

Diplomarbeit

**Assoziationen zwischen Tryptophan und Metaboliten des
Tryptophanstoffwechsels (Kynurenin und Kynureninsäure) mit
metabolischen und kardiovaskulären Surrogatparametern bei
hypertensiven PatientInnen.
The Graz Endocrine Causes of Hypertension (GECOH) Study**

eingereicht von
Nina Haucinger
Geb.Dat.: 05.11.1980

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der
Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am
Institut / Klinik für Innere Medizin
unter der Anleitung von

Priv. Doz. Dr. Andreas Johannes Tomaschitz
Univ.-Klinik f. Innere Med., Klin. Abt. für Kardiologie
Auenbruggerplatz 15, 8036 Graz

Assoz. Prof., Priv.-Doz. Dr. Stefan Pilz, PhD
Univ.-Klinik f. Innere Med., Klin. Abt. für Endokrinologie und Stoffwechsel

Graz, am 18.12.2013

Nina Haucinger

„Das Streben nach Wahrheit und Erkenntnis gehört zum Schönsten, dessen der Mensch fähig ist, wenn auch der Stolz auf dieses Streben meist im Munde derjenigen ist, die am wenigsten von solchem Streben erfüllt sind.“

(Albert Einstein 1943)

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 18.12.2013

Nina Haucinger

Danksagungen

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Priv –Doz., Dr. med. univ. Andreas Tomaschitz bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Diplomarbeit zu schreiben, und mir immer eine große Stütze war.

Weiters bedanke ich mich bei Assoz. Prof., Priv -Doz., Dr. med. univ. Stefan Pilz für seine Ideen, sein Hintergrundwissen und dafür, dass auch er immer ein offenes Ohr für mich hatte.

Zuletzt bedanke ich mich bei meinen Eltern, die mir dieses Studium ermöglicht haben und deren Unterstützung ich all die Jahre genossen habe.

1. Zusammenfassung/Abstract

Hintergrund:

Immer häufiger werden Hinweise gefunden, die darauf hindeuten, dass es einen Zusammenhang zwischen Tryptophan und Tryptophanmetaboliten und der Entstehung von Stoffwechselstörungen und Gefäßerkrankungen gibt. In dieser Arbeit werden die Zusammenhänge zwischen Tryptophan und tryptophanverwandten Abbauprodukten, Parametern des Glukosestoffwechsels sowie etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren beschrieben. Alle Patienten waren Teilnehmer der GECHOH Studie.

Methoden:

Bei 201 hypertensiven nicht-diabetischen PatientInnen (Durchschnittsalter: $48,1 \pm 16,0$ Jahre; 61,7% Frauen) wird die Beziehung zwischen Tryptophan und assoziierten Metaboliten - Kynurenine und Kynureninsäure - mit metabolischen und kardiovaskulären Parametern evaluiert.

Ergebnisse:

Bei PatientInnen mit einem Metabolischem Syndrom waren die Kynureninsäurespiegel signifikant höher, als bei Patienten ohne Metabolischem Syndrom ($P=0,048$).

In einer multivariaten linearen Regressionsanalyse zeigte sich eine positive Korrelation von Tryptophan und Tryptophan-Metaboliten mit Insulinresistenz, Nüchtern-C-Peptid, glomerulärer Filtrationsrate, Urin-Albumin-Kreatinin-Quotienten und NT-pBNP.

Kein signifikanter Zusammenhang wurde zwischen Tryptophan und Tryptophan-Metaboliten und systolischem / diastolischem Blutdruck, Serum-Triglyceridkonzentration, High Density Lipoprotein-Cholesterin, Low-Density-Lipoprotein-Cholesterin, Body Mass Index, Taillenumfang und Nüchtern-Glukose gefunden.

Schlussfolgerungen:

Die vorliegenden Daten unterstützen die Annahme, dass Tryptophan bei Stoffwechselstörungen und Gefäßerkrankungen eine tiefgreifende Rolle spielt.

INHALT

1. EINLEITUNG	8
1.1. Kardiovaskuläre Risikofaktoren	8
1.2. Das Metabolische Syndrom	8
1.2.1. Definition des Metabolischen Syndroms	10
1.2.2. Definition nach WHO.....	10
1.2.3. Definition nach IDF	11
1.2.4. Definition nach NCEP-ATP-III.....	12
1.2.5. Definition und Einteilung von Übergewicht und Adipositas	12
1.3. Arterielle Hypertonie	14
1.3.1. Epidemiologie der Arteriellen Hypertonie	14
1.3.2. Klassifikation	15
1.3.3. Arterielle Hypertonie und ihre Folgen	16
1.4. Tryptophan.....	17
1.4.1. Tryptophan oxydierende Enzyme	20
1.4.1.1. Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO)	20
1.4.1.1.1. Entdeckung der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO).....	21
1.4.1.1.2. Aufbau und Expression der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO)	21
1.4.1.1.3. Biologische Funktion der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO)	22
1.4.1.1.4. Die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) als zentraler Regulator des Tryptophan/ Kynurenin-/Serotonin Haushaltes.....	23
1.4.1.1.5. Katalytische Eigenschaften der Indolamin 2,3-Dioxygenase.....	25
1.4.1.2. Indolamin 2,3-Dioxygenase-2 (IDO-2)	25
1.4.1.3. Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO).....	26
1.4.1.3.1. Struktur der TDO.....	26
1.4.1.3.2. Katalytische Aktivität der TDO	26
1.4.1.3.3. Biologische Funktion der TDO	27
1.5. Kynurenin- Tryptophan- Ratio	27
1.6. Tryptophan und Stoffwechsel	27
2. ZIELSETZUNG DER EIGENEN ARBEIT	30

3. METHODENWAHL.....	31
3.1. Methodenwahl.....	31
3.2. Messungen von biochemischen und klinischen Variablen.....	31
3.3. DATENAUSWERTUNG	33
4. STUDIE UND PATIENTEN	34
4.1. Studie.....	34
4.2. Patientenkollektiv	35
4.2.1. Einschlusskriterien.....	35
4.2.2. Ausschlusskriterien.....	35
5. STATISTIK	35
5.1. Statistische Analysen	35
6. ERGEBNISSE.....	37
7. DISKUSSION.....	43
8. ABKÜRZUNGEN.....	47
9. LITERATURVERZEICHNIS.....	49
11. ABBILDUNGSVERZEICHNIS	60

1. EINLEITUNG

1.1. Kardiovaskuläre Risikofaktoren

Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie und Rauchen sind die Hauptrisikofaktoren für die Entstehung der kardiovaskulären Herzerkrankung (1). Hinzu kommen weitere Faktoren wie Aspekte des Lebensstils, zum Beispiel die fehlende körperliche Bewegung, starkes Übergewicht, Alkoholkonsum oder auch Entzündungsparameter wie das C-reaktive Protein, psychosoziale und umweltbedingte Faktoren (2).

Je mehr Risikofaktoren vorhanden sind, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, an kardiovaskulären Erkrankungen wie Herzinfarkt, Schlaganfall oder arterieller Verschlusskrankheit zu erkranken.

1.2. Das Metabolische Syndrom

Das Metabolische Syndrom (MetSy) ist heute der entscheidende Risikofaktor der Sklerose der großen Gefäße und damit verantwortlich, für die Mehrzahl der Todesfälle, auch in Österreich. Jedes Jahr sterben weltweit 18 Millionen Menschen an kardiovaskulären Erkrankungen, wobei Diabetes, Hypertonie, Rauchen und Dyslipidämie als bedeutendste Risikofaktoren gelten (3). Das Metabolische Syndrom inkludiert neben einer Störung im Glukosestoffwechsel auch Fettstoffwechselstörungen, Bluthochdruck und vermehrtes viszerales Fett (gemessen am Taillenumfang) und stellt daher eine besondere Gefahr für die Entwicklung von kardiovaskulären Komplikationen dar. In einer Studie aus dem Jahr 2003 konnte aufgezeigt werden, dass 87% aller Diabetiker in Amerika ein Metabolisches Syndrom aufwiesen (4).

Die Definition des Metabolischen Syndroms wurde in den letzten Jahren einem leichten Wandel unterzogen. Die Klassifikationen (vor allem WHO und NCEP-ATP-III) nähern

sich marginal unterschiedlich entweder via Insulinresistenz oder Fettverteilung an den Menschen, und sind daher naturgemäß in Grenzfällen nicht 100 % deckungsgleich, obwohl die meisten „schwerer betroffenen“ Patienten dann in beiden Schemata als Metabolisches Syndrom klassifiziert werden (5). Wir haben gelernt, dass die androide Adipositasform und damit das viszerale Fett, zentraler Triggerfaktor des Metabolischen Syndroms ist, und auch zahlreiche neuere makrovaskuläre Risikofaktoren, wie Akutphasenproteine, Entzündungsmediatoren und prokoagulatorische Zustände, beeinflusst. Das Metabolische Syndrom gilt als klinische Vorstufe für die Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 (6). Die oft erst später hinzutretende Blutzuckerstoffwechselstörung, bis hin zum Diabetes mellitus Typ II selbst, verursacht mehrheitlich zusätzlich die Mikroangiopathien (5).

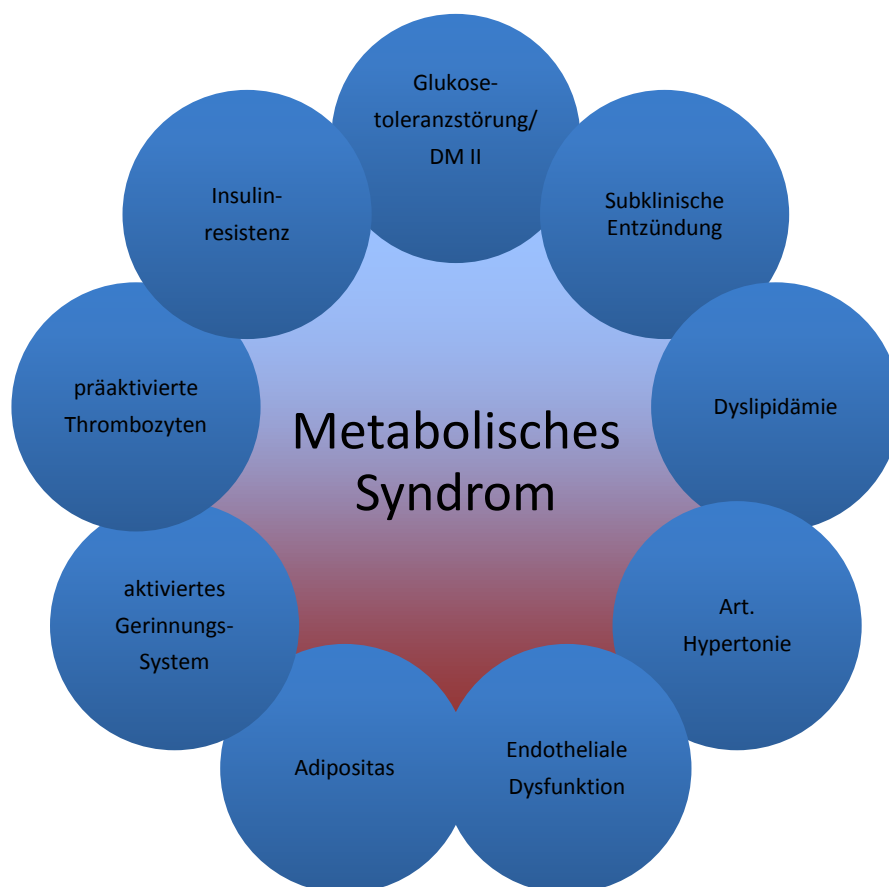


Abbildung 1: Das Metabolische Syndrom als kardiovaskulärer Risikofaktor nach Wascher (6)

1.2.1. Definition des Metabolischen Syndroms

Das Metabolische Syndrom beschreibt eine Kombination kardiovaskulärer Risikofaktoren, die entsprechend der jeweiligen Definition zeitgleich in einem Menschen vorliegen und mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung verschiedenster Krankheitsbilder, insbesondere der Atherosklerose, und ihren Begleiterscheinungen, einhergehen. Es existieren verschiedene Definitionen des Metabolischen Syndroms, die sich in der Gewichtung der einzelnen Risikofaktoren, der praktischen Anwendung und den Grenzwertdefinitionen unterscheiden. Die verschiedenen Definitionen orientieren sich entweder an der Insulinresistenz (WHO 1998) oder am Lebensstil (NCEP-ATP-III-2001, IDF 2006) (7).

1.2.2. Definition nach WHO

In der Definition des Metabolischen Syndroms der WHO von 1998 wird die Insulinresistenz als Hauptkomponente des Symptomkomplexes angenommen. Demnach ist die Insulinresistenz in Form eines Typ 2 - Diabetes mellitus oder einer pathologischen Glukosetoleranz eine wichtige Voraussetzung für die Definition des Metabolischen Syndroms.

Das heißt, nach den WHO-Kriterien von 1998 liegt ein metabolisches Syndrom dann vor, wenn folgende Risikofaktoren bestehen (8):

- Diabetes mellitus
- gestörte Glukosetoleranz
- pathologischer Nüchternblutzucker bzw. Insulinresistenz.

sowie zwei der folgenden Parameter:

- arterielle Hypertonie, das heißt Blutdruck $\geq 140/90$ mmHg
- Dyslipidämie: Triglyceride $> 1,695$ mmol/l und HDL $\leq 0,9$ mmol/l (bei Männern) bzw. $\leq 1,0$ mmol/l (bei Frauen)

- viszerale Adipositas: Verhältnis von Taillen zu Hüftumfang $> 0,9$ (bei Männern) bzw. $> 0,85$ (bei Frauen) und/oder ein BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$ (8)

Die Referenzwerte der Österreichischen Diabetes Gesellschaft (ÖDG) und der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) decken sich zu einem großen Teil mit denen der WHO, mit Ausnahme des physiologischen Grenzwertes der Nüchtern glukose (9). Dieser liegt laut ÖDG und DDG bei $< 100 \text{ mg/dl}$ ($< 5,5 \text{ mmol/l}$) verglichen zu dem älteren Grenzwert der WHO, der erst ab 110 mg/dl ($6,1 \text{ mmol/l}$) als pathologisch galt (10).

1.2.3. Definition nach IDF

Die im Jahr 2005 von der International Diabetes Federation (IDF) erarbeitete Definition des Metabolischen Syndroms, stellt eine, im Gegensatz zur WHO Definition, vereinfachte Möglichkeit zur Anwendung in der Praxis da. Hierbei spielt der pathologische Faktor der abdominalen Adipositas eine entscheidende Rolle (8).

Das heißt, nach der Definition der IDF, muss eine abdominale Adipositas, gemessen als Taillenumfang in Nabelhöhe mit einem Umfang von mehr als 94 cm bei Männern bzw. mehr als 80 cm bei Frauen, vorliegen (11). Zusätzlich müssen zwei der vier unten genannten Kriterien zur Diagnose eines Metabolischen Syndroms im Einzelfall vorliegen:

- Blutdruck $\geq 130/85 \text{ mmHg}$ bzw. eine bereits bestehende, therapierte arterielle Hypertonie
- Triglyzeride $> 150 \text{ mg/dl}$ bzw. eine bereits bestehende medikamentöse Therapie zur Senkung des Triglyzeridspiegels
- HDL-Cholesterin $< 40 \text{ mg/dl}$ (Männer) bzw. $< 50 \text{ mg/dl}$ (Frauen) bzw. bereits bestehende medikamentöse Therapie zur Anhebung des HDL- Cholesterinspiegels
- Nüchtern glukose $> 100 \text{ mg/dl}$ oder ein bereits diagnostizierter Typ 2- Diabetes mellitus

1.2.4. Definition nach NCEP-ATP-III

Die Variante des National Cholesterol Education Programm Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (NCEP-ATP-III) des amerikanischen National Institute of Health (NIH) wurde aus der Überlegung heraus entwickelt, dass das Metabolische Syndrom eine Art Cluster bestimmter Risikofaktoren ist und mit einer Prädisposition für den Typ 2- Diabetes mellitus und einem erhöhtem Risiko für verschiedenste kardiovaskuläre Erkrankungen einhergeht.

Sie ist ähnlich der IDF-Definition nämlich darin, dass die Insulinresistenz nicht den Schwerpunkt des Symptomkomplexes bilden muss. Der Unterschied zur IDF-Klassifikation liegt darin, dass die abdominelle Fettsucht lediglich als im Vergleich zu den übrigen Kriterien gleichberechtigter Wertungsfaktor in die Definition eingeht, während gleichzeitig bestimmte andere Grenzwerte, wie die für den Taillenumfang und die Nüchternglukose, vergleichsweise höher liegen (5). Ein Metabolisches Syndrom wird der NCEP-ATP-III zufolge dadurch charakterisiert, dass mindestens drei der folgenden fünf Punkte im Einzelfall nachweisbar sind:

- abdominelle Fettverteilung, gemessen als Taillenumfang in Nabelhöhe mit einem Umfang von > 102 cm (Männer) bzw. > 88 cm (Frauen)
- Blutdruck \geq 130/85 mmHg
- Triglyzeride > 150 mg/dl
- HDL-Cholesterin < 40 mg/dl (Männer) bzw. < 50 mg/dl (Frauen)
- Nüchternglukose > 110 mg/dl (5)

1.2.5. Definition und Einteilung von Übergewicht und Adipositas

Übergewicht und die gesteigerte Form Adipositas stellen unterschiedliche Schweregrade der Körpergewichtszunahme dar, die ein definiertes Normalgewicht überschreiten und im Regelfall auf eine Erhöhung des individuellen Körperfettanteils zurückzuführen sind. Es werden unterschiedliche Begriffe wie Fettsucht, Übergewicht, Adipositas oder

Fettleibigkeit verwendet, die alle als Synonym für eine Vermehrung des Körperfettes über ein normales Maß hinaus, verwendet werden (12).

