39 -
Tabelle 7: Körperlänge und Bauchumfang (in cm) _____	- 45 -
Tabelle 8: Organgewichte (in mg) _____	- 48 -

7.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) _____	- 14 -
Abbildung 2: Interaktion des Fettgewebs-RAAS und des systemischen RAAS _____	- 16 -
Abbildung 3: Protektive Effekte durch Ang(1-7) hinsichtlich Diabetes mellitus _____	- 23 -
Abbildung 4: Zeitplan Übersicht _____	- 29 -
Abbildung 5: Körpergewicht von chow- und HFD-gefütterten wt-Mäusen _____	- 42 -
Abbildung 6: Wachstum (Körpergewicht, Gewichtszunahme, BMI) _____	- 44 -
Abbildung 7: Verteilung der subkutanen und viszeralen Fettmasse _____	- 46 -
Abbildung 8: Subkutane und viszerale Fettmasse (in ml) _____	- 47 -
Abbildung 9: Durchschnittliche Energieaufnahme (ΣEI in kJ) pro Tag _____	- 50 -
Abbildung 10: Durchschnittliche Wasseraufnahme (in ml) pro Tag _____	- 50 -
Abbildung 11: Energieverbrauch (in $\text{kcal}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}_{\text{KG}}^{-1}$) pro Tag _____	- 51 -
Abbildung 12: Lokomotion (in Zählungen) pro Tag _____	- 52 -
Abbildung 13: Respiratorischer Quotient _____	- 52 -
Abbildung 14: Nüchternblutzucker (in mg/dl) _____	- 53 -
Abbildung 15: Plasmaspiegel von Insulin und C-Peptid (in ng/l) _____	- 54 -
Abbildung 16: Insulintoleranztest (ITT) _____	- 55 -
Abbildung 17: Plasmaspiegel von GIP und GLP-1 (in pg/l) _____	- 56 -
Abbildung 18: Plasmaspiegel der Adipozytokine/ gastrointestinalen Hormone (in ng/l und pg/l) _____	- 57 -
Abbildung 19: Leptinresistenztest (LRT) _____	- 59 -
Abbildung 20: Lipid-Plasmakonzentration (in mmol/l) im Nüchternblut _____	- 60 -
Abbildung 21: mRNA-Level von $AT_{1A/B}$ Rezeptoren (in Fold Changes) _____	- 62 -

Abbildung 22: mRNA-Level von Angiotensinogen (in Fold Changes) _____	- 62 -
Abbildung 23: mRNA-Level von ACE (in Fold Changes) _____	- 63 -
Abbildung 24: mRNA-Level von ACE2 (in Fold Changes) _____	- 64 -
Abbildung 25: mRNA-Level von Mas (in Fold Changes) _____	- 64 -
Abbildung 26: mRNA-Level von MrgD (in Fold Changes) _____	- 65 -
Abbildung 27: mRNA-Level von AT ₂ -Rezeptor (in Fold Changes) _____	- 65 -

7.4 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis Anhang

Anhang 1: Tabelle - Vergleich chow-gefütterter wt- und Mas ko-Mäuse _____	- 97 -
Anhang 2: Abbildung - Vergleich chow-gefütterter wt- und Mas ko-Mäuse _____	- 98 -
Anhang 3: Tabelle - Entwicklung des Körpergewichts von C57BL/6-Mäusen _____	- 99 -
Anhang 4: Tabelle - Entwicklung von Körpergewicht und Fettmasse von Mas ko- vergleichen zu wt-Mäusen _____	- 99 -
Anhang 5: Tabelle - Metabolische Parameter von C57BL6/N- und FVB/N-Mäusen _	- 100 -

