



Zusammenhang zwischen Omentin, Inflammation und kardiometabolischem Risiko

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Corinna Niersmann
aus Krefeld

Düsseldorf, November 2019

aus dem Institut für Klinische Diabetologie
des Deutschen Diabetes-Zentrums
Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung an der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Berichtersteller:

1. Herr Prof. Dr. Christian Herder
2. Herr Prof. Dr. Eckhard Lammert

Tag der mündlichen Prüfung: 25.06.2020

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| ZUSAMMENFASSUNG | III |
| ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS..... | VI |
| ABBILDUNGSVERZEICHNIS | XI |
| TABELLENVERZEICHNIS | XII |
| 1. THEORETISCHER HINTERGRUND | 1 |
| 1.1 Epidemiologie des Diabetes mellitus | 1 |
| 1.1.1 Definition und Klassifizierung des Diabetes mellitus | 1 |
| 1.1.2 Diagnose des Diabetes mellitus | 2 |
| 1.1.3 Prävalenz des Typ-2-Diabetes | 4 |
| 1.1.4 Risikofaktoren des Typ-2-Diabetes | 6 |
| 1.1.5 Pathogenese des Typ-2-Diabetes | 9 |
| 1.1.6 Prävention und Behandlung des Typ-2-Diabetes | 13 |
| 1.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen | 15 |
| 1.2.1 Koronare Herzkrankheit | 16 |
| 1.2.2 Zerebrovaskuläre Erkrankungen | 18 |
| 1.2.3 Kardiovaskuläre Begleiterkrankungen bei Diabetes mellitus | 19 |
| 1.3 Adipokine und Inflammation | 22 |
| 1.4 Omentin | 27 |
| 1.4.1 Struktur und Expression von Omentin | 27 |
| 1.4.2 Omentin und Typ-2-Diabetes | 27 |
| 1.4.3 Omentin und kardiovaskuläre Erkrankungen | 28 |
| 1.4.4 Omentin in zellulären Studien | 29 |
| 1.4.5 Omentin in Tiermodellen | 31 |
| 2. ZIELSETZUNG | 32 |
| 3. METHODIK | 35 |
| 3.1 KORA F4/FF4-Studie zur Untersuchung der Assoziation zwischen Omentin und der Diabetes-Inzidenz | 35 |
| 3.2 ESTHER-Studie zur Untersuchung der Assoziation zwischen Omentin und der Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen in Patienten mit T2D | 36 |
| 3.3 Quantifizierung der Serumkonzentration von Omentin mittels ELISA | 37 |
| 3.4 Primäre humane Adipozyten als in vitro-Modell zur Untersuchung des Omentin-Signalweges | 37 |
| 3.5 Messung von Inflammationsmarkern im Zellkulturüberstand mit Hilfe der Proximity Extension Assay-Technologie von Olink Proteomics | 38 |
| 3.6 Identifizierung der Omentin-vermittelten Wirkmechanismen mit Hilfe der Ingenuity® Pathway Analyse | 39 |
| 3.7 Analyse von Signalwegen mit Hilfe des Simple Western™ Systems | 40 |
| 3.8 Untersuchung des Einflusses von Omentin auf das Sekretom von primären humanen Adipozyten mit Hilfe einer Proteomanalyse | 42 |
| 3.9 Statistische Auswertungen | 43 |

| | |
|--|------------|
| 4. ORIGINAL VERÖFFENTLICHUNGEN..... | 45 |
| 4.1 Manuskript 1 | 45 |
| 4.2 Manuskript 2 | 46 |
| 4.3 Manuskript 3 | 47 |
| 4.4 Manuskript 4 | 48 |
| 5. ALLGEMEINE DISKUSSION | 49 |
| 5.1 Omentin und Typ-2-Diabetes | 50 |
| 5.1.1 Positive Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und glykämischen Parametern | 50 |
| 5.1.2 Positive Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und inzidentem Typ-2-Diabetes | 51 |
| 5.1.3 Potenzielle Erklärungen für die kontroverse Datenlage aus Querschnittstudien und prospektiven Untersuchungen | 52 |
| 5.2 Omentin und kardiovaskuläre Erkrankungen | 54 |
| 5.2.1 Positive Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und der Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen | 54 |
| 5.2.2 Pathophysiologische Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen von Omentin und dem kardiovaskulären Risiko | 55 |
| 5.3 Zelluläre Effekte von Omentin auf primäre humane Adipozyten | 58 |
| 5.3.1 Omentin vermittelt einen pro-inflammatorischen Phänotyp <i>in vitro</i> | 58 |
| 5.3.2 Omentin-regulierte Proteine stehen in Verbindung mit Diabetes und kardiovaskulären Erkrankungen | 63 |
| 5.3.3 Hochregulation des anti-inflammatorischen Proteins TNFAIP-6 liefert Hinweise auf eine Gegenregulation | 66 |
| 5.4 Stärken und Schwächen | 67 |
| 6. SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK..... | 69 |
| 7. LITERATURVERZEICHNIS..... | 72 |
| 8. PUBLIKATIONEN IM RAHMEN DER KUMULATIVEN DISSERTATION..... | 96 |
| PUBLIKATIONEN..... | 97 |
| KONGRESSBEITRÄGE UND EINGELADENE VORTRÄGE | 98 |
| STIPENDIEN..... | 99 |
| DANKSAGUNG | 100 |
| EIGENER ANTEIL AN DEN ORIGINAL VERÖFFENTLICHUNGEN..... | 102 |
| EIDESSTÄTTLICHE VERSICHERUNG | 104 |

ZUSAMMENFASSUNG

Adipositas ist gekennzeichnet durch die Zunahme der Fettgewebsmasse und stellt eines der größten globalen Gesundheitsprobleme dar. Als endokrines Organ exprimiert und sezerniert das Fettgewebe eine Vielzahl an Peptidhormonen, den so genannten Adipokinen, wobei die Mehrheit der Adipokine bei Adipositas sowohl verstärkt produziert als auch vermehrt freigesetzt wird. Diese Adipokine stellen metabolisch aktive Proteine dar, die zahlreiche Stoffwechselprozesse im Körper beeinflussen können. Demnach wird ein verändertes Sekretionsmuster von Adipokinen als möglicher zentraler Mechanismus beschrieben, über welchen Adipositas das Risiko für die Entstehung einer Insulinresistenz, eines Typ-2-Diabetes und seiner Komorbiditäten erhöht.