Das im jeweiligen Einzelfall vorliegende Körpergewicht, bzw. die Einteilung nach Gewichtsklassen, wird mit Hilfe der Berechnung des Body Mass Index (BMI) vorgenommen (12).

Der individuelle Body-Mass-Index (BMI) lässt sich mit folgender Formel bestimmen:

$$\text{BMI [kg/m}^2\text{]} = \frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{\text{Körperhöhe [m]} * \text{Körperhöhe [m]}}$$

Formel zur Berechnung des Body-Mass-Index (13)

Das Risiko für mögliche Begleiterkrankungen und Folgeschäden lässt sich aus der nachfolgenden Tabelle einfach ablesen, sodass man damit auch einfach und effizient im Praxisalltag arbeiten kann.

Kategorie	BMI (kg/m ²)	Risiko für Begleiterkrankungen des Übergewichtes
Untergewicht	< 18,5	niedrig
Normalgewicht	18,5 – 24,9	durchschnittlich
Übergewicht Präadipositas Adipositas Grad I Adipositas Grad II Adipositas Grad III	≥ 25,0 25,0 – 29,9 30,0 – 34,9 35,0 – 39,9 ≥ 40,0	gering erhöht erhöht hoch sehr hoch

Tabelle 1: Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen anhand des BMI (13)

1.3. Arterielle Hypertonie

Die arterielle Hypertonie ist eine der häufigsten chronischen Erkrankungen in den Industrieländern und wird in primäre und sekundäre arterielle Hypertonie eingeteilt. Bei der Mehrzahl der Hypertonien lässt sich keine Ursache feststellen, man spricht dann von primärer Hypertonie. Risikofaktoren für die Entstehung einer primären, multifaktoriell bedingten Hypertonie findet man vor allem in den Ernährungsgewohnheiten, Umweltfaktoren und im Lebensstil. So kann zum Beispiel eine erhöhte Kochsalzzufuhr über die Ernährung, bei entsprechender genetischer Disposition, zur Entwicklung einer primären arteriellen Hypertonie führen. Bereits geringgradiges Übergewicht, eine sehr cholesterinreiche Kost oder Alkoholkonsum, können einen Anstieg des Blutdruckes bedingen (14). Zusammenfassend kann man also sagen, dass neben genetischen und anderen nicht beeinflussbaren Faktoren, wie zum Beispiel Alter und Geschlecht, die Entstehung und die Progression der Arteriosklerose und damit auch der koronaren Herzkrankheit (KHK) von sehr vielen verschiedenen Faktoren bestimmt wird. Entscheidende beeinflussbare Risikofaktoren sind zum Beispiel: Rauchen, Fehlernährung, Übergewicht und Bewegungsmangel (15). Entscheidende Risikoerkrankungen für kardiale Erkrankungen sind die Hypertonie, der Diabetes mellitus und die Hypercholesterinämie. Das kardiovaskuläre Risiko steigt kontinuierlich, bereits ab Blutdruckwerten von 115mmHg systolisch und 75 mmHg diastolisch, an. Lebensstiländerungen wie eine Gewichtsreduktion, Alkoholstriktion oder körperliche Bewegung können die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie verhindern (16).

Für die Behandlung der arteriellen Hypertonie gibt es, neben der Änderung des Lebensstils und der Ernährungsgewohnheiten, verschiedene medikamentöse Wirkstoffgruppen, die den Blutdruck effektiv senken können. Durch adäquate medikamentöse Behandlung der Hypertonie kann das kardiovaskuläre Risiko deutlich gesenkt werden (17).

1.3.1. Epidemiologie der Arteriellen Hypertonie

Weltweit ist die Hypertonie der häufigste Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen und Mortalität. Das männliche Geschlecht ist deutlich häufiger betroffen als das weibliche Geschlecht. Die Prävalenz der Hypertonie steigt mit dem Alter an und ist daher besonders

im Alter eine nicht zu vernachlässigende Gefahr. Im Alter von über 65 Jahren leiden ca. 60 - 70% an einer Hypertonie mit schwerwiegenden Folgen (18).

In der heutigen Zeit zählt die Hypertonie bereits zu den häufigsten Risikofaktoren für erhöhte Mortalität und chronische Beeinträchtigung auf der ganzen Welt. Dies gilt nicht nur für die westlichen Länder, sondern auch für die Schwellen- und Entwicklungsländer (19).

Über 5% aller Todesfälle lassen sich direkt auf die Hypertonie zurückführen. In Österreich alleine, leiden ca. 1,3 Millionen Menschen unter Bluthochdruck. Anders ausgedrückt, leidet etwa jede fünfte Person über dem fünfzehnten Lebensjahr an Hypertonie.

Hypertonie zählt zu jenen fünf chronischen Krankheiten (Hypertonie, psychische Erkrankungen, Diabetes, Herzerkrankungen, Asthma), auf welche ungefähr die Hälfte der Ausgaben im Gesundheitswesen in Europa entfällt. Chronischen Krankheiten bzw. Gesundheitsprobleme nehmen mit dem Alter zu. Frauen sind davon in allen Altersgruppen stärker betroffen als Männer. Während nur jeder sechste 15- bis 29-Jährige ein dauerhaftes gesundheitliches Problem hat (125.000 Männer, 140.000 Frauen), sind es bei den über 75-Jährigen etwa zwei Drittel der Bevölkerung (140.000 Männer, 300.000 Frauen) (20). Nur ein Viertel davon entfallen auf die Kosten der Behandlung der Krankheit selbst, der Rest wird für Folge- und Begleiterkrankungen ausgegeben. In Österreich führen kardiovaskulär wirksame Pharmaka bzw. Antihypertensiva die Liste der am meisten verschriebenen Medikamente an.

1.3.2. Klassifikation

Die Weltgesundheitsorganisation hat 1999 eine Klassifikation der arteriellen Hypertonie herausgebracht, bei der die unterschiedlichen Schweregrade als flexible Richtwerte vorgesehen sind. Die arterielle Hypertonie soll als Teil des kardiovaskulären Gesamtrisikos angesehen werden (14). Das kardiovaskuläre Gesamtrisiko steigt linear mit systolischem und diastolischem Blutdruck, ist aber zusätzlich von weiteren Risikofaktoren abhängig.

Das kardiovaskuläre Gesamtrisiko wird von folgenden Faktoren beeinflusst: Alter, systolischer und diastolischer Blutdruck, Adipositas, Nikotinabusus, erhöhte Cholesterinwerte, positive Familienanamnese und Diabetes, sowie bereits vorhandene Herz-, Nieren- und Gefäßerkrankungen.

Bewertung	Systolisch (mm Hg)	Diastolisch (mm Hg)
Optimaler Blutdruck	< 120	< 80
Normaler Blutdruck	120 - 129	80 - 84
Hoch- Normaler Blutdruck	130 - 139	85 - 89
Milde Hypertonie (Stufe I)	140 - 159	90 - 99
Mittlere Hypertonie (Stufe II)	160 - 179	100 - 109
Schwere Hypertonie (Stufe III)	> 180	> 110
Isolierte Systolische Hypertonie	> 140	< 90

Tabelle 2: Einteilung der Hypertonie bei der Praxis- bzw. Gelegenheitsblutdruckmessung (Deutsche Hochdruckliga e. V., 2006) (14)

1.3.3. Arterielle Hypertonie und ihre Folgen

Die Hypertonie ist das Ergebniss eines erhöhten Herzzeitvolumen, eines erhöhten peripheren Widerstandes oder eine Kombination beider (21). Die Ursache für eine Erhöhung des Herzzeitvolumens und für eine Erhöhung des peripheren Widerstandes, kann sowohl über eine funktionelle Vasokonstriktion durch eine gesteigerte Sympathikusaktivität bedingt sein, als auch über strukturelle Gefäßwandveränderungen (Gefäßremodeling) vermittelt werden. Pathophysiologisch kann man daher zwischen einem Volumenhochdruck und einem Widerstandshochdruck unterscheiden, wobei der Widerstandshochdruck wesentlich häufiger die Ursache einer chronischen Hypertonie ist (14).

Ein nicht behandelter und somit chronisch erhöhter Blutdruck löst unterschiedliche Anpassungsvorgänge in unserem Organismus aus. Es kommt unter anderem zu einer Sollwertverstellung des Barorezeptorreflexes, zur Hypertrophie der Widerstandsgefäße und zu einer Rechtsverschiebung der Druck-Natriurese-Beziehung. Diese Veränderungen

ihrerseits, wirken wiederum Blutdrucksteigernd, womit sie zur Aufrechterhaltung bzw. Progredienz des Hypertonus beitragen (14).

1.4. Tryptophan

In unseren Zellen ist eine genaue Regulation der lokalen Tryptophankonzentration für die Ausprägung von immunregulatorischen und antimikrobiellen Effekten verantwortlich. Die lokale Regulation der Aminosäure Tryptophan ist ein wichtiger antimikrobieller und immunregulatorischer Effektor Mechanismus (22). Es wird vermutet, dass Tryptophan eine zentrale Rolle im Stoffwechsel spielt und somit starke Auswirkungen auf lebensnotwendige zelluläre Prozesse hat.

In der Natur kommt Tryptophan als L-Tryptophan und als D-Tryptophan vor. Jedoch nur das L-Tryptophan ist physiologisch von Bedeutung.

L-Tryptophan ist, wie oben schon erwähnt, eine Aminosäure. Chemisch betrachtet ist die Aminosäure L-Tryptophan mit einem aromatischen Indol-Ringsystem ausgestattet. Indol ist ein aromatischer Heterocyclus und zählt zusammen mit Phenylalanin, Tyrosin und Histidin zu der Gruppe der aromatischen Aminosäuren (23).

Aromatische Aminosäuren, wie die oben genannten Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan, sind durch ihre aromatischen Seitenketten relativ unpolar und hydrophob und können dadurch alle an hydrophoben Wechselwirkungen beteiligt sein.

Tryptophan gehört zu den acht Aminosäuren, die vom menschlichen Organismus nicht synthetisiert werden können. Eine essentielle Aminosäure ist eine Aminosäure, die unser Organismus benötigt, diese aber nicht aus elementaren Bestandteilen selbst synthetisieren kann. Das heißt, dass diese acht Aminosäuren mit der Nahrung zugeführt werden müssen. Die acht für unseren Organismus essentiellen Aminosäuren sind neben Tryptophan Valin, Phenylalanin, Leucin, Isoleucin, Lysin, Threonin und Methionin. Wenn diese Aminosäuren nicht mit der Nahrung aufgenommen werden, stellen sich Mangelzustände ein und der Organismus kann auf Dauer nicht überleben (23).

Im Gegensatz dazu können Pflanzen und einige Mikroorganismen selbst Tryptophan herstellen. So können zum Beispiel Bakterien wie E. coli in einem mehrstufigen Prozess Tryptophan aus Shikimisäure beziehungsweise aus Anthranilsäure synthetisieren.

Menschen müssen, wie oben schon erwähnt, Tryptophan über die Nahrung aufnehmen. Die Menge der benötigten täglichen Tryptophanzufuhr über die Nahrung beträgt für einen erwachsenen Menschen ca. 3,5 bis 6 mg (24) und kann zudem in unterschiedlichen Situationen, wie zum Beispiel in der Schwangerschaft, auch höher sein (25).

Nahrungsmittel, die besonders reichhaltige Mengen an Tryptophan enthalten, sind dabei Kakao, Nüsse, Hülsenfrüchte und Fleisch. In Milch ist Tryptophan in Lactalbumin enthalten. L-Tryptophan ist eine proteinogene Aminosäure, d. h. sie wird zum Aufbau diverser Proteine benötigt. Zudem ist sie ein Provitamin, welches erst noch zu einem Vitamin umgewandelt werden muss, um für den Körper von Nutzen zu sein (26).

Tryptophan wird im Stoffwechselweg von Serotonin durch das Enzym Tryptophan Hydroxylase zu Hydroxytryptophan umgewandelt. Serotonin wird anschließend durch eine Pyridoxalphosphatabhängige Decarboxylierung von 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) gebildet. Serotonin wird in enterochromaffinen Zellen, Thrombozyten und im Nervensystem in serotoninerger Neuronen gebildet (27).

Als Gewebshormon und Neurotransmitter hat Serotonin einige wichtige Funktionen. Im Nervensystem des Darmes zum Beispiel ist Serotonin an der Regulation der Magen-Darmtätigkeit beteiligt, weiters findet man es auch im Zentralnervensystem und im Blut, wo es eine wichtige Rolle bei der Regulation des Herz-Kreislaufsystems spielt.

Außerdem hat Serotonin im Zentralnervensystem Auswirkungen auf viele Gehirnfunktionen, es beeinflusst zum Beispiel die Wahrnehmung, den Schlaf, die Temperaturregulation, die Sensorik, das Schmerzempfinden, das Angstempfinden und die Hormonsekretion (28). Serotonin wird zusätzlich durch die N-Acetyltransferase und 5-Hydroxyindol-O-Methyltransferase über N-Acetyl-5-Hydroxytryptamin zu Melatonin abgebaut. Dieser Abbau findet im Darm, in der Netzhaut und den Pinealozyten der Epiphyse statt, von wo aus das Melatonin den Tag-Nacht-Rhythmus des Körpers steuert. Es wird nachts bei fehlender Lichteinstrahlung freigesetzt und induziert Müdigkeit und Schlaf. Im Winter können Veränderungen des Melatonin Spiegels zu vermehrter Müdigkeit, Schlafstörungen bis hin zu Depression führen. Ähnliche Folgen können jedoch auch durch Schichtarbeit und Jet-Lag bedingte Abweichungen im Melatoninhaushalt auftreten (29).

Tryptophan ist ein wesentlicher Bestandteil des Aminosäurestoffwechsels. Es wird von der Tryptophan Transaminase benötigt, die es als Donor für die Übertragung der α -

Aminogruppe auf α -Ketosäuren einsetzt. Das Pyridoxalphosphat (PLP), welches als Vitamin B6 bezeichnet wird, dient bei dieser chemischen Reaktion als Coenzym. Vitamin B6 ist dabei das zentrale Vitamin im Aminosäurestoffwechsel. Es ist z.B. als Cofaktor der Transaminasen und Decarboxylasen aktiv. Zur Vitamin B6-Gruppe (Pyridoxine) gehören das Pyridoxamin, das Pyridoxal und das Pyridoxin, sowie die jeweiligen 5'-Phosphat-Ester wie zusätzlich noch das Pyridoxat, das mit dem Urin ausgeschieden wird. Die wasserlöslichen Vitamine können, bis auf Pyridoxat, ineinander umgewandelt werden. Biologisch aktiv ist das Pyridoxal-5'-phosphat (PLP, PALP). Das Vitamin B6 ist bei allen eiweißumbauenden Stoffwechselfvorgängen wichtig und es dient als Botenstoff in der Reizübertragung zwischen Nervenzellen. Vitamin B6 ist in sehr vielen Nahrungsmitteln enthalten, besonders hoch ist die Konzentration zum Beispiel in der Leber, in Milchprodukten, Weißbier, Avocado, Bananen oder Sojaprodukten. Vitamin B6-Mangelkrankungen sind selten und kommen vor allem bei Mangelernährung oder Alkoholmissbrauch vor (30). Die Symptome sind eher unspezifisch. Es können neurologische Symptome im Vordergrund stehen, wie zum Beispiel Neuritis, Depressionen aber auch andere Symptome wie Anämie oder Glossitis können durch einen Vitamin B6-Mangel auftreten.

Circa 95% des mit der Nahrung aufgenommenen Tryptophans werden im Kynurenin Stoffwechselweg abgebaut. Der erste und limitierende Schritt kann dabei von drei Enzymen, der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO), der Indolamin 2,3-Dioxygenase-2 (IDO-2) und der Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO) katalysiert werden.

Die Funktion des Kynureninstoffwechsels ist abhängig von den Zellen bzw. vom Gewebe in denen er stattfindet, da nicht in allen Zellen und somit auch nicht in allen Geweben alle Enzyme für einen vollständig stattfindenden Kynureninstoffwechsel vorhanden sind (23).

In einem nächsten chemischen Prozess wird durch Abspaltung des Fünfringes durch die Formyl-Kynurenin Formidase die Abspaltung von Ameisensäure katalysiert, wodurch Kynurenin entsteht. Das dabei entstandene Kynurenin dient in weiterer Folge als Ausgangsstoff für eine ganze Reihe von weiteren, für den menschlichen Organismus wichtigen, Abbauprodukten. Es wird durch die Enzyme Kynureninase, Kynurenin Aminotransferase (KAT) oder Kynurenin 3-Hydroxylase zu Metaboliten wie Anthranilsäure, Kynureninsäure, Chinolinsäure und Nicotinamid synthetisiert (31).

Einige dieser dabei entstehenden Abbauprodukte haben eine neuroregulierende Funktion. Wobei man hier zwischen denen unterscheidet, die einen neuroprotektiven und denen, die einen neurodegenerativen Einfluss auf unseren Organismus haben (32).

Neuroprotektiv ist zum Beispiel die Kynureninsäure, die einen antikonvulsiven Effekt vermitteln kann. Einen neurotoxischen Effekt dagegen haben zum Beispiel die 3-Hydroxykynurenin- und die Chinolinsäure.

Ausserdem hat man herausgefunden, dass nicht nur Neurone, sondern auch T-Zellen von toxisch wirkenden Metaboliten des Kynurenin Stoffwechselweges beeinflusst werden. So können Kynurenin, 3-Hydroxy-Kynurenin und 3-Hydroxyanthranilsäure *in vitro* und *in vivo* die T-Zell Antworten von Rattenzellen hemmen (33) und auch menschliche T-Zellen können in der Anwesenheit von toxischen Kynureninmetaboliten nicht mehr proliferieren (34). Zum Schluss des Kynurenin Stoffwechselweges entstehen in geringem Ausmaß Nicotinsäure und Nicotinamid, die zusammenfassend als Niacin oder auch Vitamin B3 bezeichnet werden. Nicotinsäure ist am Eiweiß-, Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel beteiligt. Die biologisch aktiven Formen der Nicotinsäure, die Coenzyme NAD/NADP, sind Wasserstoffüberträger und zum Beispiel am Citratzyklus und der Atmungskette beteiligt. Die Nicotinsäure hat eine antioxidative Wirkung und ist an vielen Regenerationsprozessen, zum Beispiel im Muskel, beteiligt.