7.5 Material- und Geräteverzeichnis

7.5.1 Materialien

Augen- und Nasensalbe	Bepanthen®, Deutschland
Blutgaskapillaren, Na-heparin, 100 mm/130 µl, Ø1,75 mm	Hirschmann Laborgeräte, Deutschland
Einmalkanülen, BD Microlane™, 27Gx3/4 0,4x19 mm	BD, Deutschland
Einmalkanülen Agani Needle 27Gx3/4“	Terumo, Japan
Einmalpipetten 10 ml	Greiner Bio-One, Österreich
Einmalspritzen Tuberkulinspritzen 1 ml	BD, Deutschland
Einmalspritzen Injekt®-F	B. Braun, Deutschland
Glucoseteststreifen Elite Sensor	Bayer Vital GmbH, Deutschland
Haltungsfutter für Mäuse, Altromin 1414	Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG, Deutschland
Latex-Einmalhandschuhe	Hartmann, Deutschland
Microvette® CB 300 µl, K2 EDTA	Sarstedt, Deutschland

Multipettenaufsätze Combitips advanced (0.5, 2.5, 5.0 ml)	Eppendorf, Deutschland
Multiwellplatten Molecular Probes® 96-Well	Thermo Fisher Scientific, USA
Nitril-Einmalhandschuhe Peha-soft nitrile FINO	Hartmann, Deutschland
Parafilm M	Pechiney Plastiv Packaging, USA
Pipettenspitzen, versch. Größen (10, 200, 1000 µl)	Sarstedt, Deutschland Eppendorf, Deutschland
Probenfläschchen für Gehirn, Pony Vial 6 ml	Perkin Elmer
Polypropylengefäße CELLSTAR® (15, 50 ml)	Greiner Bio-One, Österreich
Save Lock Tubes (0.2, 0.5, 1.5, 2 ml)	Eppendorf, Deutschland
Spezialdiäten für Mäuse	ssniff, Deutschland
<ul style="list-style-type: none"> - ssniff® EF D12450B * mod. LS - ssniff® EF acc. D12492 (I) mod. 	
Szintillationsfläschchen 20 ml	neoLab, Deutschland
Tupfer Pure-Zellin	Hartmann, Deutschland
Vinyl-Einmalhandschuhe 2000 PF	Rösner-Mautby Meditrade GmbH, Deutschland
Waagschalen, Plastik, verschiedene Größen	neoLab, Deutschland
Wägebepapier	neoLab, Deutschland

7.5.2 Geräte

Blutzuckermessgeräte Ascensia Elite XL/ Glucometer Elite XL	Bayer Vital GmbH, Deutschland
Bechergläser, versch. Größen	Schott, DWK Life Sciences GmbH, Deutschland
Eismaschine Scotsman AF 10	Scotsman, Deutschland
Erlenmeyerkolben, versch. Größen	Schott, DWK Life Sciences GmbH, Deutschland
Gefrierschrank (-80°C)	Colora, Deutschland
Gefrierschrank (-20°C)	Bosch, Deutschland
Gerät zur indirekten Kalorimetrie:	TSE Systems, Deutschland

PhenoMaster Home Cage System	
Knopfkanüle für orale Applikation	Acufirm Ernst Kratz, Deutschland
Kühlschränke (2-8°C)	Bosch, Deutschland
Magnetischer Separationsblock für Magnet-Beads	
Mehrkanalpipetten	Eppendorf, Deutschland
Messzylinder, versch. Größen	Schott, DWK Life Sciences GmbH, Deutschland
Mikropipetten (10, 100, 200, 1000 µl)	Eppendorf, Deutschland
MRT-Gerät Philips Achieva 1.5T, <i>freundlicherweise zur Verfügung gestellt durch die Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin, UKSH Campus Lübeck</i>	Philips, Niederlande
Multiplex Reader Luminex 200™ System (Bio-Plex 200®), <i>freundlicherweise zur Verfügung gestellt durch Prof. Marcus Altfeld, Heinrich-Pette-Institut Hamburg</i>	Bio-Rad Laboratories, München
Operationsbesteck (Scheren, Pinzetten)	Fine Science Tools, USA B. Braun Melsungen, Deutschland
Pipettierhilfe Pipetus	Hirschmann Laborgeräte, Deutschland
Schüttler Horizontalschüttler MTS4	IKA-Werke, Deutschland
Stoppuhr	Junghans, Deutschland
Vortex REAX 2000	Heidolph, Deutschland
Waagen:	
- ABT 100-5 M	Kern & Sohn, Deutschland
- MC1 LC 220 S	Sartorius, Deutschland
- MC1 LC 4200 S	Sartorius, Deutschland
Zentrifugen:	
- Biofuge Pico	Heraeus, Deutschland
- GR412	Thermo Fisher Scientific Inc., USA
- MIKRO 200R	Hettich, Deutschland