Omentin stellt ein kürzlich identifiziertes Adipokin dar, dem zunächst insulinsensitivierende und anti-inflammatorische Eigenschaften zugeschrieben wurden. Basierend auf Querschnittsstudien wurden inverse Zusammenhänge zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin, der Insulinresistenz sowie der Prävalenz von Diabetes und kardiovaskulären Erkrankungen aufgezeigt. Trotz der möglichen protektiven Rolle von Omentin in Adipositas-assoziierten Erkrankungen führt die Berücksichtigung von Befunden aus prospektiven Analysen, die bisher lediglich in begrenztem Umfang zur Verfügung stehen, zu einer kontroversen Datenlage. Demnach bestand das Ziel der vorliegenden Dissertation darin, die Zusammenhänge zwischen Omentin, Typ-2-Diabetes und kardiovaskulären Erkrankungen anhand von prospektiven Studien weitergehend zu untersuchen und insbesondere im Kontext dieser kardiometabolischen Erkrankungen den bis dato noch wenig verstandenen Wirkmechanismus von Omentin mit Hilfe von *in vitro*- und *in silico*-Studien zu entschlüsseln. Im ersten Manuskript zeigten unsere Daten aus der KORA (Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg) F4/FF4-Studie, dass höhere Serumkonzentrationen von Omentin auch nach multivariater Adjustierung sowohl mit Anstiegen glykämischer Parameter wie u.a. der Nüchtern- und 2-Stunden (2-h)-Glukose als auch mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für Typ-2-Diabetes assoziiert waren. Die Adjustierung für die Serumkonzentrationen von Adiponektin hatte keinen Einfluss auf diese positiven Assoziationen, was gegen eine Interaktion zwischen den Adipokinen Omentin und Adiponektin spricht.

Im zweiten Manuskript lieferten unsere Daten innerhalb der ESTHER (Epidemiologische Studie zu Chancen der Verhütung, Früherkennung und optimierten Therapie chronischer Erkrankungen in der älteren Bevölkerung)-Kohorte positive Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und dem kardiovaskulären Risiko in Personen mit Typ-2-Diabetes, wobei auch diese Assoziationen unabhängig von den Serumkonzentrationen des anti-inflammatorischen Adipokins Adiponektin waren. In Bezug auf die kontroverse Datenlage aus Querschnittsanalysen und *in vitro*-Studien erscheint es plausibel, dass die ausgeprägte

Hochregulation von Omentin eine anti-inflammatorische Gegenregulation auf pro-inflammatorische Faktoren darstellt, um die Manifestation des Typ-2-Diabetes und/oder von kardiovaskulären Erkrankungen zu verhindern. Allerdings stellt dieser Anstieg in der Omentin-Konzentration lediglich einen vergeblichen Versuch dar und kann den Ausbruch der Erkrankungen nicht verhindern.

Im dritten und vierten Manuskript legten weitere *in vitro*- und *in silico*-Untersuchungen jedoch dar, dass Omentin ein pro-inflammatorisches Milieu in primären humanen Adipozyten induzieren kann. Die Messung von Inflammationsmarkern im Zellkulturüberstand ergab, dass Omentin-behandelte Adipozyten vermehrt pro-inflammatorische Zytokine und Chemokine sekretierten. Darüber hinaus induzierte Omentin die inflammatorischen Signalwege NFκB (*nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells*), p38 und ERK (*extracellular signal regulated kinase*) in primären humanen Adipozyten *in vitro*.

Im vierten Manuskript der vorliegenden Arbeit konnten anhand der *Ingenuity® Pathway* Analyse die Omentin-regulierten Proteine sieben kanonischen Signalwegen zugeordnet werden. Hierbei unterstützten die identifizierten Signalwege „Komplementsystem“, „Akut-Phase-Reaktion“ und „Hemmung der Matrix-Metalloproteinasen“ die bereits aufgestellte Hypothese, dass Omentin ein pro-inflammatorisches Milieu in primären humanen Adipozyten induziert. Der Signalweg „Protein Ubiquitinierung“ bekräftigt die *in vitro*-Daten und die Ergebnisse der *Upstream Regulator* Analyse, die für eine Beteiligung des NFκB-Signalweges am Omentin-stimulierten Sekretionsprozess sprechen. Darüber hinaus wird vermutet, dass Omentin über die Sekretion von Adhäsionsmolekülen wie u.a. ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) und VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*), die im Signalweg „Leberfibrose/Aktivierung der hepatischen Sternzellen“ überrepräsentiert waren, endokrine Wirkungen entfaltet. Letztlich lieferte die Identifikation der Signalwege „EIF2 (*eukaryotic translation initiation factor 2*) Signalweg“ und „Regulation des eIF4 und p70S6K (70-kDa ribosomale S6 Kinase) Signalweges“ Hinweise darauf, dass Omentin zellulären Stress in primären humanen Adipozyten *in vitro* verursacht. Neben zahlreichen Sekretionsprodukten, die positiv mit dem Risiko für Typ-2-Diabetes und kardiovaskuläre Ereignisse assoziiert sind, konnten wir TNFAIP-6 (*tumor necrosis factor-alpha-induced protein-6*) als das am stärksten hochregulierte Protein nach Omentin-Behandlung in primären humanen Adipozyten nachweisen. Da die Expression von TNFAIP-6 größtenteils erst durch pro-inflammatorische Faktoren eingeleitet wird und aufgrund der anti-inflammatorischen Eigenschaften gehen wir momentan davon aus, dass die Hochregulation dieses Biomarkers als eine endogene Gegenregulation angesehen werden kann.

Die Manuskripte der vorliegenden Dissertation tragen zu einem besseren Verständnis der Rolle des Adipokins Omentin in inflammatorischen Prozessen, der Pathogenese eines Typ-2-Diabetes sowie von kardiovaskulären Erkrankungen bei.

Basierend auf unseren epidemiologischen Studien könnte Omentin als vielversprechender Indikator für eine bestehende pro-inflammatorische Umgebung dienen, auf ein erhöhtes kardiometabolisches Erkrankungsrisiko hinweisen und eine anti-inflammatorische Gegenregulation vermitteln. Allerdings reichen diese epidemiologischen Daten nicht aus, um pro-inflammatorische Eigenschaften von Omentin in der Pathogenese eines Typ-2-Diabetes und von kardiovaskulären Erkrankungen ausschließen zu können. Vielmehr wird diese alternative Annahme über pro-inflammatorische Wirkungen von Omentin unter Berücksichtigung unserer *in vitro*- und *in-silico*-Daten gestärkt.

Zusammenfassend kann anhand dieser Daten demnach nicht eindeutig dargelegt werden, ob sich Omentin als Adipokin mit pro- oder anti-inflammatorischen Eigenschaften charakterisieren lässt. Bisher leisten die *in vitro*- und *in silico*-Daten zwar einen wichtigen Beitrag zur Klärung der lokalen Wirkungen von Omentin in primären humanen Adipozyten, allerdings sollte künftig untersucht werden, inwiefern Omentin auf andere insulinresistente Gewebe wie der Leber, dem Skelettmuskel und dem Endothel pro- oder anti-inflammatorische Wirkungen hat. Diese weiteren Forschungsansätze helfen gegebenenfalls dabei, die zwei gegensätzlichen Hypothesen über die potenzielle Rolle von Omentin weiter zu stützen bzw. zu falsifizieren.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|-----------------|---|
| % | Prozent |
| °C | Grad Celsius |
| 2-h | 2-Stunden |
| 3T3-L1 | Embryonale Fibroblasten-Zelllinie der Maus – Differenzierung in adipozytenähnliche Zellen möglich |
| ACE | <i>Angiotensin Converting Enzyme</i> |
| ADA | <i>American Diabetes Association</i> |
| Akt | Proteinkinase B |
| AMPK | Adenosin-Monophosphat-Kinase |
| ANOVA | <i>Analysis of Variance</i> |
| ApoE-KO | Apoplipoprotein E-defizient |
| ATF4 | <i>Activating transcription factor 4</i> |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| AUC | <i>Area under the curve</i> |
| BMI | <i>Body mass index</i> |
| BMP2 | <i>Bone morphogenetic protein 2</i> |
| C3 | Komplementfaktor C3 |
| CANTOS | <i>Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study</i> |
| CCL | <i>C-C-motif ligand</i> |
| CER | Ceramide |
| CHOP | <i>C/EBP-homologous protein</i> |
| CO ₂ | Kohlenstoffdioxid |
| CoA | Coenzym A |
| COX | Cyclooxygenase |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CSF-1 | <i>Macrophage colony-stimulating factor-1</i> |
| C _t | <i>Threshold cycle</i> |
| CVD | <i>Cardiovascular disease</i> |