1.4.1. Tryptophan oxydierende Enzyme

Der erste und limitierende Schritt des Tryptophanabbaus kann durch drei Enzyme katalysiert werden. Diese Enzyme sind die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO), die Indolamin 2,3-Dioxygenase-2 (IDO-2) und die Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO) (35).

1.4.1.1. Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO)

Die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) gehört biochemisch gesehen, zu der Klasse der Enzyme. Als Enzym baut die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) das Tryptophan zu N-

Formylkynurenin ab (36). Die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) wird in allen Gewebetypen unseres menschlichen Körpers hergestellt. Eine besondere Bedeutung hat die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) in den Tonsillen, wo sie durch einen vermehrten Abbau von Tryptophan eine unterstützende Rolle für das Immunsystem bei Infektionen spielt. Eine weitere wichtige Funktion hat die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) in der Plazenta, wo sie bei der Verhinderung der Abstoßung des Fötus beteiligt ist (36).

Die Indolamin 2,3-Dioxygenase ist das bis zum heutigen Zeitpunkt am besten untersuchte Enzym in der Reihe, der Tryptophan oxydierenden Enzyme. Der Hauptgrund dafür ist die Tatsache, dass die Aktivität der Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) starke antimikrobielle und immunregulatorische Effekte vermittelt.

1.4.1.1.1. Entdeckung der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO)

In den dreißiger Jahren des vorigen Jahrhunderts beschrieben Kotake und Ito, dass Kaninchen, denen D-Tryptophan verabreicht wurde, D-Kynurenin über den Urin ausschieden (37). Zu dieser Zeit war jedoch noch kein D-Tryptophan abbauendes Enzym bekannt. In den sechziger Jahren des vorigen Jahrhunderts entdeckten Yamamoto und Hayaishi erstmalig die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) im Darm von Kaninchen (38). Heute weiß man, dass die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) in vielen verschiedenen Organen gebildet werden kann. Eine sehr hohe Aktivität der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) ist vor allem in der Lunge, dem Darm aber auch in der Plazenta zu finden.

1.4.1.1.2. Aufbau und Expression der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO)

Die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) gehört zu der Gruppe der Enzyme. Das humane Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) Protein hat eine Länge von 403 Aminosäuren und besteht aus 10 Exons, die für ein Leseraster von 1209 Nukleotiden kodieren. Das für die humane Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) kodierende Gen befindet sich auf dem kurzen Arm von Chromosom 8 (8p12-p11) (39). Als Kofaktor wird das Häm beschrieben. Das

Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) Protein gehört zu der Gruppe der Monomere und hat ein Molekulargewicht von ca. 45 kDa. Monomere sind niedermolekulare Moleküle, die sich zu Polymeren verbinden können und eine hohe Reaktionsfähigkeit besitzen. Die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) besteht aus einer kleinen und einer großen Protein-Untereinheit, die nicht kovalent durch eine Schleife verbunden sind. Die beiden miteinander verknüpften Protein-Untereinheiten umgeben das Häm (23). Das Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) Protein ähnelt anderen Häm-bindenden Proteinen wie zum Beispiel dem Myoglobin der Mollusken, was auf einen gemeinsamen Ursprung hinweist (40).

Unser Immunsystem ist für die Regulation der Expression und der Aktivität der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) verantwortlich. Die Expression der IDO wird durch immunologische Mediatoren wie zum Beispiel das Prostaglandin oder membranständige Rezeptoren wie CTLA4 (41), CD40 (42) oder Toll-like Rezeptoren (43) reguliert. Die wichtigste Rolle spielt jedoch die Induktion der IDO-Expression durch das Zytokin IFN- γ (44) die durch die Anwesenheit der Zytokine TNF- α und/oder IL-1 β verstärkt wird (45).

1.4.1.1.3. Biologische Funktion der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO)

Einmal exprimiert, führt Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) zur lokalen Depletion von L-Tryptophan in Gewebe. Dabei werden Metabolite des Kynurenin Stoffwechsels gebildet. Die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) hat daher eine wichtige Rolle in der angeborenen, da sie die Fähigkeit besitzt das Wachstum einer großen Bandbreite von Mikroorganismen zu hemmen und weil dieser inhibitorische Effekt auf einer allgemeinen Wirkungsweise, nämlich der Depletion der essenziellen Aminosäure Tryptophan beruht (46).

(23) Weiters gut untersucht ist die Tatsache, dass die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) den Abbau von Tryptophan fördert und somit die Serotoninsynthese hemmt. Eine erhöhte Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) Aktivität ist daher auch Ausdruck einer neuroendokrinen Fehlregulation, was wiederum häufig mit Depressionen in Zusammenhang steht. Weiters produziert, die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) Kynurenine, die ihrerseits neurotoxische Effekte haben und dadurch die depressive Symptomatik fördern können. Weiters, bereits in den 70er Jahren bewiesen, steht eine erhöhte Indolamin 2,3-

Dioxygenase (IDO)- Aktivität mit der Bekämpfung von Infektionen in Zusammenhang (47).

1984 konnte Pfefferkorn beweisen , dass eine IFN- γ induzierte IDO-Aktivität in humanen Fibroblasten zu einer Hemmung des obligat intrazellulär wachsenden Parasiten *Toxoplasma gondii* führt (58). Als Wirkmechanismus wurde dabei die IDO-vermittelte Depletion der Aminosäure Tryptophan beschrieben, da sich der Effekt durch die Zugabe von Tryptophan wieder aufheben ließ. Weitere Analysen zeigten in den folgenden Jahren, dass auch andere Tryptophan-auxotrophe Mikroorganismen durch einen IDO-vermittelten Tryptophanabbau in ihrem Wachstum gehemmt werden können. Dazu zählen Bakterien wie zum Beispiel Chlamydien (49), Gruppe B Streptokokken (50), Enterokokken (51) und *Staphylococcus aureus* (52), außerdem Viren wie Herpes simplex Virus (53), Cytomegalievirus (54) und Masern Virus (55) und neben *Toxoplasma gondii* auch andere Parasiten wie *Neospora caninum* (56). Hierbei war der IDO-vermittelte antimikrobielle Effekt in einer Vielzahl verschiedener humaner Zellen wie zum Beispiel Endothelzellen (57), Makrophagen (50), Uroepithelzellen (51) und Hirntumoren (52) nachweisbar.

1.4.1.1.4. Die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) als zentraler Regulator des Tryptophan/ Kynurenin-/Serotonin Haushaltes

Mittlerweile weiß man, dass bei der Entwicklung einer Erkrankung aus dem psychiatrischen Formenkreis, besonders bei Erkrankungen die mit einer Depression einhergehen, nicht nur psychische, sondern auch physische Faktoren eine entscheidende Rolle spielen (58). Klinisch von Bedeutung ist dabei das Enzym Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO). Eine erhöhte Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) - Aktivität ist Ausdruck einer neuro-endokrino-immunologischen Fehlregulation (58), die gehäuft bei einer Depression auftritt. Die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) fördert den Abbau von Tryptophan, wobei die Serotonin-Synthese gehemmt wird. Tryptophan wird abhängig von der Stärke der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) Aktivität, entweder zu Serotonin umgewandelt oder aber zu Kynureninen abgebaut. Man kann also sagen, dass eine erhöhte Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) Aktivität aufgrund der dadurch verminderten Serotonin-

Synthese zu einem Tryptophan-Mangel führen kann und sich in weiterer Folge zu einer depressiven Symptomatik entwickelt. Kynurenine, die als Abbauprodukte von Tryptophan über die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) entstehen, haben zusätzlich noch einen Einfluss im Nervensystem. Eine erhöhte IDO-Aktivität verursacht durch die gebildeten Abbauprodukte Kynurenine Störungen im ZNS. Zusammenfassend lässt sich folgern, dass eine erhöhte Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) - Aktivität auf zwei, sich gegenseitig beeinflussenden und zusammenhängenden Wegen eine depressive Symptomatik fördern kann (59). Erstens durch die Hemmung der Serotoninsynthese und zweitens durch die dadurch vermehrt entstehenden Kynurenine als Abbauprodukte vom Tryptophan, wie zum Beispiel Quinolinsäure und 3-OH-Kynurenin, die neurotoxische Effekte haben und dadurch eine depressive Symptomatik fördern können.

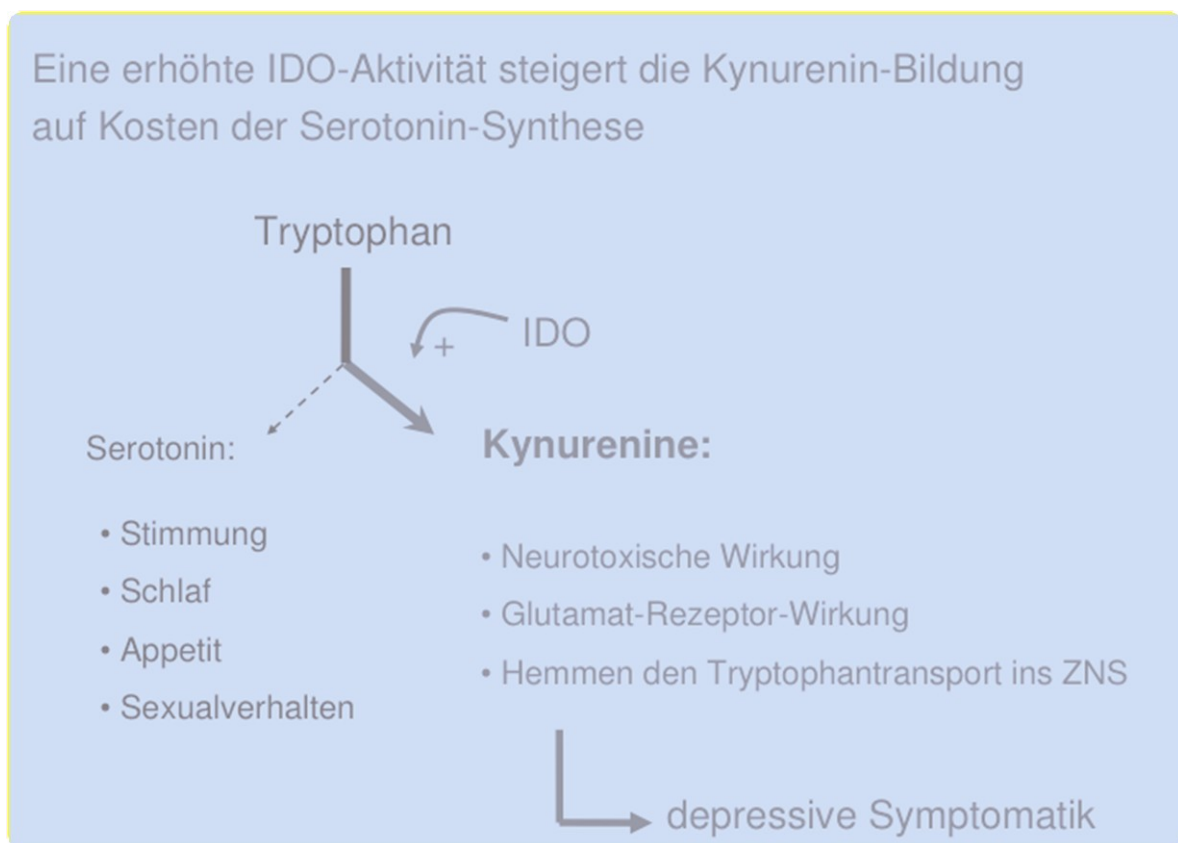


Abbildung 2: Eine erhöhte IDO-Aktivität steigert die Kynurenin-Bildung auf Kosten der Serotonin-Synthese nach GF Oxenkrug 2010 (59).

1.4.1.1.5. Katalytische Eigenschaften der Indolamin 2,3-Dioxygenase

Das erste Enzym im Kynurenin-Stoffwechselweg ist die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO). Der Kynurenin-Stoffwechselweg wird durch die Umwandlung von L-Tryptophan zu N-Formyl-Kynurenin, die durch die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) katalysiert wird, gestartet. Die IDO hat eine hohe Affinität für L-Tryptophan ($K_m \sim 0,02 \text{ mM}$). Zusätzlich ist sie jedoch auch in der Lage D-Tryptophan und andere Metabolite des Kynurenin Stoffwechselweges wie zum Beispiel Serotonin, Tryptamin und L-5-Hydroxykynurenin zu oxydieren (60). Die Aktivität der IDO kann durch den Einsatz verschiedener Inhibitoren gehemmt werden. Der bekannteste Inhibitor ist dabei das 1-Methyl-Tryptophan, das 1991 als IDO-spezifischer Inhibitor beschrieben wurde (61).

1.4.1.2. Indolamin 2,3-Dioxygenase-2 (IDO-2)

Das bekannteste und am besten erforschte Enzym des Tryptophanstoffwechsels ist die Indolamin 2,3-Dioxygenase. Die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) ist ein Tryptophan oxydierendes Enzym. Die Indolamin 2,3-Dioxygenase-2 (IDO-2) ist ein Enzym mit sehr starker Ähnlichkeit zur Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO).

Sie besteht aus 405 Aminosäuren, die zu fast 50% mit denen der IDO identisch sind. Die kompletten Sequenzen der humanen IDO-2 wurde 2007 von Ball et al. veröffentlicht (62). Die humane Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) wurde vor allem in der Plazenta, im Uterus und im Gehirn nachgewiesen. Es wird angenommen, dass die Indolamin 2,3-Dioxygenase-2 (IDO-2) durch eine Duplikation der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) entstanden ist. Die Indolamin 2,3-Dioxygenase-2 (IDO-2) kann auch, genau wie die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO), den ersten und limitierenden Schritt beim Abbau von L-Tryptophan katalysieren. Eine weitere, gemeinsame Eigenschaft dieser beiden Enzyme ist die Fähigkeit eine ähnliche Bandbreite an Substraten metabolisieren zu können (62).

Ein genauerer Vergleich zwischen den katalytischen Aktivitäten der IDO und IDO-2 zeigte dann aber, dass sie sehr verschiedene biochemische Charakteristika aufweisen (z. B. unterschiedliches pH-Optimum), was ein Hinweis auf unterschiedliche physiologische Funktionen sein könnte (63).

1.4.1.3. Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO)

Das dritte Enzym, in der Reihe der Tryptophan oxydierenden Enzyme, ist die Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO bzw. TDO2) (63). Tryptophan 2,3-Dioxygenase oxidiert das L-Tryptophan durch eine Bindung an zwei Sauerstoffmoleküle (64).

1.4.1.3.1. Struktur der TDO

Das für die Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO) kodierende Gen befindet sich auf dem Chromosom 4 (65), besteht aus 12 Exons, hat eine Länge von 1221 Nukleotiden die für 406 Aminosäuren kodieren.

Das aktive Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO) Protein ist ein Homotetramer (64), das zwei Moleküle Häm bindet.

1.4.1.3.2. Katalytische Aktivität der TDO

Die Tryptophan 2,3-Dioxygenase ist ein Enzym, das wie die IDO und die IDO-2 die Fähigkeit besitzt, Tryptophan zu N-Formylkynurenin zu verstoffwechseln.

Tryptophan weist, im Gegensatz zu Indolamin 2,3-Dioxygenase und Indolamin 2,3-Dioxygenase-2, eine sehr hohe Substratspezifität auf (66). Tryptophan 2,3-Dioxygenase kann lediglich stereospezifisch L-Tryptophan metabolisieren, indem es L-Tryptophan spaltet (67). Die strukturelle Basis dieser Stereospezifität ist dabei die Tatsache, dass die Carboxylat- und Ammonium-Hälften des Tryptophans durch elektrostatische Interaktionen sowie Wasserstoffbrücken von dem Enzym erkannt werden. Diese Bindungsstrukturen sind in IDO / IDO-2 und TDO auf verschiedene Art und Weise ausgebildet (66).

1.4.1.3.3. Biologische Funktion der TDO

Beim Menschen ist die höchste TDO-Aktivität in der Leber zu beobachten. Die TDO-Aktivität wird durch ein Einfluss von Hormonen, vor allem durch den Einfluss von L-Tryptophan reguliert. Die TDO spielt eine wichtige Rolle in der Tryptophan-Homöostase (63). Da sie somit einen Großteil des Tryptophans dem Kynurenin Stoffwechselweg zuführt, steht weniger Tryptophan für die Synthese des Neurotransmitters Serotonin zur Verfügung. Daher wird die TDO-Aktivität auch mit neuropsychiatrischen Erkrankungen assoziiert. Nabi et al. Zeigte in einer 2003 durchgeführten Studie, dass Polymorphismen in humanen TDO Genen mit dem Auftreten von Autismus korrelierten (68).

1.5. Kynurenin- Tryptophan- Ratio

Mit der massenspektrometrischen Bestimmung der Kynurenin-Tryptophan-Ratio kann der Abbau des Tryptophans durch die Aktivität der Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) annähernd dargestellt werden.

1.6. Tryptophan und Stoffwechsel

Die neuroendokrine Theorie der Alterung beschreibt eine Gruppe von Bedingungen, wie Hypertonie, Adipositas, Dyslipidämie, Diabetes Mellitus Typ 2, Menopause, Altersdepression, vaskuläre Demenz, Immunabwehrschwäche und einige Arten von Tumorerkrankungen, die zusammengefasst als altersassoziierte neuroendokrine Störungen benannt werden. Später wurden noch Adipositas, Hypertonie, Diabetes Mellitus Typ 2 und Dyslipidämie als Metabolisches Syndrom (MetSy) zusammengefasst (61).