7.5.3 Versuchskits

MILLIPLEX® MAP Mouse Metabolic Magnetic Bead Panel
96 Well Plate Assay
Merck, Deutschland

7.5.4 Substanzen und Lösungen

Ethanol p.A. 98%	J. T. Baker, Holland
Flüssiger Stickstoff	Lokaler Lieferant
Formaldehydlösung $\geq 37\%$	C. Roth, Deutschland
Glucose-Lösung 50%	Delta Select, Deutschland
Gummi arabicum 10%	C. Roth, Deutschland
Insulin human: Insuman® rapid	Sanofi-Aventis, Deutschland
Kochsalz-Lösung 0,9% (steril)	Berlin-Chemie, Deutschland
Leptin (Mouse) $\geq 98\%$	PEPROTECH, USA
Luminex Drive Fluid #MPXDF-4PK	EMD Millipore, USA
PBS, Dulbescco's Phosphate Buffered Saline (w/o Calcium, w/o Magnesium, steril)	biowest, Frankreich
Telmisartan (Pulver)	Boehringer-Ingelheim, Deutschland
Trockeneis	UKSH Campus Apotheke, Lübeck, Deutschland
Xylazin/Ketamin-Lösung (0,14/0,13%)	UKSH Campus Apotheke, Lübeck, Deutschland

7.5.5 Rezepturen von Lösungen und Puffern

Formaldehydlösung 4%	54ml Formaldehydlösung $\geq 37\%$ ad 500ml PBS-Puffer
----------------------	---

7.5.6 Software

Office 2010 / 2011 / 2016

Graph Pad Prism Verison 5.0

MRlcro

xPONENT® 4.1

Vitom for Windows

Microsoft, USA

GraphPad® Software, USA

Chris Rorden, PhD, USA

Luminex®, USA

Klinik für Radiologie, UKSH

Lübeck, Deutschland

8 Veröffentlichungen

8.1 Poster

Posterpräsentation, Hypertonie 2016, Hochdruckliga, Berlin (01.12.2016 – 03.12.2016)

C. Dapper, F. Schuster, I. Stölting, N. Alenina, M. Bader, W. Raasch (2016) Antiobese efficacy of telmisartan is higher in transgenic mice lacking Mas

Posterpräsentation, ABC Symposium, GRK 1957, Lübeck (03.03.2017-04.03.2017)

C. Dapper, F. Schuster, I. Stölting, N. Alenina, M. Bader, W. Raasch (2017) The Antiobese efficacy after AT1 receptor blocker treatment is enlarged in transgenic mice lacking Mas

Posterpräsentation, 2nd German Pharm-Tox Summit - 83rd Annual Meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT), Heidelberg (06.03.2017 – 09.03.2017)

C. Dapper, F. Schuster, I. Stölting, N. Alenina, M. Bader, W. Raasch (2017) The Antiobese efficacy after AT1 receptor blocker treatment is enlarged in transgenic mice lacking Mas

8.2 Originalarbeiten

Carla Dapper, Franziska Schuster, Ines Stölting, Florian Vogt, Lucas Araújo Castro e Souza, Natalia Alenina, Michael Bader, Walter Raasch

The antiobese effect of AT1 receptor blockade is augmented in mice lacking Mas

Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, März 2019,
<https://doi.org/10.1007/s00210-019-01643-0>

8.3 Auszeichnungen und Preise

Förderung durch das *Medical Student Fellowship* des GRK1957 *Adipocyte-Brain-Crosstalk* 2015 – 2016, finanziert durch die DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft)

Young Investigator Award (Reisestipendium) anlässlich des 40. Wissenschaftlichen Kongresses der Deutschen Hochdruckliga e.V. DHL® | Deutsche Gesellschaft für Hypertonie und Prävention

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen danken, die mich bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit unterstützt und zu ihrer Entstehung beigetragen haben.