| | |
|---------------|--|
| CXCL | <i>C-X-C motif ligand</i> |
| DAG | Diacylglycerine |
| DCCT | <i>Diabetes Control and Complications Trial</i> |
| DDG | Deutsche Diabetes Gesellschaft |
| DIA | <i>Data-independent acquisition modus</i> |
| DIMDI | Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| DPP-4 | Dipeptidylpeptidase 4 |
| eIF2 α | <i>Alpha subunit of eukaryotic translation initiation factor 2</i> |
| EIF3D | <i>Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit D</i> |
| ELISA | <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> |
| eNOS | Stickstoffmonoxid-Synthase |
| EPIC | <i>European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition</i> |
| ER | Endoplasmatisches Retikulum |
| ERK | <i>Extracellular-signal regulated kinase</i> |
| ESTHER | Epidemiologische Studie zu Chancen der Verhütung, Früherkennung und optimierten Therapie chronischer Erkrankungen in der älteren Bevölkerung |
| et al. | Und andere |
| FASP | <i>Filter-Aided Sample Preparation</i> |
| Fc-Region | Kristallisierbare Fragmentregion |
| GDF-15 | <i>Growth differentiation factor-15</i> |
| GLP-1 | <i>Glucagon-like peptide-1</i> |
| HbA1c | Glykiertes Hämoglobin A1c |
| HDL | <i>High-density lipoprotein</i> |
| HepG2 | Zellen aus menschlichem Lebergewebe mit hepatozellulärem Karzinom |
| HR | <i>Hazard ratio</i> |
| HRP | <i>Horseradish peroxidase</i> |

| | |
|-----------------------|--|
| ICAM | <i>Intercellular adhesion molecule</i> |
| IDF | Internationale Diabetes-Föderation |
| IFG | <i>Impaired fasting glucose</i> |
| IGT | <i>Impaired glucose tolerance</i> |
| I κ B α | <i>Nuclear factor kappa-B inhibitor alpha</i> |
| IKBKB | <i>Inhibitor or nuclear factor kappa-B kinase subunit beta</i> |
| IKK | <i>Inhibitor of kappa-B kinase</i> |
| IL | Interleukin |
| IL-1R | Interleukin-1-Rezeptor |
| IL-1RA | Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist |
| IPA | <i>Ingenuity[®] Pathway Analyse</i> |
| ISR | <i>Integrated Stress Response</i> |
| JNK | <i>C-Jun amino-terminal kinase</i> |
| kg/m ² | Kilogramm pro Quadratmeter |
| kDa | Kilodalton |
| KHK | Koronare Herzkrankheit |
| KI | Konfidenzintervall |
| KORA | Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg |
| LC-MS/MS | Flüssigkeitschromatographie Massenspektrometrie/Massenspektrometrie |
| LDL | <i>Low-density lipoprotein</i> |
| LIMS1 | <i>LIM und senescent cell antigen-like-containing domain protein 1</i> |
| LPS | Lipopolysaccharid |
| m/z | Masse-zu-Ladungs-Verhältnis |
| M1 | Klassisch aktiviert |
| M2 | Alternativ aktiviert |
| MAPK | <i>Mitogen-activated protein kinase</i> |
| MCP-1 | <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i> |
| MetS | Metabolisches Syndrom |

| | |
|----------------|--|
| mg/dl | Milligramm pro Deziliter |
| mg/l | Milligramm pro Liter |
| MIC-1 | <i>Macrophage inhibitory cytokine-1</i> |
| MIP-1 α | <i>Macrophage inflammatory protein-1α</i> |
| mmol/l | Millimol pro Liter |
| mmol/mol | Millimol pro Mol |
| MMP1 | Matrix-Metalloprotease 1 |
| MODY | <i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i> |
| MONICA | <i>Multinational MONItoring of trends and determinants in Cardiovascular disease</i> |
| mRNA | <i>Messenger ribonucleic acid</i> |
| MW | <i>Molecular weight</i> |
| NF κ B | <i>Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells</i> |
| ng/ml | Nanogramm pro Milliliter |
| NGSP | <i>National Glycohemoglobin Standardization Program</i> |
| NGT | Normale Glukosetoleranz |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| NPX | <i>Normalized protein expression</i> |
| oGTT | Oraler Glukosetoleranztest |
| OR | <i>Odds Ratio</i> |
| p70S6K | 70-kDa ribosomale S6 Kinase |
| PCR | <i>Polymerase chain reaction</i> |
| PEA | <i>Proximity Extension Assay</i> |
| PERK | <i>PKR-like endoplasmic reticulum kinase</i> |
| PKC | Proteinkinase C |
| PKR | <i>Protein kinase R</i> |
| PPAR | Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor |
| qPCR | <i>Quantitative real-time PCR</i> |
| RelA | Transkriptionsfaktor, Untereinheit von NF κ B, |

| | |
|----------|--|
| | auch bekannt als p65 |
| SDS | <i>Sodium dodecylsulfate</i> |
| SFRP4 | <i>Secreted frizzled-related protein 4</i> |
| SGLT-2 | Sodium-Glukose-Co-Transporter 2 |
| SP1 | Sp1 Transkriptionsfaktor |
| SVF | Stromal-vaskuläre Fraktion |
| T2D | Typ-2-Diabetes |
| TCF7L2 | <i>Transcription factor 7-like 2</i> |
| TGF | <i>Transforming growth factor</i> |
| TIMP1 | <i>Tissue inhibitor of metalloproteinase-1</i> |
| TLR | <i>Toll-like receptor</i> |
| TNF | Tumornekrosefaktor |
| TNFAIP-6 | <i>Tumor necrosis factor-alpha-induced protein-6</i> |
| TNFR | Tumornekrosefaktor-Rezeptor |
| TSG6 | <i>Tumor necrosis factor-stimulated gene 6</i> |
| µg/ml | Mikrogramm pro Milliliter |
| VCAM | <i>Vascular cell adhesion molecule</i> |
| VEGFA | <i>Vascular endothelial growth factor A</i> |
| VLDL | <i>Very low-density lipoprotein</i> |
| WHO | <i>World Health Organization</i> |
| Wnt | <i>Wingless-type MMTV integration site family</i> |