In der derzeitigen Definition des Metabolisches Syndroms (MetSy) erscheinen entzündliche Prozesse noch nicht auf. Es ist aber bereits seit einigen Jahren erwiesen, dass solche Prozesse zu Veränderungen des Tryptophan Stoffwechsels führen können. Mit fortschreitendem Alter werden die chronischen Entzündungsprozesse in unserem Körper

immer häufiger (69). Aus vielen Studien geht hervor, dass mit zunehmendem Alter die Aktivität der Makrophagen in unserem Körper ansteigt. Gleichzeitig wird die Aktivität der T-Zell-Funktion immer geringer. Zusammengefasst kann man also sagen, dass es einen Zusammenhang zwischen chronischen Entzündungen im fortgeschrittenem Alter und einer verminderten Funktion der T-Zellen gibt. Das heißt demnach, dass chronische Entzündung, sowohl die Folge, als auch die Ursache von altersbedingter Prädisposition für Erkrankungen ist (70).

Abbildung 3:

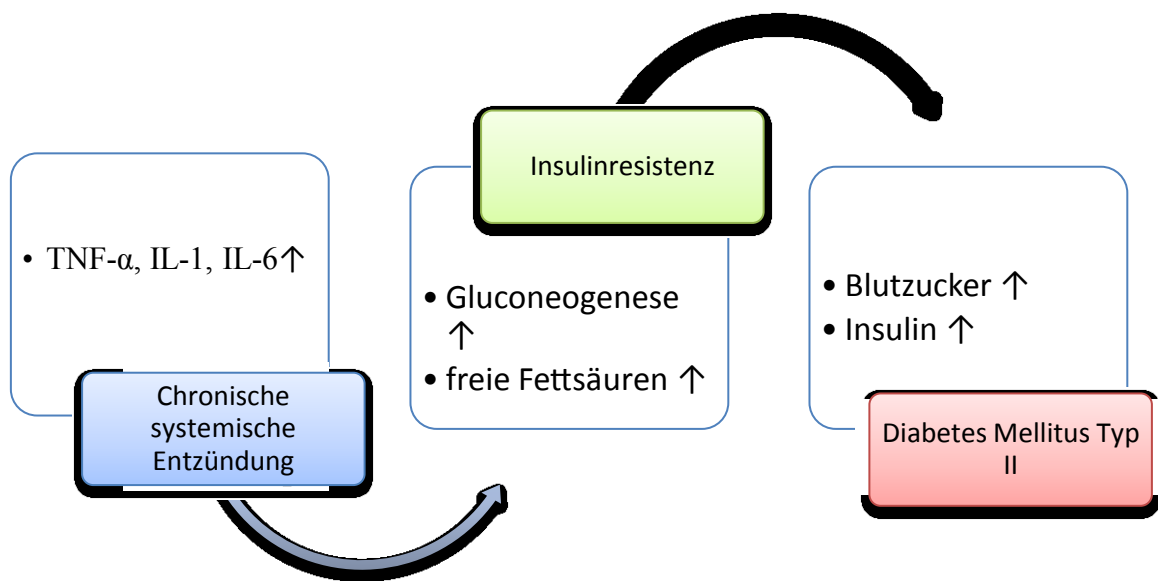
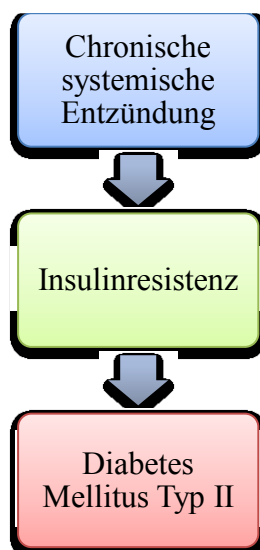


Abbildung 4:

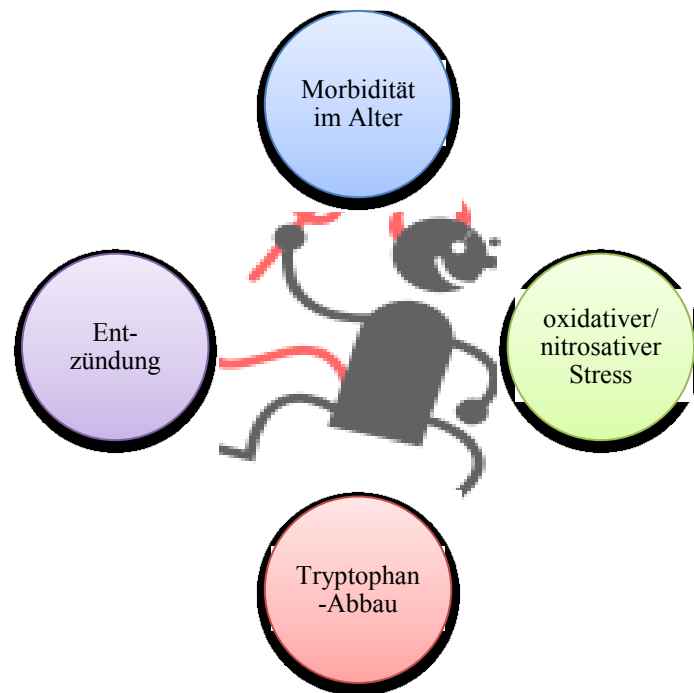


Weiters ist zu bedenken, dass es mit zunehmendem Lebensalter zu einer Steigerung des oxidativen/nitrosativen Stresses kommt, der wiederum durch einen Überschuss an Sauerstoff und Stickstoffradikalen entsteht. Ein Überschuss an freien Radikalen durch eine altersbedingte enzymatische Inaktivierung und einer Abnahme von Antioxidantien, wie zum Beispiel Selen, Vitamin C oder Gluthation, verursacht oxidativen/nitrosativen Stress (71). Dieser oxidative/nitrosative Stress ist für den menschlichen Organismus auf verschiedenste Weise schädigend. Die schädigenden Veränderungen sind sehr vielfältig. Unter anderem kommt es zur Veränderungen verschiedener Proteinfunktionen: durch Nitrierung des Tyrosins zur Förderung der Entstehung von Atherosklerose, durch Malondialdehyd-modifiziertes LDL (MDA-LDL), welches an der Entstehung von atherosklerotischen Plaques direkten Einfluss hat, zu Störungen des mitochondrialen Stoffwechsels (72).

Eine Nitrierung des Tyrosins bewirkt eine Veränderung der Aktivität von Proteinen, mit einer Beschleunigung des Proteinabbaus. Der Grund dafür ist, dass es durch die Nitrierung des Tyrosins zur Auslösung von Immunreaktionen mit vermehrter Bildung von Immunglobulinen kommt. Dadurch kommt es zu proteolytischen Vorgängen, die wiederum ihrerseits den Proteinabbau vorantreiben.

Daraus folgt, dass oxidativer/nitrosativer Stress, wie chronische Entzündung auch Ursache aber auch gleichzeitig Folge von altersbedingter Morbidität ist (72). Und noch weiter: Entzündung und nitrosativer/oxidativer Stress steigern sich gegenseitig (71). Entzündung und oxidativer/nitrosativer Stress verändern auch den Tryptophan-Serotonin-Stoffwechsel, da einige proentzündliche Zytokine, wie zum Beispiel IFN- γ oder TNF- α , die Aktivität der IDO (Indolamin-2,3-Dioxygenase) steigern. Eine erhöhte IDO-Aktivität steigert die Kynurenin-Bildung auf Kosten der Serotonin-Synthese (61). Im fortschreitenden Alter steigen nicht nur die Entzündungsparameter an, sondern mit ihnen auch die Indolamin-2,3-Dioxygenase Aktivität. Zusätzlich kommt dazu, dass Kynurenine, die als Abbauprodukte des Tryptophan-Abbaus gebildet werden, ihrerseits zusätzlich den oxidativen und nitrosativen Stress fördern. Morbidität im Alter wird durch einen Teufelskreis aus Entzündung, oxidativem/nitrosativem Stress und Störungen des Tryptophan-Stoffwechsels gefördert (73).

Abbildung 5:



2. ZIELSETZUNG DER EIGENEN ARBEIT

Das Ziel dieser Arbeit war es, eine Analyse möglicher Assoziation zwischen Tryptophan und Metaboliten des Tryptophanstoffwechsels (Kynurenin und Kynureninsäure) und metabolischen und kardiovaskulären Surrogatparametern bei hypertensiven PatientInnen durchzuführen um eventuelle neue Hinweise auf die Pathophysiologie metabolischer und kardiovaskulärer Erkrankungen zu finden.

3. METHODENWAHL

3.1. Methodenwahl

Für die oben genannten Fragestellungen werden die Daten der Graz Endocrine Causes of Hypertension (GECOH) Study ausgewertet. Das primäre Ziel der GECOH Studie war die Abklärung einer möglichen endokrinologischen Ursache bei PatientInnen mit einer vorliegenden arteriellen Hypertonie. Die Fallzahl dieser Kohortenstudie (n=400) wurde für den primären Endpunkt (Diagnose des primären Hyperaldosteronismus) der als "diagnostic accuracy study" konzipierten Studien berechnet.

In der hier vorgenommenen Subgruppenanalyse der GECOH Studie wurden PatientInnen ohne Diabetes (n=201) eingeschlossen bei denen im Zeitraum von Februar 2009 bis November 2011 Metaboliten des Tryptophanstoffwechsels (Kynurenin und Kynureninsäure) gemessen wurden.

3.2. Messungen von biochemischen und klinischen Variablen

Die Blutproben wurden am Morgen (8.00 Uhr bis 11.00 Uhr), nachdem die Patienten für 10 min gegessen sind, abgenommen. Die Labor- und klinischen Untersuchungen wurden nach mindestens 12 h Fasten durchgeführt. Eine Urinprobe aus dem Mittelstrahlharn wurde am Beginn der Studie von allen Patienten gesammelt. Die Patienten wurden weiters angewiesen, sich normal zu ernähren, am Morgen vor der Blutabnahme keine Medikamente einzunehmen, sowie nicht zu rauchen.

Tryptophan, Kynurenin und Kynureninsäure in Plasmaproben wurden durch Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) gemessen (74).

Nüchtern-Glukose, Triglyzeride, HDL-C und LDL-C wurden mit Modular Analytics SWA (Roche, Basel, Schweiz), Triglyzeride wurden enzymatisch (Wako Chemicals, Neuss,

Deutschland) gemessen. Serum-C-Peptid-Konzentrationen wurden durch einen Chemolumineszenz Sandwich-Immunoassay (ADVIA Centaur, Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY) bestimmt. Insulin wurde durch einen Enzym-Immunoassay (EIA-1825, DRG, Instruments GmbH, Deutschland) gemessen. Noradrenalin wurde durch einen Radioimmunoassay (RIA TriCat-DRG, Instruments GmbH, Deutschland) bestimmt. ACTH wurde durch einen Chemilumineszenz immunometrischen Assay (Siemens, UK IMMULITE 2000) gemessen. Cortisol und Schilddrüsen-stimulierendes Hormon (TSH) wurden durch einen Chemilumineszenz immunometrischen Assay bestimmt (ADVIA Centaur, Siemens, UK). NT-pro-BNP wurde unter Verwendung eines Elektrochemilumineszenz-Immunoassay, der auf einem polyklonalen Antikörper-basierten Sandwich Chemilumineszenz-Assay (Roche Diagnostics, Deutschland) unter Verwendung eines Autoanalyser (Elecsys 2010) basiert, analysiert. Asymmetrische Dimethylarginin (ADMA) und symmetrische Dimethylarginin (SDMA) wurden mit RP-HPLC gemessen. Fibrinogen wurde mit der Clauss-Methode (Dade Behring) gemessen. Die alkalische Phosphatase (AP), Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST) und gamma-Glutamyltranspeptidase (GGT) wurden enzymatisch und CRP durch Immunturbidimetrie (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) gemessen. HbA1c wurde mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie gemessen. Serum Kalzium wurde unter Verwendung des Roche / Hitachi cobas c-Analysegerät (Roche Diagnostics) gemessen.

Albumin im Urin wurde automatisch mit einer kommerziellen immunnephelometrischen Methode auf einem Behring Nephelometer Analyzer II (Dade Behring, Marburg, Deutschland) bestimmt.

Alle anderen Parameter wurden von Routine Laborverfahren bestimmt.

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR, ml/min/1.73m²) wurde unter Verwendung der CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) Formel geschätzt (75).

Die Insulinresistenz wurde mit Hilfe der Homöostase Modell-Beurteilung Insulinresistenz (HOMA-IR, Nüchtern-Insulin (Mikroeinheiten pro Milliliter) × Nüchtern-Glukose (Milligramm pro Deziliter) / 405) berechnet.

Karotis-Intima-Media-Dicke (CIMT) wurde durch hochauflösenden B-Mode-Ultraschall bestimmt (ATL HDI 3000-CV; Phillips Medical Systems). Durchschnittliche IMT wurde von beiden Seiten berechnet.

Das Metabolische Syndrom wurde definiert nach:

(1) National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel (NCEP ATP) III

Hier wird das metabolische Syndrom als Diagnose angegeben, wenn mindestens drei der fünf kardiovaskulären Risikofaktoren vorhanden sind. Die fünf kardiovaskulären Risikofaktoren sind dabei folgendermaßen definiert: Plasmatriglyceride ≥ 150 mg / dl (1,7 mmol / L), HDL-C <40 mg / dl (1,03 mmol / l) bei Männern bzw. <50 mg / dl (1,29 mmol / l) bei Frauen, Blutdruck (BP) $\geq 130/85$ mm Hg, und Nüchtern-Glukose ≥ 110 mg / dl (6,1 mmol / l) und die abdominelle Fettverteilung, bei gemessenem Bauchumfang von über 102 cm bei Männern oder über 88 cm bei Frauen.

(2) International Diabetes Federation (IDF)

Hier wird das Vorhandensein von erhöhtem Taillenumfang in Nabelhöhe von mehr als 94 cm bei Männer bzw. mehr als 80 cm bei Frauen, zuzüglich zwei von den folgenden Risikofaktoren für die Diagnose des Metabolischen Syndroms herangezogen (11). Die Risikofaktoren sind: Triglyceride ≥ 150 mg / dL (1,7 mmol / L), HDL-C <40 mg / dl (1,03 mmol / L) bei Männern bzw. <50 mg / dl (1,30 mmol / L) bei Frauen, systolischen BP ≥ 130 mmHg oder diastolischer Blutdruck ≥ 85 mmHg (oder beides) oder Behandlung von zuvor diagnostiziertem Bluthochdruck; Nüchternblutzucker ≥ 100 mg / dL (5,6 mmol / l) oder zuvor diagnostiziertem Typ-2-Diabetes (76).

Der arterielle Blutdruck wurde durch das Verfahren von Korotkoff nach 5 min Ruhe mit einem Blutdruckmessgerät mit einer entsprechenden Manschette gemessen. Der systolische und der diastolische Blutdruckwert wurde an beiden Armen gemessen und daraus der Mittelwert aus beiden Messungen aufgezeichnet. Zusätzlich wurden auch Größe und Gewicht gemessen, die Patienten trugen dabei leichte Kleidung und keine Schuhe.

3.3. DATENAUSWERTUNG

Zur Beantwortung der oben genannten Fragestellungen erfolgte eine statistische Datenanalyse mit SPSS Version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Ein P-Wert von 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

Folgende statistische Verfahren wurden zur Anwendung gebracht: deskriptive Statistik und analytische Statistik mit u.a. Korrelationsanalysen, ANOVA, ANCOVA und multiple

lineare Regression. Diese statistischen Modelle sind bei der epidemiologischen Auswertung von Querschnittsanalysen übliche Verfahren.

Grundsätzlich sollen mögliche Assoziationen zwischen Tryptophan und Metaboliten des Tryptophanstoffwechsels (Kynurenin und Kynureninsäure) und metabolischen (Nüchternblutzucker, Nüchtern C-peptid, Body Mass Index, Taillenumfang, LDL-Cholesterol, HDL-Cholesterol, HOMA-IR) wie auch kardiovaskulären (NT-pBNP, Carotis Intima Media Dicke, berechnete glomeruläre Filtrationsrate, Harn-Albumin-Kreatinin-Ratio, systolischer/diastolischer Blutdruck) Surrogatparametern bei hypertensiven PatientInnen mit oben genannten statistischen Verfahren analysiert werden. Dabei sollen auch mit multivariaten Modellen mögliche Confounder berücksichtigt werden.

Die Daten sind pseudoanonymisiert.

4. STUDIE UND PATIENTEN

4.1. Studie

The Graz Endocrine Causes of Hypertension (GECOH) Study ist eine Kohortenstudie mit erwachsenen Diabetikern und nicht-diabetischen Patienten.

Schriftliche Einwilligung wurde von allen Studienteilnehmern erhalten. Diese Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz, Österreich genehmigt. Die GECOH Studie entspricht der Deklaration von Helsinki

4.2. Patientenkollektiv

In der Zeit von Februar 2009 bis November 2011 wurden 201 StudienteilnehmerInnen in der Ambulanz der Abteilung für Endokrinologie und Stoffwechsel, Medizinische Universität Graz, Österreich für die GECOH Studie rekrutiert.

4.2.1. Einschlusskriterien

Das Einschlusskriterium war die arterielle Hypertonie. Nach Ausschluss von ProbandInnen mit einem Typ 1/2 Diabetes konnten 201 StudienteilnehmerInnen für die vorliegende Analyse eingeschlossen werden.

4.2.2. Ausschlusskriterien

Diabetische Patienten wurden aus der vorliegenden Analyse ausgeschlossen, um mögliche Einflüsse von Antidiabetika und/oder Insulinbehandlung auf die Beziehung zwischen Tryptophanmetaboliten und metabolischen Eigenschaften auszuschließen.

5. STATISTIK

5.1. Statistische Analysen

Die Daten sind als Mittelwert mit SD ausgedrückt. Log-Transformationen (log 10) wurden zur „Normalisierung“ der Variablen vor parametrischen Analysen durchgeführt. Pearson Korrelationskoeffizienten wurden berechnet, um den Zusammenhang zwischen Tryptophan, Kynurenin, Kynureninsäure, Kynurenin/Tryptophan-Ratio und metabolischen Eigenschaften zu beurteilen.