Mein Dank gilt hier vor allem Herrn Prof. Dr. Walter Raasch, der diese Dissertation als mein Doktorvater initiiert, betreut und allzeit tatkräftig unterstützt hat.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Markus Schwaninger, Leiter des Instituts für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universität zu Lübeck, für die Bereitstellung von Arbeitsplatz und Material und damit der Ermöglichung dieses Projektes.

Danken möchte ich außerdem dem GRK1957 „Adipocyte-Brain-Crosstalk“ und seinen Mitgliedern für finanzielle und wissenschaftliche Unterstützung, Anregungen und Motivation und ein umfassendes Trainingsprogramm.

Für weitere finanzielle Unterstützung unserer Studie danke ich dem Deutschen Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung eV (DZHK).

Besonderer Dank gilt auch Prof. Dr. Michael Bader und Natalia Alenina aus dem MDC Berlin, die durch die Bereitstellung der Versuchstiere und Durchführung der Genotypisierung und mRNA-Quantifizierung einen wesentlichen Teil zu dieser Arbeit beigetragen haben.

Weiterhin möchte ich allen Kollegen und Kolleginnen im Labor danken, für jeden Ratschlag und jede helfende Hand. Besonderer Dank gilt dabei Ines Stöltzing für ihre unermüdliche Unterstützung und Motivation, Anleitung und Betreuung und all ihre Zeit und Mühe, die sie mit ihrer Organisation und Mitarbeit in dieses Projekt gesteckt hat.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Jörg Barkhausen und der Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin des UKSH Lübeck, insbesondere Prof. Dr. med. Alex Frydrychowicz, für die Bereitstellung der MRT sowie die fachkundige Unterstützung bei der Schnittbildgenerierung und -auswertung. Außerdem danke ich Magdalena Gemmer für ihre Expertise und Gesellschaft bei zahlreichen MR-Untersuchungen.

Weiteren Dank aussprechen möchte ich Herrn Prof. Marcus Altfeld und Urte Matschi aus dem Heinrich Pette Institut in Hamburg für die Messungen mithilfe des luminex-Systems, sowie dem Institut für Klinische Chemie des UKSH Lübeck für die freundliche Übernahme der Messungen der Plasmalipidspiegel.

Abschließend danke ich von ganzem Herzen meinen Mitbewohnern, meinen Freunden, Lukas und meiner Familie für ihre Ermutigungen, ihre Geduld, ihre Ratschläge und Korrekturen.

10 Lebenslauf

Carla Dapper

Persönliche Daten

Geburtsdatum: 30.06.1992

Geburtsort: Coesfeld



Beruflicher Werdegang

seit November 2018 Assistenzärztin in der Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie des Klinikum Pinneberg, Regio Kliniken GmbH

Studium/Ausbildung

seit Juni 2015 Institut für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie, Universität zu Lübeck

Promotion bei Prof. Dr. rer. nat. Walter Raasch

Förderung durch das *Medical Student Fellowship* des GRK1957 *Adipocyte-Brain-Crosstalk* 2015 - 2016

finanziert durch die DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft)

Oktober 2011 – September 2018 Universität zu Lübeck, Schleswig-Holstein

Studium Humanmedizin

Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung Juni 2018

Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung April 2017

Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung September 2013

Mai 2017 – Apr
2018

Praktisches Jahr:

Segeberger Kliniken, Bad Segeberg
(3. Tertial: Innere Medizin)

Frauenklinik UKSH Campus Lübeck
(2. Tertial: Gynäkologie)

Luzerner Kantonsspital Sursee, Schweiz
(2. Tertial: Gynäkologie)

CHU Limoges, Frankreich
(1. Tertial: Chirurgie)

Juni 2011

Allgemeine Hochschulreife

August 2002 –
Juni 2011

Gymnasium Nepomucenum, Coesfeld, Nordrhein-Westfalen