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | | |
|----------------|--|-----------|
| Abb. 1: | Entwicklung des Typ-2-Diabetes. | 9 |
| Abb. 2: | Prozesse, die durch Adipokine reguliert werden. | 22 |
| Abb. 3: | Schematische Darstellung der PEA-Technologie. | 39 |
| Abb. 4: | Schematischer Ablauf des gröÙenbasierten Simple Western™ Systems. | 41 |
| Abb. 5: | Omentin-Signalweg, der die Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen in primären Adipozyten vermitteln könnte. | 61 |

TABELLENVERZEICHNIS

| | | |
|----------------|--|-----------|
| Tab. 1: | Diagnosekriterien und Einstufung. | 2 |
| Tab. 2: | Wirkungsweise von oralen Antidiabetika. | 13 |

1. THEORETISCHER HINTERGRUND

1.1 Epidemiologie des Diabetes mellitus

1.1.1 Definition und Klassifizierung des Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus, kurz Diabetes, umfasst heterogene Störungen des Stoffwechsels, deren Leitsymptom die chronische Hyperglykämie ist. Diese Stoffwechselkrankheit ist auf eine gestörte Insulinsekretion und/oder auf eine verminderte Insulinwirkung zurückzuführen, was wiederum sowohl den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel als auch den Proteinmetabolismus beeinflusst [1, 2]. Die Einteilung der verschiedenen Diabetesformen durch die Amerikanische Diabetes Gesellschaft (ADA: *American Diabetes Association*) orientiert sich an den Ursachen der Erkrankung (Ätiologie). Entsprechend lässt sich der Diabetes mellitus in folgende vier Subtypen klassifizieren [1-3]:

- Der **Diabetes mellitus Typ 1** ist gekennzeichnet durch eine progrediente, immunvermittelte Zerstörung der insulinproduzierenden Betazellen in den Langerhans-Inseln des Pankreas. Diese autoimmune Zerstörung der pankreatischen Betazellen führt üblicherweise zu einem absoluten Insulinmangel. Der Anteil an Personen mit Typ-1-Diabetes unter allen Personen mit Diabetes wird auf 5-10% geschätzt.
- Der **Diabetes mellitus Typ 2** beruht auf einer variablen Kombination von gestörter Insulinsekretion und Insulinresistenz. Dem Typ-2-Diabetes (T2D) werden mehr als 90% der Diabeteserkrankungen zugeordnet.
- **Gestationsdiabetes** ist definiert als eine Glukosetoleranzstörung, die erstmals während des zweiten oder dritten Trimesters einer Schwangerschaft auftritt.
- Die **anderen spezifischen Typen des Diabetes mellitus** sind zurückzuführen auf Gendefekte der Betazellfunktion (wie z.B. *Maturity Onset Diabetes of the Young [MODY]*), genetische Defekte der Insulinwirkung (z.B. Typ-A-Insulinresistenz), Endokrinopathien (z.B. Akromegalie, *Cushing*-Syndrom, Glukagonom, Somatostatinom, Hyperthyreose), Erkrankungen des exokrinen Pankreas (z.B. Pankreatitis, zystische Fibrose, Hämochromatose), Chemikalien (z.B. Pentamidin), Medikamente (z.B. Glukokortikoide), Virus-Infektionen (z.B. kongenitale Röteln), ungewöhnliche Formen des immunvermittelten Diabetes (z.B. Anti-Insulin-Rezeptor-Antikörper-Syndrom, „*Stiff-man*“-Syndrom) sowie auf andere genetische Syndrome (z.B. *Down*-Syndrom, *Wolfram*-Syndrom), die gelegentlich mit Diabetes assoziiert sind [1-3].

1.1.2 Diagnose des Diabetes mellitus

Zur Diagnose des Diabetes mellitus legten die Weltgesundheitsorganisation (WHO: *World Health Organization*) und die ADA Grenzwerte der Blutglukosewerte fest (Tabelle 1), die entweder nüchtern, 2-Stunden (2-h) nach einem oralen Glukosetoleranztest (oGTT) oder zufällig/gelegentlich bestimmt werden. Eine normale Glukosetoleranz (NGT) liegt bei Personen mit Nüchtern-Plasmaglukosewerten <100 mg/dl (<5,6 mmol/l) und 2-h-Plasmaglukosewerten <140 mg/dl (<7,8 mmol/l) vor. Die Nüchtern-Plasmaglukosewerte, 2-h-Plasmaglukosewerte sowie die Gelegenheits-Plasmaglukosewerte in Verbindung mit klassischen Symptomen der Hyperglykämie (u.a. Polydipsie, Polyurie, ungeklärter Gewichtsverlust) wurden bis 2009 als Diagnosekriterien verwendet. Im Jahr 2010 wurden Grenzwerte für das glykierte Hämoglobin A1c (HbA1c) als viertes Kriterium von der ADA eingeführt [2].

Tabelle 1: Diagnosekriterien und Einstufung (reproduziert und modifiziert nach [3]).

| Diagnose | Plasmaglukosewerte | | | HbA1c |
|----------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | Nüchtern | nach 2-h im oGTT | zufällig/ gelegentlich | |
| Kein Diabetes | <100 mg/dl (<5,6 mmol/l) | <140 mg/dl (<7,8 mmol/l) | - | <5,7% (<39 mmol/mol) |
| Prädiabetes | 100–125 mg/dl (5,6–6,9 mmol/l) | 140–199 mg/dl (7,8–11,0 mmol/l) | - | 5,7-6,4% (39–47 mmol/mol) |
| Diabetes mellitus | ≥126 mg/dl (7,0 mmol/l) | ≥200 mg/dl (11,1 mmol/l) | ≥200 mg/dl (11,1 mmol/l) | ≥6,5% (48 mmol/mol) |

Abkürzungen: 2-h: 2-Stunden, HbA1c: glykiertes Hämoglobin A1c, oGTT: oraler Glukosetoleranztest.

Diese Grenzwerte beziehen sich auf die Bestimmung der Glukosekonzentrationen im venösen Plasma [1]. Bevor die Diagnose über einen Diabetes mellitus gestellt werden kann, sollten die Ergebnisse mittels Replizierung des Tests an einem weiteren Tag bestätigt werden [2]. Die Messung des Nüchtern-Blutglukosewertes erfolgt nach einer Fastenperiode von mindestens 8 Stunden [2, 3]. Nach Empfehlungen der WHO und der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) erfordert der oGTT eine dreitägige kohlenhydratreiche Ernährung (>150 g Kohlenhydrate pro Tag). Die anschließende Aufnahme von 75 g wasserfreier Glukose in einer wässrigen Lösung sollte nach einer Nahrungs-, Nikotin- und Alkoholkarenz von 8-12 Stunden erfolgen [1, 2]. Anhand des HbA1c-Wertes lässt sich die mittlere Blutglukosekonzentration der vergangenen zwei bis drei Monate abschätzen. Zur Vermeidung von Fehldiagnosen sollten sowohl der Wechsel der Bestimmungsmethode als auch des Labors vermieden werden und eine Methode verwendet werden, die durch das *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP) zertifiziert und gemäß dem *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) standardisiert ist [2]. Bei Verwendung des HbA1c-Wertes als Indikator für einen Diabetes mellitus sollte zudem berücksichtigt werden, dass sowohl die Überlebensdauer der Erythrozyten als auch weitere Faktoren wie z.B. das Alter und der ethnische Hintergrund die HbA1c-Werte beeinflussen können [1].