Verschiedene experimentelle Tier- und Humanstudien stellten mehrere wichtige Mediatoren des Tryptophan-Stoffwechselweges (77). Es wurde daher versucht, mehrere Störfaktoren der Assoziation zwischen Tryptophanstoffwechsel und metabolischen Eigenschaften zum Beispiel Alter, Geschlecht, Leberfunktion, Nierenfunktion, Entzündungen, Glucocorticoide, die Funktion der Schilddrüse, SNS-Aktivität, HPA Aktivität reflektiert durch ACTH, Rauchen, laufende Medikation, Albumin usw. zu berücksichtigen. Mittels ANCOVA (einschließlich Bonferroni Methode, um für multiples Testen zu korrigieren) wurde unter Berücksichtigung potenzieller Störfaktoren (Alter, Geschlecht, BMI, systolischer/diastolischer Blutdruck und laufende antihypertensive Medikation ((ACE-I, Angiotensin-Rezeptor-Blocker, Kalzium-Kanal-Blocker, β -Blocker und Diuretika)), Statintherapie, Rauchen, Nüchternblutzucker, Nüchtern-C-Peptid, HOMA-IR, Triglyceride, HDL-C, LDL-C, CRP, Fibrinogen, Serum-Albumin, eGFR, Harnstoff, ADMA, SDMA, ALT, AST, GGT, AP, Serum-Calcium, Serum-Kalium, ACTH, Cortisol, Noradrenalin und TSH), die Variation von Tryptophan, Kynurenin, Kynureninsäure und Kynurenine/Tryptophan in verschiedenen Subgruppen evaluiert: PatientenInnen mit und ohne metabolischem Syndrom (sowohl nach der Definition der NCEP ATP III als auch der IDF) beziehungsweise mit und ohne Insulinresistenz (Insulin-Resistenz wurde als $\text{HOMA-IR} \geq 75$. Perzentile definiert). Mittels multivariater linearer Regression wurden die Prädiktoren von metabolischen und kardiovaskulären Parametern (HOMA-IR, Nüchtern-C-Peptid, Nüchtern-Blutzucker, BMI, Taillenumfang, LDL-C, HDL-C, Triglyceride, SBP, DBP, NT-PBNP, CIMT, UACR und EGFR) als abhängige Variablen analysiert.

Unabhängige Variablen, für die multivariate Modelle betrachtet wurden, waren Alter, Geschlecht, BMI, systolischer/diastolischer Blutdruck, detaillierte antihypertensive Therapie (ACE-I, Angiotensin-Rezeptor-Blocker, Kalzium-Kanal-Blocker, Beta-Blocker und Diuretika), Statine, Rauchen, Nüchternblutzucker, Nüchtern-C-Peptid, HOMA-IR, Triglyceride, HDL-C, LDL-C, CRP, Fibrinogen, Serum-Albumin, EGFR, Harnstoff, ADMA, SDMA, ALT, AST, GGT, AP, Serum-Calcium, Serum-Kalium, ACTH, Cortisol, Noradrenalin und TSH. Die Ergebnisse werden als β -Regressionskoeffizient (der, die Änderung in der abhängigen Variablen pro Änderung bei der Log-transformierten Einheit) dargestellt.

6. ERGEBNISSE

In folgender Tabelle sind die Merkmale der Kohorte zusammengefaßt:

Tryptophan, µmol/L	57,0 ± 1,2
Kynurenin, µmol/L	2,5 ± 0,6
Kynureninsäure, µmol/L	34,2 ± 1,5
Kynurenin/Tryptophan Ratio*	0,04 ± 0,01
Alter, Jahre	48,1 ± 16,0
Frauen, %	61,7
Body mass index, kg/m ²	28,4 ± 6,2
Taillienumfang, cm	97,6 ± 14,3
Nüchtern-glucose mg/dL	90,3 ± 18,4
HbA1c, mmol/L	35,5 ± 0,5
HOMA-IR	2,0 ± 1,7
Nüchtern C-peptide ng/mL	3,1 ± 2,7
Serum HDL cholesterol	63,0 ± 17,8
Serum LDL cholesterol	118,4 ± 28,8
Serum Triglycerides mg/gl	113,8 ± 64,2
Systolischer Blutdruck, mmHg	153,5 ± 22,9
Diastolischer Blutdruck, mmHg	95,1 ± 12,6
Antihypertensive Therapie, %	78,5
Nikotinabusus, py	5,1 ± 11,7
Metabolic Syndrome, NCEP III, % **	24,4
Metabolic Syndrome IDF, % ***	33,8
eGFR, mL/min/1,73m ² †	108,1 ± 37,2
Harn Albumin-Kreatinin-Ratio, mg/g Creatinine	44,4 ± 132,6
Carotis Intima Media Dicke, mm ++	0,8 ± 0,1
Harnstoff, mg/dl	30,9 ± 8,8
Asymmetrisches Dimethylarginin, µmol/L	0,7 ± 0,1
Symmetrisches Dimethylarginin, µmol/L	0,6 ± 0,1
Alanin Transaminase, U/L	27,6 ± 15,4
Aspartat Aminotransferase, U/L	25,5 ± 8,3
Gamma-glutamyltransferase, U/L	34,7 ± 36,6
Alkalische Phosphatase, U/L	64,9 ± 21,9
Serum Kalzium, mmol/L	2,3 ± 0,1
Serum Kalium, mmol/L	3,8 ± 0,4
CRP, mg/L	3,4 ± 4,9
Fibrinogen, mg/dL	336,0 ± 86,7
ACTH, pg/mL	19,2 ± 31,3
Cortisol, ng/mL	144,4 ± 53,8
Noradrenalin, pg/mL	438,3 ± 214,2
TSH, µU/mL	1,7 ± 1,1
ACE Hemmer-Therapie, %	34,8
Angiotensin Rezeptorblocker Therapie, %	16,9
Betablocker Therapie, %	50,2
Kalziumkanalblocker Therapie, %	33,0
Diuretika Therapie, %	35,3
Statin Therapie, %	9,0

Tabelle 3: Charakteristiken der StudienteilnehmerInnen (GECOH) Study (n=201)

Die Werte sind angegeben als Mittelwert ± SD oder Prozentsatz

* = Tryptophan Aufschlüsselungs- Index

** Metabolisches Syndrom, Definition nach dem National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel-III

*** Metabolisches Syndrom, Definition nach der International Diabetes Federation mit europäischen cut offs

† geschätzte glomeruläre Filtrationsrate nach der CKD-EPI Formel

++ bedeutet, rechts / links Intima-Media-Dicke

Das mittlere (\pm SD) Alter der Studienpopulation von 201 Probanden betrug $48,1 \pm 16,0$ Jahre und ist nicht signifikant unterschiedlich zwischen weiblichen (61,7%; $46,2 \pm 1,4$ Jahre) und männlichen ($43,2 \pm 1,5$ Jahre; $P = 0,235$) Teilnehmern.

Es konnten keine signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschiede der mittleren Konzentrationen von Tryptophan (weiblich: $57,3 \pm 1,2$; männlich: $56,5 \pm 5,5$ $\mu\text{mol/L}$, $p = 0,607$), Kynurenine (weiblich: $2,4 \pm 1,3$; männlich: $2,4 \pm 1,0$ $\mu\text{mol/L}$, $p = 0,433$), Kynureninsäure (weiblich: $34,3 \pm 1,5$; Männer: $33,9 \pm 1,5$ $\mu\text{mol/L}$, $p = 0,859$) und Kynurenin/Tryptophan Ratio (Frauen: $0,04 \pm 1,3$; Männer: $0,04 \pm 1,4$, $P = 0,731$) beobachtet werden. Weibliche und männliche Probanden waren zu gleichen Teilen in den Untergruppen mit und ohne, metabolischem Syndrom verteilt, unabhängig der Definition. Basierend auf der NCEP ATP III und IDF Definition der Patienten hatten 49 (24,4%) bzw. 68 (33,8%) Patienten ein metabolisches Syndrom.

Pearson Korrelationsanalyse

Tryptophan	-			
Kynurenin	0.171*	-		
Kynureninsäure	0.034	0.544**	-	
Kynurenin/Tryptophan ratio#	-0.510	0.760**	0.452**	-
Body mass index	0.076	0.068	0.041	0.009
Taillenumfang	-0.076	-0.010	-0.007	0.037
Nüchtern-glucose	0.081	0.138	0.061	0.068
HOMA-IR	-0.018	0.118	0.075	0.116
Nüchtern C-peptide	-0.200*	0.181*	0.272**	0.025
HDL Cholesterin	0.094	0.054	-0.127	-0.014
LDL Cholesterin	-0.003	0.011	0.049	-0.008
Triglyceride	0.033	0.004	0.108	-0.026
Systolischer Blutdruck	0.035	0.102	-0.053	0.066
Diastolischer Blutdruck	-0.074	0.086	0.008	0.124
NT-pBNP	0.008	-0.003	0.038	-0.008
eGFR†	-0.002	-0.019	-0.027	-0.016
Harn Albumin-Kreatinin Ratio	0.002	0.148	0.003	0.108
Carotis Intima Media Dicke ++	-0.156	-0.010	0.092	0.092

Tabelle 4: Pearson-Korrelationskoeffizienten für Tryptophan / Tryptophan verwandten Metaboliten und metabolischen Eigenschaften

*p <0.05

**p<0.001

†geschätzte Glomerulusfiltrationsrate nach der CKD-EPI Formel

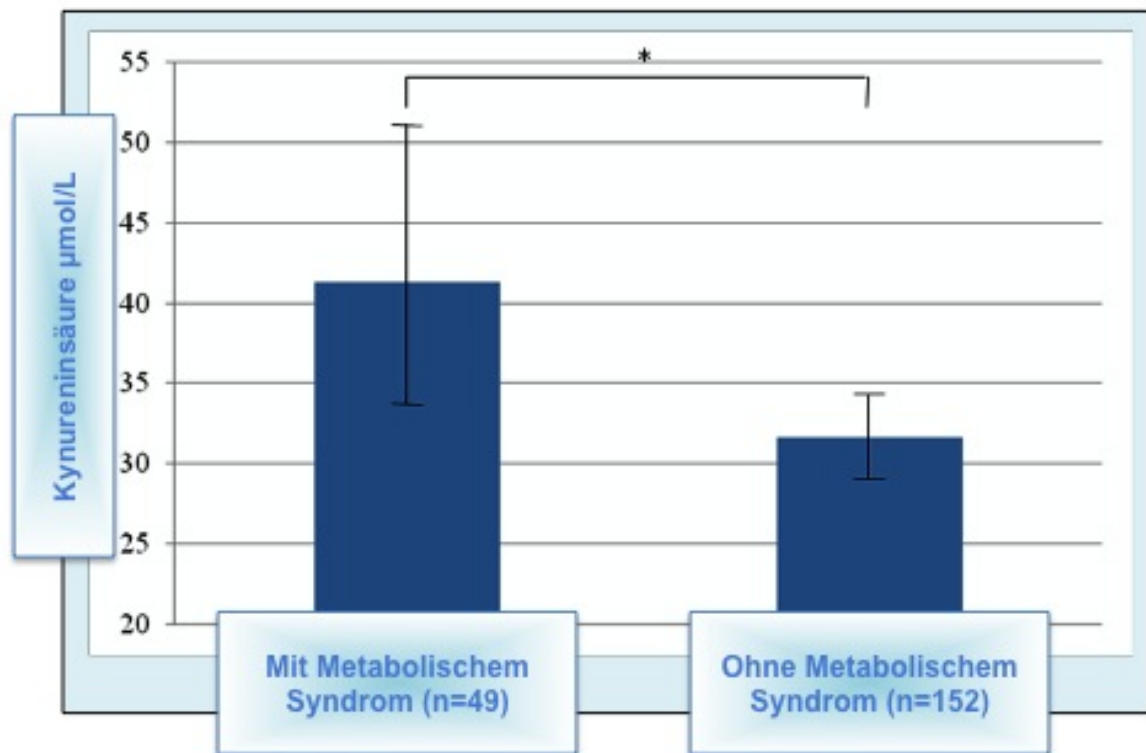
++bedeutet, rechts / links Intima-Media-Dicke

Die Tabelle 4 zeigt eine konsistente und positive Assoziation zwischen Tryptophan / verwandten Metaboliten und Nüchtern C-Peptid-Werte. Es wurden jedoch keine signifikanten Assoziationen zwischen Tryptophan / Kataboliten und weiteren metabolischen Parametern beobachtet.

Mittelwerte \pm SD von Tryptophan und Metaboliten zwischen PatientInnen mit und ohne metabolischem Syndrom sowie bei PatientInnen mit und ohne Insulinresistenz entsprechend des HOMA-IR bzw. Nüchtern C-Peptid - Werten wurden mittels ANCOVA analysiert. Mit der NCEP ATP III Definition waren die Werte von Kynureninsäure signifikant höher bei Patienten mit metabolischem Syndrom als bei PatientInnen ohne Metabolischem Syndrom.

Abbildung 6:

Unterschiede der Kynureninsäurekonzentrationen bei PatientInnen mit und ohne Metabolischem Syndrom.



Mit der IDF Definition erreichte dieser Unterschied nur einen Trend ($p = 0,111$). Tryptophan, Kynurenin und Kynurenin / Tryptophan Verhältnis variierten nicht signifikant zwischen Patienten mit und ohne metabolischem Syndrom unabhängig von der Definition. Teilnehmer mit einer HOMA-IR oberhalb der 75. Perzentile zeigten signifikant höhere Tryptophan und Kynurenin Konzentration im Vergleich zu denen mit einem HOMA-IR unterhalb der 75. Perzentile (Abbildung 6 und 7).

Abbildung 7:

Unterschiede des Tryptophanspiegels bei PatientInnen mit HOMA-IR oberhalb der 75. Perzentile und denen unterhalb der 75. Perzentile.

p=0,02

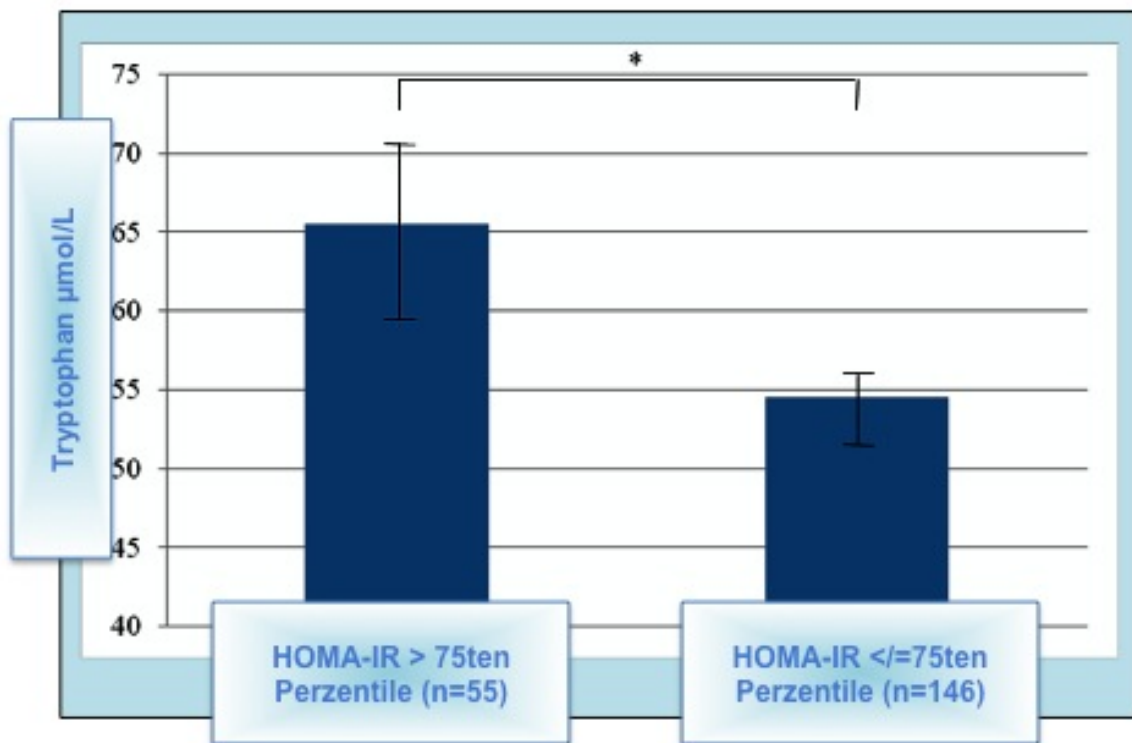
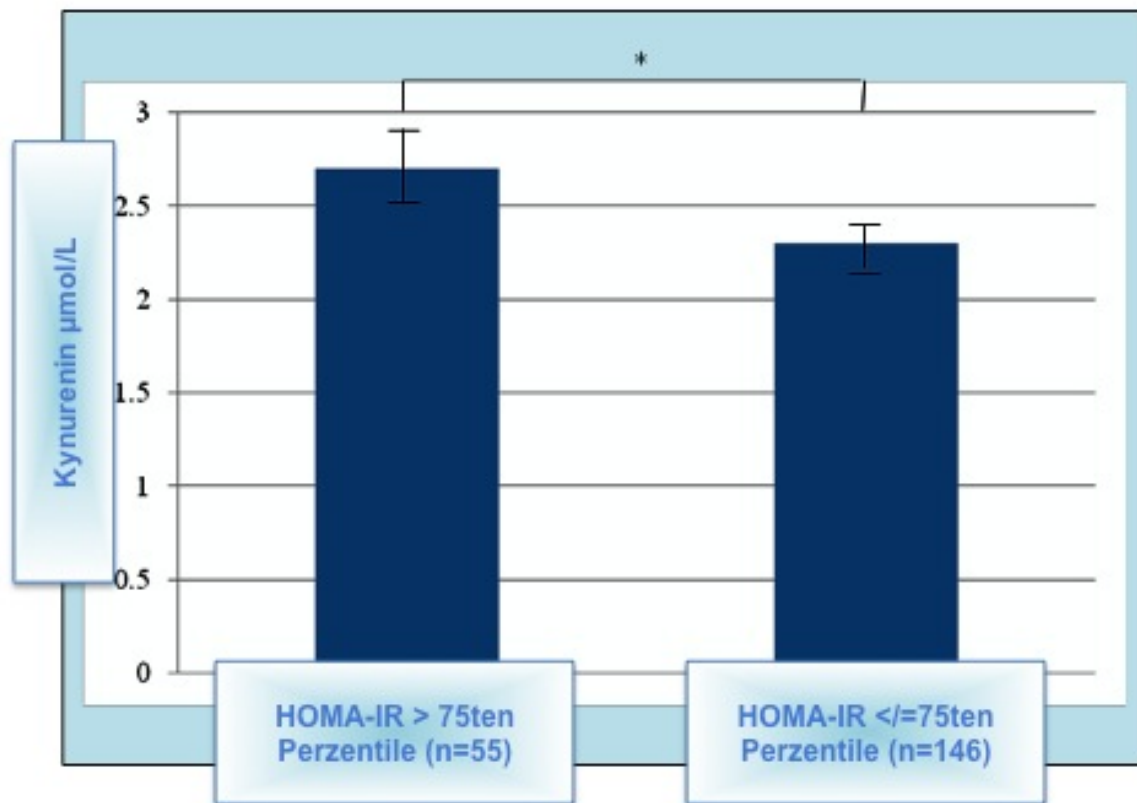


Abbildung 8:

Unterschiede der Kynureninspiegels bei PatientInnen mit HOMA-IR oberhalb der 75. Perzentile und denen unterhalb der 75. Perzentile.

p=0,003



Die Variation von Kynureninsäure zwischen diesen Untergruppen zeigte nur einen Trend (p = 0,095). Es wurde keine signifikante Variation für das Kynurenin / Tryptophan-Verhältnis gefunden.

Die multiple lineare Regression (Tabelle 4) zeigte statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen (1) Tryptophan und Nüchtern C-Peptid sowie CIMT, (2) zwischen Kynurenin und HOMA-IR, NT-und pBNP, Harn Albumin-Kreatinin-Ratio und (3) zwischen Kynureninsäure und Nüchtern C-Peptid, NT-pBNP und eGFR.

Kein signifikanter Zusammenhang wurde zwischen Tryptophan / verwandten Metaboliten und SBP, DBP, Triglyceriden, HDL-C, LDL-C, BMI, Taillenumfang und Nüchtern glukose gefunden.

Bei Wiederholung der multivariate Regressionsanalyse, unter Berücksichtigung des Kynurenin / Tryptophan-Verhältnisses, als unabhängige Variable, zeigte sich eine signifikante Assoziation zu HOMA-IR aber nicht zu weiteren metabolischen Parametern.

7. DISKUSSION

Bei der Analyse dieser Kohortenstudie von nicht-diabetischen PatientenInnen mit Bluthochdruck konnte gezeigt werden, dass Tryptophan und seine Metaboliten in einem Zusammenhang mit dem metabolischen und kardiovaskulären Parametern stehen. In dieser Studie werden neue Erkenntnisse über den Zusammenhang zwischen dem Tryptophanstoffwechsel und den metabolischen Eigenschaften bei PatientenInnen mit Bluthochdruck gezeigt.

Im Speziellen waren die Kynureninsäurekonzentrationen signifikant höher bei PatientenInnen mit dem Metabolischen Syndrom die Tryptophan- und die Kynureninkonzentration waren bei Patienten mit HOMA-IR oberhalb der 75. Perzentile höher.

Kynureninsäure war mit HOMA-IR, EGFR und NT-pBNP assoziiert. Es wurden keine Zusammenhänge zwischen dem Tryptophanstoffwechsel und arterieller Hypertonie, Body Mass Index, Taillenumfang, HDL-C, LDL-C, Triglyzeriden und Blutzuckerspiegel festgestellt.

Aus der vorliegenden Studie geht außerdem erstmalig eine direkte inverse Assoziation zwischen Tryptophan und CIMT hervor. Dies könnte auf eine Beteiligung des Tryptophanstoffwechsels in der Pathogenese der Atherosklerose hinweisen.

In einer rezenten Studie mit jüngeren normotensiven Erwachsenen konnte jedoch offenbar keine signifikante Beziehung zwischenIDO Aktivität und des Kynurenin / Tryptophanverhältnisses und der CIMT nachgewiesen werden (78).

Man könnte spekulieren, dass Änderungen des Tryptophanstoffwechsels in jungen Jahren, zu nicht messbaren atherosklerotischen Gefäßveränderungen beitragen könnten, obwohl die Autoren darauf hinweisen, dass es signifikante Zusammenhänge zwischen der IDO Aktivität und HDL-C, LDL-C, CRP, Taillenumfang und arteriellem Blutdruck gibt (79).

In einer Studie bei PatientenInnen mit atheromatösen Plaques konnte hingegen ein Tryptophanmangel im Vergleich zu gesunden Kontrollen nachgewiesen werden (79).

Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigen, dass bei der Entstehung von atherosklerotischen Gefäßschädigungen ein erhöhter Tryptophanabbau vorhanden sein könnte. Es bleibt jedoch zu prüfen, ob das Erkennen von Modulationen im Tryptophanstoffwechsel nützlich ist, atherosklerotische Gefäßveränderungen in frühen Stadien zu erkennen und therapeutisch entgegenzuwirken.

Weiters konnte festgestellt werden, dass es einen signifikanten Zusammenhang zwischen Tryptophan Metaboliten und der Nierenfunktion, gemessen als eGFR, gibt.

Ebenso ergab eine rezente Studie bei Ratten mit chronischer Niereninsuffizienz, dass Kynureninsäure als potentieller Biomarker für die Diagnose Niereninsuffizienz herangezogen werden kann (79). Die Mechanismen der Assoziation zwischen einer sich verschlechternden Nierenfunktion und Tryptophanstoffwechsel sind aber noch weitgehend unklar.

Es bleibt jedoch zu klären, ob ein veränderter Tryptophanstoffwechsel bei PatientenInnen mit eingeschränkter Nierenfunktion, ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko darstellt.

Bei PatientenInnen mit diabetischen Nierenerkrankungen und Mikroalbuminurie zeigten metabolische Analysen signifikant veränderte Tryptophanmetabolite, insbesondere Kynureninsäure, im Vergleich zu Patienten mit Normoalbuminurie (80).

Veränderungen im Tryptophanstoffwechsel bei chronischer Nierenerkrankung bleiben jedoch schwer zu fassen. Auch werden regionale Unterschiede in der Tryptophankonzentration und seinen Abbauprodukten beschrieben. Eine erhöhte Kynureninbildung kann auch in verschiedenen Geweben durch eine lokal ausgelöste Induktion des Tryptophankatabolismus ausgelöst werden. Ob Tryptophanmetabolite eine direkte Beteiligung an Nierenschäden haben, muss noch bestimmt werden.

Eine Albuminurie ist mit einem höheren kardiovaskulären Risiko verbunden. Es hat sich gezeigt, dass bei einer Albuminurie gehäuft diffuse endotheliale Dysfunktionen auftreten. In Endothelzellen konnte eine Kynureninproduktion nachgewiesen werden. Die unabhängige Beziehung zwischen Kynurenin und Albuminurie in der vorliegenden Studie deutet darauf hin, dass Kynurenin jedoch keine wesentliche Rolle in der Blutdruckregulierung zuzuschreiben ist. Dies widerspricht dem Bericht von Wang et al, der die blutdruckbeeinflussenden Effekte von Kynurenin in immunologisch behandelten Mäusen beschreibt (81).

Pawlak et al hat festgestellt, dass eine erhöhte Kynureninkonzentrationen ein Frühindikator für endotheliale Dysfunktion, arterielle Hypertonie, chronische Nierenerkrankungen und chronisch venöse Erkrankungen sein könnte (82).

Eine rezente Untersuchung dokumentiert die endothelabhängige dilatative Wirkung von Tryptophan, während Kynurenin, unabhängig vom Endothel, über die Aktivierung der Adenylat- und löslichen Guanylatzyklase, den Blutdruck senkt (83). Diese Widersprüche könnten Unterschiede im Studiendesign, Spezifität, und Charakteristika der Studienpopulation einschließlich ethnischer Herkunft, Alter, Geschlecht und Komorbidität zurückzuführen sein. Außerdem zeigen diese widersprüchlichen Ergebnisse aus Humanstudien, wie komplex der Tryptophanstoffwechsel ist, und wie vielfältig die Eigenschaften der Tryptophanmetaboliten sind.

Aus der vorliegenden Analyse, lassen sich keine kausalen Schlussfolgerungen ziehen, und es ist nicht möglich, die zeitliche Abfolge zwischen Tryptophan / Metaboliten und metabolischen / kardiovaskulären Parametern zu unterscheiden. Das komplexe Zusammenspiel zwischen Tryptophanstoffwechsel und den metabolischen / kardiovaskulären Parametern, einschließlich der regionalen Unterschiede des Aminosäurekatabolismus, könnte in der Zirkulation möglicherweise nicht adäquat reflektiert werden.

Außerdem schließt unsere geringe Stichprobengröße weitere spezifische Subgruppenanalysen aus. Auswirkungen von Ernährungsfaktoren auf den Tryptophanstoffwechsel wurden in unserer Analyse nicht berücksichtigt.

Die große Stärke der vorliegenden Studie ist die Bestimmung verschiedenster Faktoren, die sich auf den Zusammenhang zwischen Tryptophan und metabolischen / kardiovaskulären Parametern auswirken könnten.

Schlussfolgerungen

In dieser Analyse wurde gezeigt, dass Tryptophan und seine Abbauprodukte teilweise unabhängig mit metabolischen Eigenschaften und kardiovaskulären Risikofaktoren assoziiert sind.

Die Daten unterstützen die Vermutung, dass eine Dysregulation des Tryptophanstoffwechsels eine mögliche Rolle in der Pathogenese von Stoffwechselstörungen und Gefäßerkrankungen spielt.

Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um festzustellen, ob Tryptophanstoffwechsel als neues Ziel für die Prävention und Behandlung von Stoffwechsel-, Herz- und Nieren-Erkrankungen beim Menschen Bedeutung hat.

Weitere Studien sind zudem erforderlich, um die komplexe Regulation des Tryptophanstoffwechsels und seine Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit aufzuklären.

8. ABKÜRZUNGEN

1- MT	1-Methyl-Tryptophan
1-D-MT	1-Methyl-D-Tryptophan
1-DL-MT	1-Methyl-DL-Tryptophan
1-L-MT	1-Methyl-L-Tryptophan
A	Adenosin
Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
Amp	Ampicilin
AS	Aminosäure
ATP	Adenosintri-phosphat
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
ca.	circa
CD	cluster of differentiation
cDNA	komplementäre DNA
d	Tag
dATP	Desoxyadenosin-Triphosphat
DC	Dendritische Zelle
dCTP	Desoxycytosin Triphosphat
d.h.	das heißt
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
dNTP	Desoxynukleosid-Triphosphat
D-Trp	D-Tryptophan
DTT	Dithiothreitol
dTTP	Desoxythymidin-Triphosphat
G	Guanosin
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
GTP	Guanosintri-phosphat
h	Stunde

HBV	Hepatitis B Virus
HSV	Herpes simplex Virus Typ I
IDO	Indolamin 2,3-Dioxygenase
IDO-2	Indolamin 2,3-Dioxygenase-2
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
KAT	Kynurenin Aminotransferase
KynA	Kynureninsäure
L-TRP	L-Tryptophan
MetSy	Metabolisches Syndrom
mg	Milligramm
min	Minute
mL	Milliliter
mRNA	Messenger-RNA
MW	Molekulargewicht
NADP	Nicotinsäure-Adenin-Dinukleotidphosphat
NaOH	Natriumoxid
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
PCR	Polymerase Kettenreaktion
POX	Peroxidase
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Reverse Transkription
s	Sekunden
SD	Standardabweichung
T	Thymin
Tab.	Tabelle
TDO	Tryptophan 2,3-Dioxygenase
TNF	Tumornekrosefaktor
TNFR	Tumornekrosefaktor Rezeptor
tRNA	Transfer-RNA
WHO	World Health Organisation
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

9. LITERATURVERZEICHNIS

1. Assmann G, Schulte H, Cullen P. New and classical risk factors – the Münster heart study (PROCAM). Eur J Med Res 1997;2: 237–42.
2. Erbel R, Möhlenkamp S, Lehmann N, Schmermund A, Moebus S, Stang A et al. Dtsch Arztebl. 2008 Jan 7;105(1-2):1.
3. Hossain P, Kavar B, El Nahas M. Obesity and Diabetes in the Developing World -A Growing Challenge. N. Engl. J. Med. 2007;356:213-5.
4. Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM. NCEP-Defined Metabolic Syndrome, Diabetes, and Prevalence of Coronary Heart Disease Among NHANES III Participants Age 50 Years and Older. Diabetes 2003;52:1210-4.
5. Toplak H. Das Metabolische Syndrom – Beginn des „Tödlichen Quartetts“?. Journal für Kardiologie - Austrian Journal of Cardiology 2005;12:6-7.
6. Wascher TC. Insulinresistenz als kardiovaskulärer Risikofaktor. Journal für Kardiologie - Austrian Journal of Cardiology 2002;9(12):541-4.
7. World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: Report of a WHO/IDF consultation 2006:3.
8. Toplak H, Hoppichler F, Hanefeld M, Eckel R. Das metabolische Syndrom. Available from:
URL:http://de.wikipedia.org/wiki/Metabolisches_Syndrom.
Accessed 28, Februar 2014.
9. Kerner W, Brückel J. Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. Diabetologie 2010; 5:109-12.

10. Österreichische Diabetes Gesellschaft. Diabetes mellitus - Leitlinien für die Praxis 2009:4 Available from http://www.oedg.org/pdf/WEB_PocketGuide_OEDG_2009.pdf. Accessed 12, März 2014
11. Hanefeld M, Schaper F, Ceriello A. Geschichte und Definition(en) des metabolischen Syndroms. Internist 2007;48:117-125. Available from: http://www.nar.uni-heidelberg.de/pdf/newsletter/nl10_hanefeld_2007.pdf
a. Accessed: 27, April 2014
12. Wirth A. Adipositas-Fibel:Definition und Klassifizierung von Übergewicht und Adipositas. Springer Berlin Heidelberg;2003:3-8.
13. Kromeyer-Hausschild K, Wabitsch M, Kiess W, Hebebrand J, Zwiauer K, editors. Adipositas bei Kindern und Jugendlichen: Grundlagen und Klinik. Springer Berlin Heidelberg;2005:3-15
14. Renz-Polster H, Krautzig S. Basislehrbuch Innere Medizin:Herz. 4th ed. München: Urban&Fischer; 2008. p. 29-192.
15. Rauch B, Middeke M, Bönner G, Karoff M. Kardiologische Rehabilitation: Standards für die Praxis nach den Leitlinien der Dtsch. Ges. für Prävention. Stuttgart:Georg Thieme Verlag KG;2007.p. 2-3.
16. Franco V, Oparil S, Carretero OA. Hypertensive Therapy: Part II. Circulation 2004;109:3081-3088
17. European Society of Hypertension- European Society of Cardiology Guidelines Committee. European Society of Hypertension- European Society of Cardiology Guidelines for Management of Arteriel Hypertension. J Hypertens 2003;21:1011-1053.

18. Middeke M. Prävention und Versorgungsforschung: Epidemiologie und Behandlungsstatus der Hypertonie in Deutschland. Springer Berlin Heidelberg;2008;p.869-881.

19. Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray Ch. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. Lancet 2006;367:1747–57.

20. Statistik Austria. Chronische Krankheiten: Österreichischen Gesundheitsbefragung 2006/07. Available from: http://www.statistik.at/web_de/statistiken/gesundheit/gesundheitszustand/chronische_krankheiten/index.html. Accessed: 3, Mai 2014

21. Herold G und Mitarbeiter. Innere Medizin. Köln:Gerd Herold;2009.p.281-300.

22. Schmidt SK. Antimikrobielle und immunregulatorische Eigenschaften der Tryptophan 2,3- Dioxygenase und die Analyse der funktionellen Effekte des Tryptophan- Analogons 1-Methyl-Tryptophan. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf;August, 2010;p.7 - 8. Available from: <http://d-nb.info/1012953335/34>. Accessed: 03, Dezember 2013.

23. Löffler G. Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie. 5th ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2003. p. 519-86.

24. Young VR, El-Khoury AE. Human amino acid requirements: A re-evaluation. 1996: United Nations University Press-Food and Nutrition bulletin;17.

25. Lazaris-Brunner G, Ralii M, Ball RO, Pencharz PB. Tryptophan requirement in young adult women as determined by indicator amino acid oxidation with L- [13C]phenylalanine. Am J Clin Nutr;1999. 62:603-10.

26. Ebel S, Roth HJ. Lexikon der Pharmazie. Stuttgart, Georg Thieme Verlag; 1987. p. 542.
27. Löffler G. Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie. 5th ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2003. p. 539.
28. Muller CP, Jacobs B. Handbook of the Behavioral Neurobiology of Serotonin. London, Academic Press; 2010. p. 65-103.
29. Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T, Bubenik GA. Role of melatonin in upper gastrointestinal tract. *J Physiol Pharmacol*; 2007; 58:23-52.
30. Wikipedia-Die freie Enzyklopädie: Vitamin B6. Available from: http://de.wikipedia.org/wiki/Vitamin_B6. Accessed: 03, April 2014.
31. Schwarcz R, Whetsell WO Jr., Mangano RM. Quinolinic acid: an endogenous metabolite that produces axon-sparing lesions in rat brain. *Science*;1983;219:316–8.
32. Stone TW. Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. *Pharmacol Rev.*;1993;45:309–79.
33. Bauer TM, Jiga LP, Chuang JJ, Randazzo M, Opelz G, Terness P. Studying the immunosuppressive role of indoleamine 2,3-dioxygenase: tryptophan metabolites suppress rat allogeneic T-cell responses in vitro and in vivo. *Transpl Int*;2005;18:95– 100.
34. Mac Kenzie CR, Heseler K, Müller A, Däubener W. Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in antimicrobial defence and immuno-regulation: tryptophan depletion versus production of toxic kynurenines. *Curr Drug Metab*;2007; 8:237-44.
35. Schmidt SK. Antimikrobielle und immunregulatorische Eigenschaften der Tryptophan 2,3- Dioxygenase und die Analyse der funktionellen Effekte des Tryptophan- Analogons 1-Methyl-Tryptophan. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; August 2010; p.12-8.
Available from: <http://d-nb.info/1012953335/34>. Accessed: 03,
Dezember 2013.