Zur Abschätzung des Prädiabetes (Vorstufe des Typ-2-Diabetes) dienen weitere diagnostische Parameter wie die erhöhte Nüchtern-Blutglukose (IFG: *impaired fasting glucose*) sowie die gestörte Glukosetoleranz (IGT: *impaired glucose tolerance*) (Tabelle 1). Eine erhöhte Nüchtern-Blutglukose liegt bei Nüchtern-Blutglukosewerten zwischen 100 und 125 mg/dl (5,6-6,9 mmol/l) vor. 2-h-Blutglukosewerte aus dem oGTT zwischen 140 und 199 mg/dl (7,8–11,0 mmol/l) sprechen für eine gestörte Glukosetoleranz. Die Erfüllung eines der beiden Kriterien, IFG oder IGT, reicht nach derzeitiger Definition aus, um von einem Prädiabetes sprechen zu können. Menschen, die eine erhöhte Nüchtern-Blutglukose und/oder eine gestörte Glukosetoleranz aufweisen, zeigen ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung eines Diabetes und/oder von kardiovaskulären Erkrankungen [2].

1.1.3 Prävalenz des Typ-2-Diabetes

Die Internationale Diabetes-Föderation (IDF) veröffentlichte in der aktuellen Auflage des Diabetes-Atlas, dass im Jahre 2017 ungefähr 425 Millionen Erwachsene im Alter von 20 bis 79 Jahren weltweit von Diabetes betroffen waren. Aktuelle Hochrechnungen der IDF gehen davon aus, dass bis 2045 etwa 629 Millionen Personen einen Diabetes haben werden. Dies entspricht einem Anstieg von 48%. Schätzungen zufolge sind die höchsten Anstiege an Diabeteserkrankungen mit 84% bis 156% für Afrika, den Mittleren Osten sowie Südost-Asien zu erwarten. In Süd- und Mittelamerika wird die Zahl der erkrankten Menschen um 62% und in Nordamerika und der Karibik um 35% steigen. Die niedrigsten Anstiege mit 15% beziehungsweise 16% wurden für den Westpazifik beziehungsweise für Europa berechnet [4]. Diese globale Entwicklung lässt sich überwiegend auf ein stetiges Bevölkerungswachstum, steigende Lebenserwartung, Änderungen der Diagnosekriterien sowie auf eine kontinuierliche Urbanisierung zurückführen. Die Urbanisierung hängt mit Veränderungen der Lebensbedingungen zusammen, die wiederum die Ausbildung von Übergewicht und Adipositas begünstigen [5, 6]. Im Jahre 2017 lebten zwei Drittel der Menschen mit Diabetes in urbanen Gebieten [4].

Für Europa hat die IDF die Diabeteserkrankten in der Altersgruppe von 20 bis 79 Jahren auf insgesamt 58 Millionen geschätzt. Diese Schätzung schließt eine Dunkelziffer an nicht diagnostizierten Diabetesfällen von ca. 22 Millionen ein.

Darüber hinaus berichtete die IDF in ihrem aktuellen Atlas, dass es in Deutschland unter den 20- bis 79-Jährigen etwa 7,5 Millionen Diabetesfälle im Jahr 2017 gab. Dies entspricht einer Prävalenz von ca. 12,2%. Aktuelle Prognosen der IDF berechnen für das Jahr 2045 einen geringfügigen Rückgang auf 7,3 Millionen Diabetespatienten in Deutschland. Bezugnehmend auf alle anderen europäischen Länder, für welche Daten vorliegen, ist der Anteil der Diabeteserkrankten mit 8,5 Millionen somit nur in Russland höher. Im internationalen Vergleich wurden für acht Länder höhere Anzahlen an Diabeteserkrankten ermittelt [4].

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde allerdings basierend auf den Daten von 65 Millionen gesetzlich Krankenversicherten und unter Berücksichtigung der Entwicklung der Altersstruktur prognostiziert, dass die Zahl von Personen mit Typ-2-Diabetes in Deutschland von 6,9 Millionen aus dem Jahre 2015 auf 8,3 Millionen im Jahre 2040 ansteigen wird. Weitere Hochrechnungen, in denen zusätzliche Faktoren wie u.a. eine zu erwartende verringerte Mortalitätsrate einbezogen wurden, deuteten sogar eine Zunahme an Personen mit Typ-2-Diabetes von 10,7 Millionen (+54%) bis 12,3 Millionen (+77%) für den Zeitraum von 2015 bis 2040 an [7].

In Bezug auf die diabetesbedingte Exzessmortalität liefert eine Studie aus dem Jahre 2017 Daten für Deutschland. Hierfür wurden sowohl die Daten zur Prävalenz des Typ-2-Diabetes anhand von Routinedaten von 64,9 Millionen gesetzlich Krankenversicherten (DIMDI [Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information]) als auch Daten zum alters- und geschlechtsspezifischen Verhältnis der Mortalitätsrate von Personen mit und ohne Diabetes aus dem dänischen nationalen Diabetesregister verwendet. Für das Jahr 2010 wurde ermittelt, dass sich deutschlandweit 21% der gesamten Todesfälle aufgrund von Diabetes ereigneten. Von diesen Sterbefällen ließen sich 137.950 Todesfälle dem Typ-2-Diabetes zuschreiben, was wiederum einem Anteil von 16% der gesamten Todesfälle entspricht [8]. Eine weitere Studie aus dem Jahr 2018 führte für eine Bevölkerungsgruppe im Alter von 65 bis 90 Jahren Schätzungen zur geschlechtsspezifischen Mortalitätsrate durch. Anhand von publizierten Daten über die Prävalenz und Inzidenz des Typ-2-Diabetes sowie unter Zuhilfenahme von Mortalitätsdaten in der Allgemeinbevölkerung des Statistischen Bundesamtes wurde die geschlechtsspezifische Sterberate für Personen mit Typ-2-Diabetes im Vergleich für Personen ohne Diabetes berechnet. Hierbei ergaben sich *Hazard Ratios* (HRs) für Männer von 2,3 und für Frauen von 3,0. Das diabetesbedingte Sterberisiko reduzierte sich sowohl für Männer als auch für Frauen mit steigendem Alter. Bei Männern sanken die HRs von 2,8 in der Altersgruppe von 65 bis 69 Jahren auf 1,6 in der Altersgruppe von 85 bis 90 Jahren. Mit HRs von 4,2 wurde die höchste Mortalitätsrate für Frauen im Alter von 65 bis 69 Jahren ermittelt [9].

In Bezug auf die Gesundheitskosten zeigte sich, dass diese für Personen mit Typ-2-Diabetes um das 1,7-fache höher liegen als für Personen ohne Diabeteserkrankung. Die Gesundheitsausgaben für die medizinische Versorgung von Personen mit Typ-2-Diabetes in Deutschland beliefen sich Schätzungen zufolge insgesamt auf 10% (16,1 Milliarden €) [10].