36. Wikipedia-Die freie Enzyklopädie: Indolamin 2,3-Dioxygenase.
Available from: <http://de.wikipedia.org/wiki/Indolamin-2,3-Dioxygenase>. Accessed: 25, November 2013.
37. Kotake Y, Ito N. Studien über den intermediären Stoffwechsel des Tryptophans. *J Biochem*;1937; 25:71-7.
38. Yamamoto S, Hayaishi O. Tryptophan pyrrolase of rabbit intestine. D- and L- tryptophan-cleaving enzyme or enzymes. *J Biol Chem*;1967; 242:2560-6.
39. Burkin DJ, Kimbro KS, Barr BL, Jones C, Taylor MW, Gupta SL. Localization of the human indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) gene to the pericentromeric region of human chromosome 8. *Genomics*;1993;17:262–3.
40. Yuasa HJ, Takubo M, Takahashi A, Hasegawa T, Noma H, Suzuki T. Evolution of vertebrate Indoleamine 2,3-Dioxygenases. *J Mol Evol*;2003;65:705-14.
41. Fallarino F, Orabona C, Vacca C, Bianchi R, Gizzi S, Asselin-Paturel C, Fioretti MC, Trinchieri G, Grohmann U, Puccetti P. Ligand and cytokine dependence of the immunosuppressive pathway of tryptophan catabolism in plasmacytoid dendritic cells. *Int Immunol*;2005;17:1429–38.
42. Hwu P, Du MX, Lapointe R, Do M, Taylor MW., Young HA. Indoleamine 2,3-dioxygenase production by human dendritic cells results in the inhibition of T cell proliferation. *J Immunol*;2000;164:3596–9.

43. Hayashi T, Beck L, Rossetto C, Gong X, Takikawa O, Takabayashi K, Broide DH, Carson DA, Raz E. Inhibition of experimental asthma by indoleamine 2,3- dioxygenase. *J Clin Invest*;2004;114:270–9.
44. Taylor MW, Feng GS. Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2,3- dioxygenase, and tryptophan catabolism. *FASEB J*;1991;5:2516-22.
45. Heseler K, Spekker K, Schmidt SK, MacKenzie CR, Däubener W. Antimicrobial and immunoregulatory effects mediated by human lung cells: role of IFN- γ - induced tryptophan degradation. *FEMS*;2008;52:273-81.
46. Taylor MW, Feng GS. Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2,3- dioxygenase, and tryptophan catabolism. *FASEB J*;1991;5:2516-22.
47. Yoshida R, Hayaishi O. Induction of pulmonary indoleamine 2,3- dioxygenase by intraperitoneal injection of bacterial lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci USA*;1978;75:3998- 4000.
48. Pfefferkorn ER., Guyre PM. Inhibition of growth of toxoplasma gondii in cultured fibroblasts by human recombinant gamma interferon. *Infect Immun*;1984;44:211–6.
49. Pantoja LG, Miller RD, Ramirez JA, Molestina RE, Summersgill JT. Inhibition of chlamydia pneumoniae replication in human aortic smooth muscle cells by gamma interferon-induced indoleamine 2, 3-dioxygenase activity. *Infect Immun*;2000;68:6478–81.
50. MacKenzie CR, Hadding U, Däubener W. Interferon-gamma-induced activation of indoleamine 2,3-dioxygenase in cord blood monocyte-derived macrophages inhibits the growth of group B streptococci. *J Infect Dis*;1998;178:875–8.
51. MacKenzie CR, Hucke C, Müller D, Seidel K, Takikawa O, Däubener W. Growth inhibition of multiresistant enterococci by

interferon-gamma-activated human uro- epithelial cells. *J Med Microbiol*;1999;48:935–41.

52. Schrotten H, Spors B, Hucke C, Stins M, Kim KS, Adam R, Däubener W. Potential role of human brain microvascular endothelial cells in the pathogenesis of brain abscess: inhibition of *Staphylococcus aureus* by activation of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Neuropediatrics*;2001;32:206–10.
53. Adams O, Besken K, Oberdörfer C, MacKenzie CR, Rüssing D, Däubener W. Inhibition of human herpes simplex virus type 2 by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Microbes Infect*;2004;6:806–12.
54. Bodaghi B, Goureau O, Zipeto D, Laurent L, Virelizier JL, Michelson S. Role of IFN-gamma-induced indoleamine 2,3 dioxygenase and inducible nitric oxide synthase in the replication of human cytomegalovirus in retinal pigment epithelial cells. *J Immunol*;1999;162:957–64.
55. Obojes K, Andres O, Kim KS, Däubener W, Schneider-Schaulies J. Indoleamine 2,3-dioxygenase mediates cell type-specific anti-measles virus activity of gamma interferon. *J Virol*;2005;79:7768–76.
56. Spekker K, Czesla M, Ince V, Heseler K, Schmidt SK, Schares G, Däubener W. Indoleamine 2,3-dioxygenase is involved in defense against *neosporea caninum* in human and bovine cells. *Infect Immun*;2009;77:4496-501.
57. Däubener W, Hucke C, Seidel K, Hadding U, MacKenzie CR. Interleukin-1 inhibits gamma interferon-induced bacteriostasis in human uroepithelial cells. *Infect Immun*;1999;67:5615–20.
58. Die Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) als zentraler Regulator des Tryptophan-/ Kynurenin-/ Serotonin-Haushaltes. Institut für Medizinische Diagnostik Berlin – Potsdam MVZ GbR. *Diagnostik-Info*;266;2011;p.1-2. Available from: www.imd-berlin.de/fuer-einsender/fachinformationen-fuer-aerztediagnostikinfos/depressiver-formenkreis/266-indolamin-23-

dioxygenase-ido-als-zentraler-regulator-des-tryptophan-kynurenin-serotonin-haushaltes.html Accessed: 15, März 2014

59. Oxenkrug GF. Metabolic syndrome, age-associated neuroendocrine disorders, and dysregulation of tryptophan-kynurenine metabolism. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010;1199:1-14.
60. Shimizu T, Nomiya S, Hirata F, Hayaishi O. Indoleamine 2,3-dioxygenase. Purification and some properties. *J Biol Chem*;1978;253:4700–6.
61. Cady SG, Sono M. 1-Methyl-DL-tryptophan, β -(3-Benzofuranyl)-DL-alanine (the oxygen analog of tryptophan), and β -[3-Benzo(b)thienyl]-DL-alanine (the sulfur analog of tryptophan) are competitive inhibitors for Indoleamine 2,3-Dioxygenase. *Arch of Biochem Biophys*;1991;291:326-33.
62. Ball HJ, Sanchez-Perez A, Weiser S, Austin CJ, Astelbauer F, Miu J, McQuillan JA, Stocker R, Jermin LS, Hunt NH. Characterization of an indoleamine 2,3- dioxygenase-like protein found in humans and mice. *Gene*;2007;396:203–13.
63. Schmidt SK. Antimikrobielle und immunregulatorische Eigenschaften der Tryptophan 2,3- Dioxygenase und die Analyse der funktionellen Effekte des Tryptophan- Analogons 1-Methyl-Tryptophan. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf;August 2010;p.17. Available from: <http://d-nb.info/1012953335/34>. Accessed: 03, Dezember 2013.
64. Tryptophan-2,3-Dioxygenase. Available from: <http://de.wikipedia.org/wiki/Tryptophan-2,3-Dioxygenase>. Accessed: 14, November 2013.
65. Comings DE, Muhlemann D, Dietz GW, Donlon T. Human tryptophan oxygenase localized to 4q31: possible implications on alcoholism and other behavioural disorders. *Genomics*;1991;9:301-8.

66. Forouhar F, Anderson JL, Mowat CG, Vorobiev SM, Hussain A, Abashidze M, et. al. Molecular insights into substrate recognition and catalysis by tryptophan 2,3-dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA*;2007;104:473-8.
67. Batabyal D, Yeh S-R. Human tryptophan dioxygenase: A comparison to indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Am Chem Soc*;2007;129:15690-701.
68. Nabi R, Serajee FJ, Chugani DC, Zhong H, Huq AHMM. Association of the Tryptophan 2,3 Dioxygenase Gene Polymorphism With Autism. *Am J Med Gen Part B*;2003;125:63-8.
69. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;908:244-54.
70. Pence BD, Lowder TW, Keylock KT, Vieira Potter VJ, Cook MD, McAuley E. Relationship between Systemic Inflammation and Delayed-Type Hypersensitivity Response to Candida Antigen in Older Adults. *Plos One*;28, November 2011; Available from: www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0036403. Accessed: 14, November 2013
71. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39:44-84.
72. Drew B, Leeuwenburgh C. Aging and the role of reactive nitrogen species. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 66-81.

73. Weindruch R, Sohal RS. Cumulative Oxidative Damage during Aging. *N Engl J Med* 1997;337:986-994.
74. Herve C, Beyne P, Jamault H, Delacoux E. Determination of tryptophan and its kynurenine pathway metabolites in human serum by high-performance liquid chromatography with simultaneous ultraviolet and fluorimetric detection. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1996;675:157-61.
75. Stevens LA, Claybon MA, Schmid CH, Chen J, Horio M, Imai E, et al. Evaluation of the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation for estimating the glomerular filtration rate in multiple ethnicities. *Kidney Int* 2011;79:555-62.
76. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Curr Opin Cardiol* 2006;21:1-6.
77. Kolodziej LR, Paleolog EM, Williams RO. Kynurenine metabolism in health and disease. *Amino Acids* 2011;41:1173-83
78. Pertovaara M, Raitala A, Juonala M, Lehtimaki T, Huhtala H, Oja SS, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase enzyme activity correlates with risk factors for atherosclerosis: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Clin Exp Immunol* 2007;148:106-11.
79. Baldo-Enzi G, Baiocchi MR, Bertazzo A, Costa CV, Allegri G. Tryptophan and atherosclerosis. *Adv Exp Med Biol* 1996;398:429-32.
80. Zhao YY, Liu J, Cheng XL, Bai X, Lin RC. Urinary metabonomics study on biochemical changes in an experimental model of

chronic renal failure by adenine based on UPLC Q-TOF/MS. Clin Chim Acta 2012;413:642-9.

81. an der Kloet FM, Tempels FW, Ismail N, van der Heijden R, Kasper PT, Rojas- Cherto M, et al. Discovery of early-stage biomarkers for diabetic kidney disease using ms-based metabolomics (FinnDiane study). Metabolomics 2012;8:109-19.
82. Wang Y, Liu H, McKenzie G, Witting PK, Stasch JP, Hahn M, et al. Kynurenine is an endothelium-derived relaxing factor produced during inflammation. Nat Med 2010;16:279- 85.
83. Pawlak K, Brzosko S, Mysliwiec M, Pawlak D. Kynurenine, quinolinic acid--the new factors linked to carotid atherosclerosis in patients with end-stage renal disease. Atherosclerosis 2009;204:561-6.

11. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:

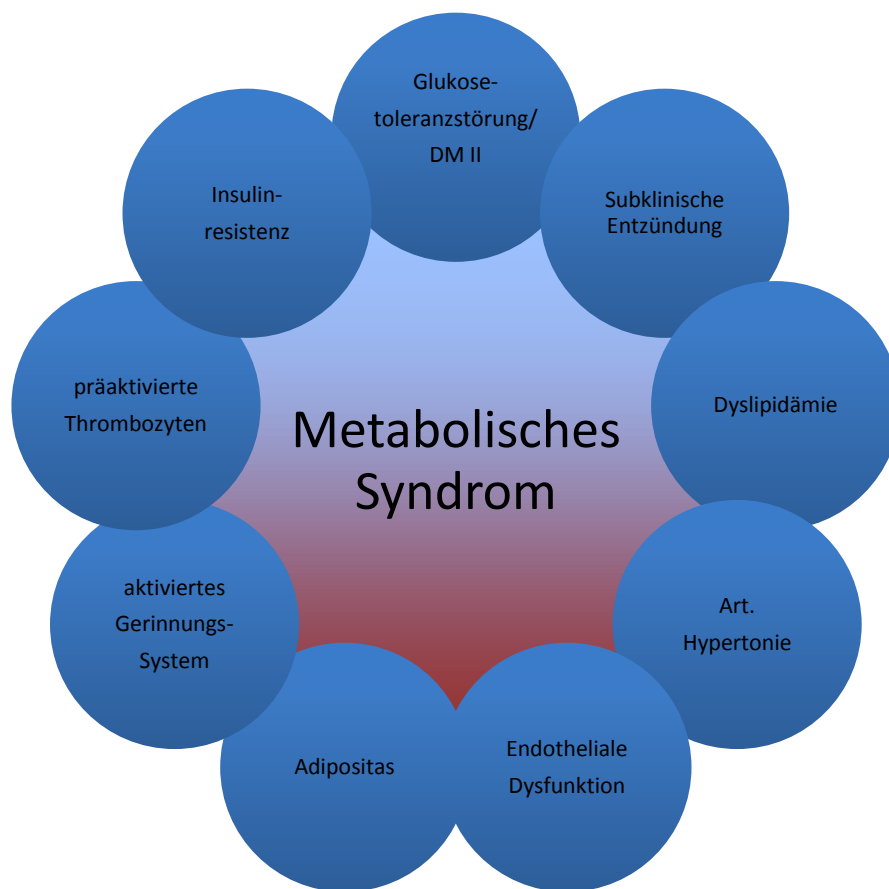


Abbildung 2:

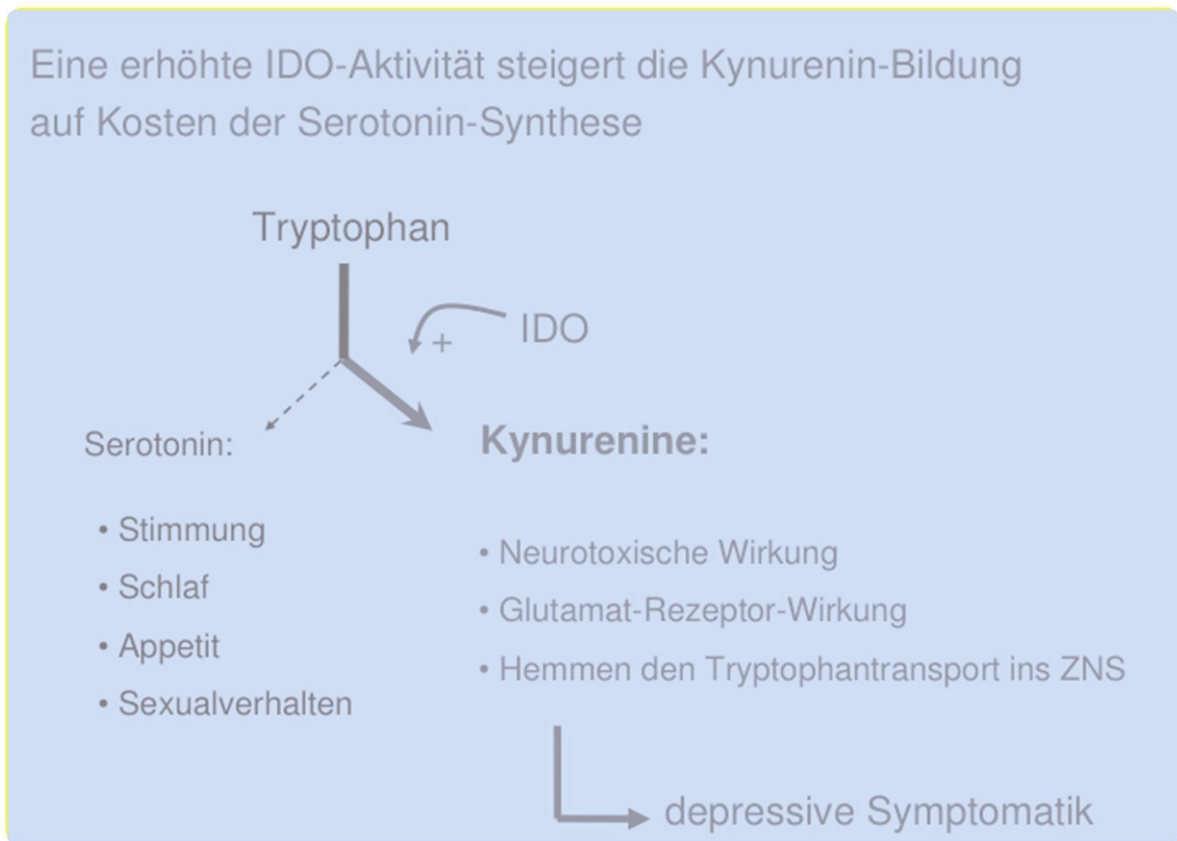


Abbildung 3:

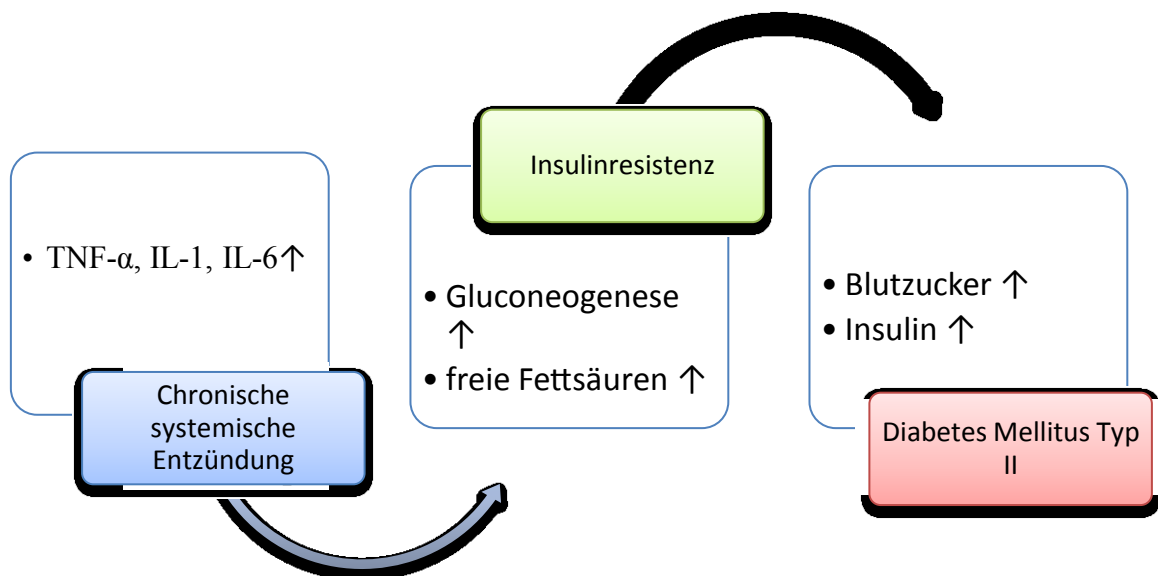


Abbildung 4:

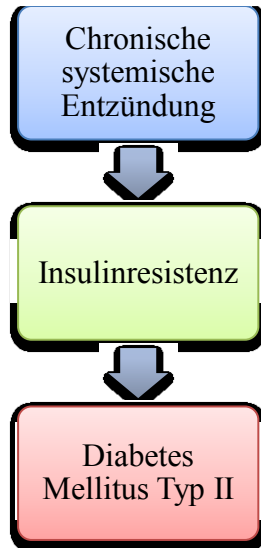


Abbildung 5:

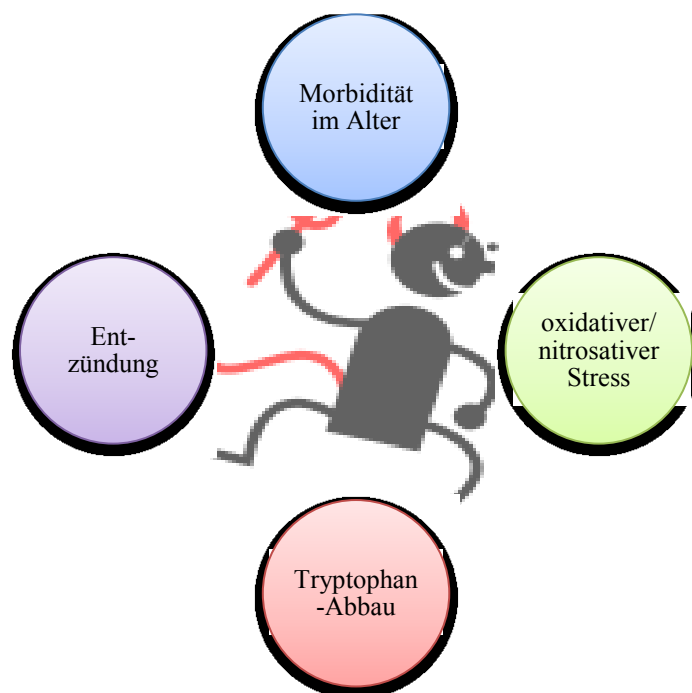
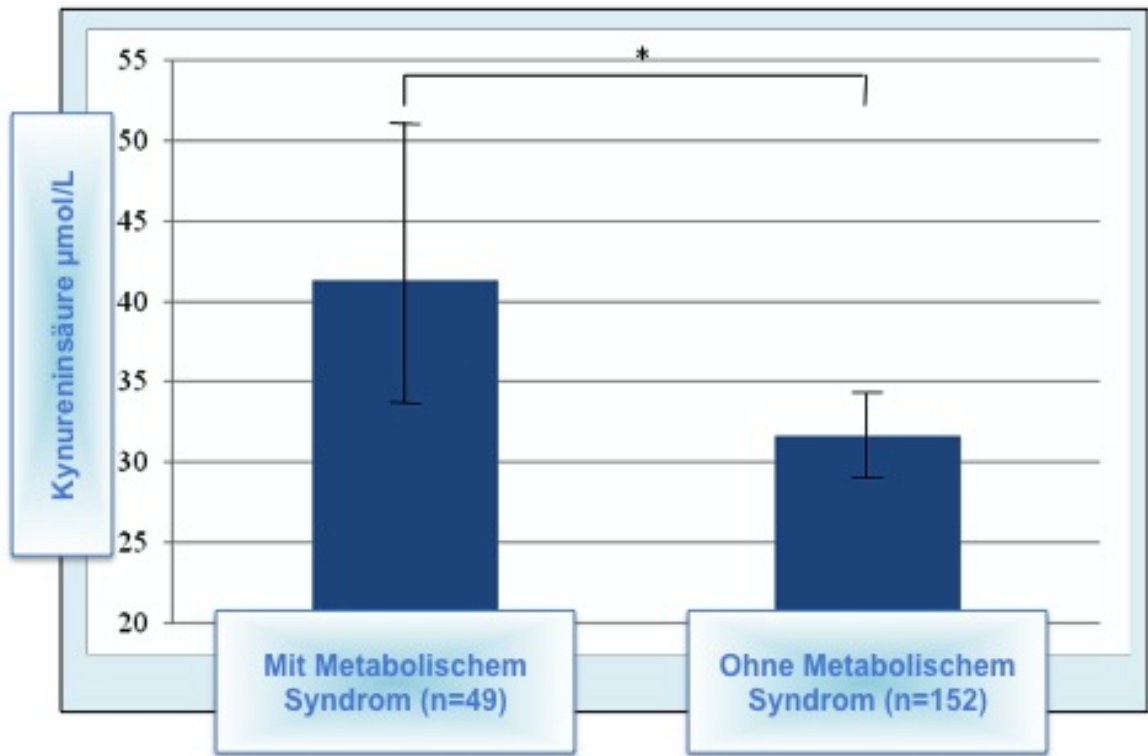
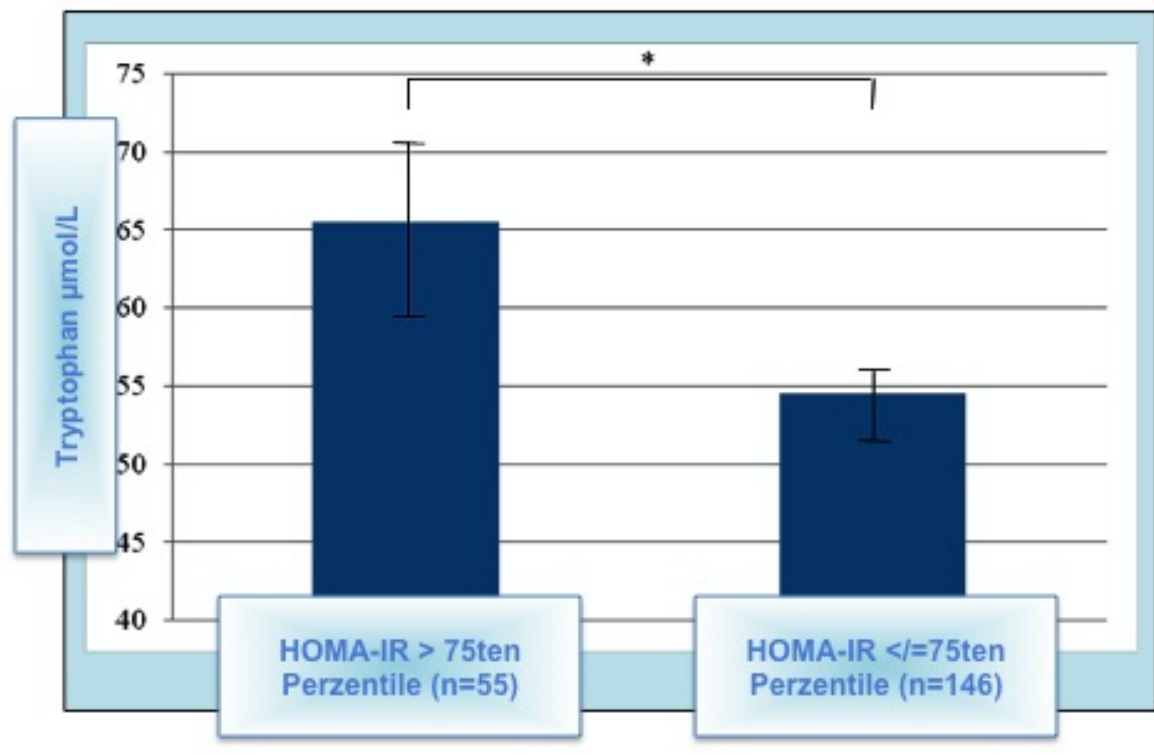


Abbildung 6:



Unterschiede der Kynureninsäurekonzentrationen bei PatientInnen mit und ohne Metabolischem Syndrom.

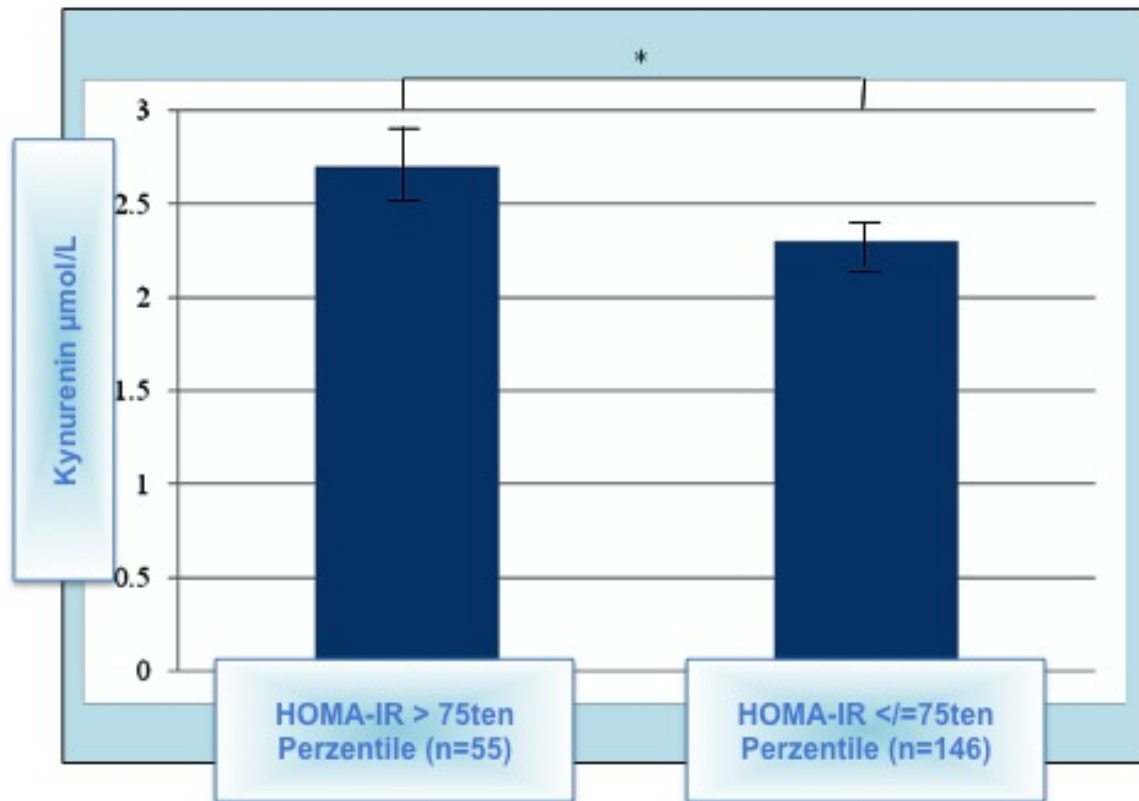
Abbildung 7:



Unterschiede der Tryptophankonzentration bei PatientInnen mit HOMA-IR oberhalb der 75. Perzentile und denen unterhalb der 75. Perzentile.

p=0,607

Abbildung 8:



Unterschiede der Kynureninspiegel bei PatientInnen mit HOMA-IR oberhalb der 75. Perzentile und denen unterhalb der 75. Perzentile.

p=0,003

Tabelle 1:

Kategorie	BMI (kg/m²)	Risiko für Begleiterkrankungen des Übergewichtes
Untergewicht	< 18,5	niedrig
Normalgewicht	18,5 – 24,9	durchschnittlich
Übergewicht Präadipositas Adipositas Grad I Adipositas Grad II Adipositas Grad III	≥ 25,0 25,0 – 29,9 30,0 – 34,9 35,0 – 39,9 ≥ 40,0	gering erhöht erhöht hoch sehr hoch

Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen anhand des BMI (aus: „Evidenzbasierte Leitlinie
„Prävention und Therapie der Adipositas“, Hauner et al. 2005, S. 6)

Tabelle 2:

Bewertung	Systolisch (mm Hg)	Diastolisch (mm Hg)
Optimaler Blutdruck	< 120	< 80
Normaler Blutdruck	120 - 129	80 - 84
Hoch- Normaler Blutdruck	130 - 139	85 - 89
Milde Hypertonie (Stufe I)	140 - 159	90 - 99
Mittlere Hypertonie (Stufe II)	160 - 179	100 - 109
Schwere Hypertonie (Stufe III)	> 180	> 110
Isolierte Systolische Hypertonie	> 140	< 90

WHO Klassifikation der arteriellen Hypertonie von 1999.

Tabelle 3:

Tryptophan, $\mu\text{mol/L}$	57,0 \pm 1,2
Kynurenine, $\mu\text{mol/L}$	2,5 \pm 0,6
Kynurenic acid, $\mu\text{mol/L}$	34,2 \pm 1,5
Kynurenine/tryptophan ratio*	0,04 \pm 0,01
Age, years	48,1 \pm 16,0
Women, %	61,7
Body mass index, kg/m^2	28,4 \pm 6,2
Waist circumference, cm	97,6 \pm 14,3
Fasting glucose mg/dL	90,3 \pm 18,4
HBA1c, mmol/L	35,5 \pm 0,5
HOMA-IR	2,0 \pm 1,7
Fasting c-peptide ng/mL	3,1 \pm 2,7
Serum HDL cholesterol	63,0 \pm 17,8
Serum LDL cholesterol	118,4 \pm 28,8
Serum Triglycerides mg/gl	113,8 \pm 64,2
Systolic blood pressure, mmHg	153,5 \pm 22,9
Diastolic blood pressure, mmHg	95,1 \pm 12,6
History of antihypertensive medication, %	78,5
Smoking, py	5,1 \pm 11,7
Metabolic syndrome, NCEP III, % **	24,4
Metabolic syndrome IDF, % ***	33,8
eGFR, $\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2\uparrow$	108,1 \pm 37,2
Urinary albumin creatinine ratio, mg/g Creatinine	44,4 \pm 132,6
Mean CIMT, mm ++	0,8 \pm 0,1
Urea, mg/dl	30,9 \pm 8,8
Asymmetric dimethylarginine, $\mu\text{mol/L}$	0,7 \pm 0,1
Symmetric dimethylarginine, $\mu\text{mol/L}$	0,6 \pm 0,1
Alanine transaminase, U/L	27,6 \pm 15,4
Aspartate aminotransferase, U/L	25,5 \pm 8,3
Gamma-glutamyltransferase, U/L	34,7 \pm 36,6
Alkaline phosphatase, U/L	64,9 \pm 21,9
Serum Calcium, mmol/L	2,3 \pm 0,1
Serum potassium, mmol/L	3,8 \pm 0,4
CRP, mg/L	3,4 \pm 4,9
Fibrinogen, mg/dL	336,0 \pm 86,7
ACTH, pg/mL	19,2 \pm 31,3
Cortisol, ng/mL	144,4 \pm 53,8
Norepinephrine, pg/mL	438,3 \pm 214,2
TSH, $\mu\text{U}/\text{mL}$	1,7 \pm 1,1
ACE inhibitor use, %	34,8
Angiotensine receptor blocker use, %	16,9
Betablocker use, %	50,2
Calcium channel blocker use, %	33,0
Diuretic use, %	35,3
Statin use, %	9,0

Merkmale der Kohorte.

Tabelle 4:

Tryptophan	-			
Kynurenine	0.171*	-		
Kynurenic acid	0.034	0.544**	-	
Kynurenine/tryptophan ratio#	-0.510	0.760**	0.452**	-
Body mass index	0.076	0.068	0.041	0.009
Waist circumference	-0.076	-0.010	-0.007	0.037
Fasting glucose	0.081	0.138	0.061	0.068
HOMA-IR	-0.018	0.118	0.075	0.116
Fasting c-peptide	-0.200*	0.181*	0.272**	0.025
HDL cholesterol	0.094	0.054	-0.127	-0.014
LDL cholesterol	-0.003	0.011	0.049	-0.008
Triglycerides	0.033	0.004	0.108	-0.026
Systolic blood pressure	0.035	0.102	-0.053	0.066
Diastolic blood pressure	-0.074	0.086	0.008	0.124
NT-pBNP	0.008	-0.003	0.038	-0.008
eGFR†	-0.002	-0.019	-0.027	-0.016
Urinary albumin creatinine ratio	0.002	0.148	0.003	0.108
Mean CIMT ++	-0.156	-0.010	0.092	0.092

Pearson-Korrelationskoeffizienten für Tryptophan / Tryptophan verwandten Metaboliten und metabolischen Eigenschaften.