1.1.4 Risikofaktoren des Typ-2-Diabetes

An der Entstehung eines Typ-2-Diabetes können verschiedene nicht-modifizierbare (z.B. Alter, Gene und ethnischer Hintergrund) und modifizierbare (z.B. Adipositas, Lebensstil- und Umweltfaktoren) Risikofaktoren beteiligt sein [11].

Alter

Die Prävalenz einer gestörten Glukosetoleranz sowie eines Typ-2-Diabetes steigt mit zunehmendem Alter an [4, 12-14]. Im Jahre 2010 wurde die höchste Zahl an Diabeteserkrankungen noch in der Altersgruppe von 40 bis 59 Jahren ermittelt [14]. Allerdings werden die Diabetesfälle Schätzungen zufolge insbesondere in der Altersgruppe von 60 bis 79 Jahren in den nächsten Jahrzehnten ansteigen [4, 14].

Es wurden Assoziationen zwischen hohem Alter, Abfall der Insulinsensitivität sowie reduzierter Betazellfunktion beschrieben [12, 15]. Zudem ist der Alterungsprozess mit einem Abfall der Proliferationskapazität von Betazellen sowie erhöhter Sensitivität für Apoptose verbunden [16,17]. Allerdings kann das zunehmende Alter nicht als alleinige Ursache für die erhöhte Diabetesprävalenz angesehen werden. Vielmehr tragen Bewegungsmangel, zentrale Adipositas sowie eine reduzierte Mitochondrienfunktion zu der Entstehung der Insulinresistenz sowie eines Typ-2-Diabetes bei [3, 18].

Ethnizität/Gene

Die ethnische Zugehörigkeit ist ein weiterer nicht beeinflussbarer Risikofaktor. Einige ethnische Gruppen wie z.B. Afroamerikaner, Asiaten oder Hispanier weisen im Vergleich zu Personen mit europäischer Abstammung eine höhere Prädisposition für Typ-2-Diabetes auf [19].

Zwillings- und Familienstudien zeigen, dass die genetische Prädisposition eine wichtige Rolle in der Entstehung einer gestörten Glukosetoleranz sowie eines Typ-2-Diabetes einnimmt. Das Diabetesrisiko für Nachkommen eines Elternteils mit Diabetes und für Geschwisterkinder von Personen mit Diabetes ist im Vergleich zu Personen ohne positive Familienanamnese erhöht. Hierbei steigt das Diabetesrisiko mit der Anzahl der erkrankten Familienmitglieder ersten Grades [20]. Monozygote Zwillinge weisen deutlich höhere Konkordanzraten für die Entstehung einer gestörten Glukosetoleranz [21] oder eines Typ-2-Diabetes [22, 23] als dizygoten Zwillinge auf.

Mit Hilfe von genomweiten Assoziationsstudien wurde deutlich, dass zahlreiche Gene die Entwicklung eines Typ-2-Diabetes beeinflussen. Bisher wurden mehr als 400 Genregionen, die zur Erkrankung beitragen, identifiziert. Allerdings lassen sich nur maximal 20% der Erbllichkeit von Diabetes durch diese Suszeptibilitätsloci erklären [24].

Eine Vielzahl dieser Risikoregionen ist mit einer gestörten Betazellfunktion assoziiert [25, 26], und lediglich wenige dieser Genloci werden mit einer gestörten Insulinsensitivität oder Adipositas in Verbindung gebracht [27]. Als einer der wichtigsten Genloci wird *TCF7L2* (*transcription factor 7-like 2*) beschrieben. Diesbezüglich wurden Assoziationen zwischen Polymorphismen und Typ-2-Diabetes in unterschiedlichen ethnischen Bevölkerungsgruppen gezeigt. Als potenzielle Mechanismen, die zur *TCF7L2*-vermittelten Pathogenese des Typ-2-Diabetes beitragen, werden u.a. genetische Mutationen, die Beteiligung des Wnt (*Wingless-type MMTV integration site family*)-Signalweges sowie die Regulation der Funktion sowie der Sekretion der Betazellen diskutiert [20, 28].

Adipositas

Übergewicht und Adipositas zählen zu den relevantesten modifizierbaren Risikofaktoren für die Entwicklung des Typ-2-Diabetes [3]. Laut WHO waren im Jahre 2016 weltweit mehr als 1,9 Milliarden Menschen (39% der Gesamtbevölkerung) im Alter von mindestens 18 Jahren übergewichtig und mehr als 650 Millionen (13% der Gesamtbevölkerung) waren von Adipositas betroffen [29]. Die Gewichtsklassifikation erfolgt hierbei anhand des Körpermasseindex (*body mass index* [BMI]). Gemäß der Klassifikation der WHO liegen die Werte von normalgewichtigen Personen zwischen 18,5 kg/m² und 24,9 kg/m². Werte von ≥ 25 kg/m² beziehungsweise ≥ 30 kg/m² definieren das Übergewicht beziehungsweise die Adipositas [30]. Der Entstehung von Übergewicht bzw. Adipositas liegt eine langfristig positive Energiebilanz zugrunde, welche sich aus einem Ungleichgewicht zwischen Energieaufnahme und Energieverbrauch ergibt [29]. Eine Gewichtsabnahme lässt sich mittels Steigerung des Energieverbrauches und/oder Reduktion der Energiezufuhr erzielen [29] und geht wiederum mit einer verringerten Inzidenz des Typ-2-Diabetes einher [31]. Ein Lebensstil, der durch ausreichend körperliche Bewegung gekennzeichnet ist, senkt das Diabetesrisiko um 30-50% [32]. Zudem ist bereits hinreichend bekannt, dass der übermäßige Verzehr bestimmter Lebensmittel wie z.B. von rotem und verarbeitetem Fleisch, gezuckerten Getränken sowie von Nahrungsmitteln mit einem hohen Gehalt an gesättigten Fettsäuren das Diabetesrisiko erhöhen. Zu den risikosenkenden Lebensmitteln zählen hingegen Kaffee, grünblättriges Gemüse sowie ballaststoffreiche Nahrungsmittel wie Hülsenfrüchte, Nüsse und Vollkornprodukte [33-36].

In einer Vielzahl von prospektiven, randomisiert-kontrollierten Studien wurde aufgezeigt, dass sich der Krankheitsverlauf zum Typ-2-Diabetes mittels Ernährungsumstellungen und/oder körperlicher Aktivität bei Personen mit pathologischer Glukosetoleranz verbessern lässt [37-43].

In der weltweit ersten Interventionsstudie zur Prävention des Typ-2-Diabetes, der Da Qing Diabetes-Präventionsstudie in China, konnte nach einer Nachbeobachtungszeit von 6 Jahren das Diabetesrisiko in Risikopersonen um 31% nach diätischer Intervention, um 46% nach körperlicher Aktivität und um 42% nach sowohl diätischer Intervention als auch körperlicher Aktivität reduziert werden [37].

Weitere Präventionsstudien in den USA [38], Finnland [39] und Indien [40] konnten ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Lebensstiländerung und Reduktion der Diabetes-Pathogenese nachweisen. Die Inzidenz des Typ-2-Diabetes ließ sich je nach Intervention um 28,5-58% verringern [37-40]. Nachanalysen zeigten zudem, dass der Effekt der Lebensstiländerung auch nach Beendigung der Interventionsphase partiell erhalten blieb [41-43].

Weitere modifizierbare Faktoren

Psychosozialer Stress, Depressionen sowie die Schlafdauer wurden als weitere lebensstilbedingte Faktoren, die das Risiko für die Entstehung eines Typ-2-Diabetes beeinflussen, identifiziert [44-48].

Zudem ist bekannt, dass der sozioökonomische Status eng mit dem Diabetesrisiko zusammenhängt. Personen mit niedrigem sozioökonomischem Status (definiert über Einkommen, Bildung und beruflichen Status) weisen ein erhöhtes Risiko auf, an Typ-2-Diabetes zu erkranken [48-50]. Weiterhin wurde festgestellt, dass soziodemographische Risikofaktoren ebenso für die Entstehung eines Typ-2-Diabetes von Bedeutung sind. Demnach weisen Bewohner in benachteiligten Regionen eine höhere Wahrscheinlichkeit auf, an Diabetes zu erkranken. Faktoren wie schlechte Infrastruktur und hohe Arbeitslosigkeit kennzeichnen benachteiligte Regionen [49, 51, 52]. Eine erhöhte Luftverschmutzung, Lärmbelastung sowie fehlende Freizeitmöglichkeiten werden ebenfalls in Verbindung mit Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes gebracht [50, 53].

Weitere modifizierbare Risikofaktoren, die sich auf die Prävalenz des Typ-2-Diabetes auswirken, sind das Rauchen sowie die Einnahme bestimmter Medikamente wie Glukokortikoide, atypische Antipsychotika und Thiaziddiuretika [3, 54]. Zudem liegt Evidenz vor, dass sowohl ein niedriges als auch ein hohes Geburtsgewicht die Entstehung eines Typ-2-Diabetes begünstigen können [55].

1.1.5 Pathogenese des Typ-2-Diabetes

Bei einem gesunden Stoffwechsel können die Verwertung und die Produktion von Glukose sowohl in der postprandialen als auch der postabsorptiven Phase entsprechend reguliert werden, um den Glukosespiegel rasch in den Normbereich zu bringen. Im Verlauf einer Diabeteserkrankung kommt es allerdings aufgrund einer unzureichenden Insulinwirkung und/oder einer gestörten Insulinsekretion zu einem erhöhten Glukosespiegel im Blut. Diese Störung der Glukosehomöostase und damit die Erkrankung des Typ-2-Diabetes manifestieren sich jedoch nicht zu Beginn der Erkrankung.

In der ersten Phase der Erkrankung, die als Prädiabetes bezeichnet wird, kann die Bauchspeicheldrüse die Insulinresistenz mittels erhöhter Insulinproduktion sowie Insulinsekretion ausgleichen. Das Anfangsstadium zeichnet sich demnach durch einen deutlich höheren Insulinspiegel aus, welcher jedoch die Glukosewerte konstant hält.

In den darauffolgenden Jahren nimmt die Insulinfreigabe durch die insulinproduzierenden Betazellen der Bauchspeicheldrüse kontinuierlich ab, bis sich die verringerte Insulinsensitivität endgültig nicht weiter kompensieren lässt. Die daraus resultierende Hyperglykämie ist somit charakteristisch für die Manifestation des Typ-2-Diabetes (Abbildung 1) [56].

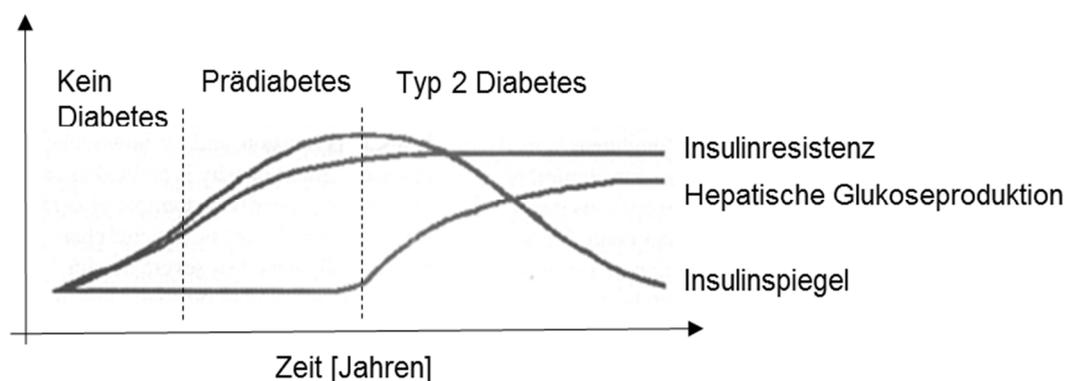


Abbildung 1: Entwicklung des Typ-2-Diabetes (reproduziert und modifiziert nach [56]).

Wie bereits in Kapitel 1.1.4 beschrieben, spielen Risikofaktoren wie z.B. Über- bzw. Fehlernährung, Bewegungsmangel oder eine genetische Prädisposition eine entscheidende Rolle in der Entstehung eines Typ-2-Diabetes. Eine dauerhaft erhöhte Nährstoffkonzentration führt sowohl zu erhöhten Glukosekonzentrationen (Glukotoxizität) als auch zu erhöhten Plasmakonzentrationen an freien Fettsäuren und/oder einer Akkumulation an Triglyzeriden (Lipotoxizität) [57].

Chronische Expositionen gegenüber erhöhten Glukose- und Fettsäurekonzentrationen verursachen aufgrund erhöhter Triglyzeridablagerungen eine Hyperplasie (Vergrößerung) der Fettzellen. Diese vergrößerten und damit weniger insulinempfindlichen Fettzellen weisen wiederum ein verändertes Sekretionsprofil auf und begünstigen die Infiltration von Makrophagen [58-60]. Die Sekretionsprodukte von Adipozyten und Makrophagen wie MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*), Tumornekrosefaktor (TNF)- α und Interleukin (IL)-1 β verursachen einen pro-inflammatorischen Zustand [59, 60]. Dieser Adipositas-assoziierte Konzentrationsanstieg an Immunmediatoren (subklinische Inflammation) wird im Zusammenhang mit dem Fettgewebe in Kapitel 1.3 ausführlich diskutiert. Diese pro-inflammatorischen Zytokine vermitteln eine erhöhte Lipolyse im Fettgewebe, die sich letztendlich in einer erhöhten Konzentration an zirkulierenden, freien Fettsäuren und einer vermehrten ektopischen Fettansammlung abzeichnet [59, 60]. Über die Aktivierung von Serin/Threonin-Kinasen wie Proteinkinase C (PKC) θ sowie den NF κ B (*nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells*)-Signalweg beeinträchtigen erhöhte Plasmakonzentrationen an zirkulierenden Fettsäuren oder Lipidablagerungen in Skelettmuskelzellen (intramyozelluläre Lipide) den Insulinsignalweg und hemmen somit die Glukoseaufnahme im Muskel [59-62].

Basierend auf der „*Twin Cycle*“-Hypothese zur Ätiologie des Typ-2-Diabetes von Roy Taylor et al. wurde postuliert, dass eine bestehende Insulinresistenz im Muskel, die durch genetische Faktoren, körperliche Inaktivität oder wie bereits erwähnt durch eine chronische positive Energiebalance oder ein Überangebot an gesättigten Fettsäuren verursacht werden kann, die Entwicklung einer Fettleber unter chronischem Kalorienüberschuss begünstigt [63].

Die Fettsäureakkumulation in der Leber geht unter anderem über die Aktivierung der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase sowie der Glukose-6-Phosphatase mit einer erhöhten hepatischen Glukoseproduktion [60, 63, 64] einher. Diese überschüssig in der Leber gespeicherten Lipide (intrahepatozelluläre Lipide) korrelieren wiederum in hohen Konzentrationen negativ mit der hepatischen Insulinempfindlichkeit [60]. Die Insulinsignaltransduktion in der Leber wird über ähnliche Mechanismen wie im Skelettmuskel (d.h. z.B. über Aktivierung von PKC-Isoformen) gehemmt, wodurch es schließlich zur Fettsäure-induzierten Insulinresistenz in der Leber kommt [60, 64]. Darüber hinaus führt der Überschuss an Fett in der Leber zu einem vermehrten Transport von VLDL (*very low-density lipoprotein*)-Triglyzeriden, wobei insbesondere die Pankreasinseln eine erhöhte Suszeptibilität gegenüber der Akkumulation von Triglyzeriden aufweisen [63, 65]. Es wurden negative Assoziationen zwischen dem Fettgehalt im Pankreas und verschiedenen Parametern der Betazellfunktion beschrieben [66], und über Jahre hinweg verursacht ein Überschuss an Pankreasfett den Funktionsverlust sowie die Entdifferenzierung der Betazellen [63, 65].

Die postprandiale Hyperglykämie ruft eine erhöhte und verlängerte Insulinausschüttung hervor und stimuliert die *de novo* Lipogenese [63, 65]. Die längerfristige Exposition der Betazellen gegenüber erhöhten, freien Fettsäuren hemmt die Glukose-stimulierte Insulinsekretion und löst apoptotische Prozesse aus [67, 68]. In diesem Zusammenhang wurde zellulärer Stress im endoplasmatischen Retikulum (ER-Stress) als ein möglicher Mechanismus beschrieben, der zur Fettsäure-induzierten Betazell dysfunktion sowie zum Betazelltod beiträgt [69]. Es wurde ebenfalls beschrieben, dass Adipositas oder eine fettreiche Ernährung zur Induktion von verschiedenen ER-Stress assoziierten Veränderungen wie die Phosphorylierung der *protein kinase R (PKR)-like endoplasmic reticulum kinase* (PERK) sowie der *alpha subunit of eukaryotic translation initiation factor 2* (eIF2 α) in der Leber und im Fettgewebe führt und ER-Stress die Insulinwirkung in Leberzellen hemmt [70]. Darüber hinaus wird die Ausbildung einer mitochondrialen Dysfunktion als weiterer Mechanismus beschrieben, der die Pathogenese der Insulinresistenz und der Betazell dysfunktion begünstigt [71, 72]. Eine mitochondriale Dysfunktion zeichnet sich insbesondere durch eine reduzierte Substratoxidation und folglich durch eine Akkumulation von Stoffwechselprodukten wie Diacylglycerine (DAG), Ceramide (CER) und Acyl-Coenzym A (CoA) aus [71]. Für diese metabolisch aktiven Zwischenprodukte ist bekannt, dass sie die Insulinwirkung sowohl im Muskel als auch in der Leber hemmen [73]. Neben den Effekten auf die Insulinsensitivität in insulinsensitiven Geweben hemmt eine mitochondriale Dysfunktion aufgrund einer verringerten mitochondrialen Adenosin triphosphat (ATP)-Produktion die Insulinsekretion der Betazellen und trägt somit zur Verschlechterung des diabetischen Zustandes bei [72, 74].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine bereits entwickelte Insulinresistenz im Muskel das erste Kennzeichen für die Entwicklung eines Typ-2-Diabetes widerspiegelt und die Interaktion zwischen Muskel, Leber, Fettgewebe und Pankreas eine zentrale Rolle in der Insulinwirkung im Körper einnimmt. Das Vorherrschen einer Insulinresistenz im Muskel bestimmt die Geschwindigkeit, mit der eine Fettleber fortschreitet und Fettablagerungen außerhalb des Fettgewebes liegen der hepatischen Insulinresistenz sowie der Betazell dysfunktion zugrunde [63].

Untersuchungen der longitudinalen Whitehall II-Studie aus England unterstützen den Zusammenhang zwischen Insulinsensitivität, Betazellfunktion und Pathogenese des Typ-2-Diabetes in einem mehrstufigen Prozess. Studienteilnehmer, die einen Diabetes entwickelten, zeigten bereits dreizehn Jahre vor der Diabetesdiagnose eine verringerte Insulinsensitivität und somit eine erhöhte Insulinsekretion. Während der letzten fünf Jahre kam es zu einer rapiden Verschlechterung der Insulinsensitivität und einem raschen Anstieg des Glukosespiegels drei bis sechs Jahre vor der Diagnose des Typ-2-Diabetes. In Bezug auf den Glukosespiegel konnte zunächst ein Anstieg der 2-h-Glukosewerte sechs Jahre vor Diagnose beobachtet werden.

In den darauffolgenden zwei Jahren stiegen die Konzentrationen der 2-h-Glukose zunächst nicht weiter an und erst drei Jahre vor Diabetesmanifestation konnte ein zweiter, rascher Anstieg der 2-h-Glukosewerte vermerkt werden. Hinsichtlich des Anstiegs der Nüchtern-Glukosewerte konnte hingegen ein linearer Trend für die ersten zehn Jahre beobachtet werden und der rasche Anstieg erfolgte erst drei Jahre vor Diabetesdiagnose. Auf den Anstieg der Betazellfunktion drei bis vier Jahre vor der Diagnosestellung folgte ein rapider Abfall der Betazellfunktion in den inzidenten Fällen [75].

1.1.6 Prävention und Behandlung des Typ-2-Diabetes

Wie bereits in Kapitel 1.1.4 diskutiert, lässt sich eine Reduktion der Diabetes-Inzidenz durch Lebensstilveränderungen wie diätische Interventionen und/oder Bewegungsprogramme erzielen [37-40]. Sollten die Maßnahmen der Lebensstilumstellung zur Senkung des Blutglukosespiegels nicht ausreichen, ist zudem eine erfolgreiche Prävention des Diabetes durch eine medikamentöse Intervention (z.B. mit Metformin) möglich [38]. Tabelle 2 fasst die verschiedenen oralen Antidiabetika und das jeweilige Wirkungsprinzip zusammen. Diese Diabetesmedikamente lassen sich einteilen in Arzneimittel mit und ohne Wirkung auf die Insulinausschüttung durch die Betazellen der Bauchspeicheldrüse.

Tabelle 2: Wirkungsweise von oralen Antidiabetika.

| Antidiabetikum | Wirkungsweise | Referenz |
|---|---|----------|
| Ohne Wirkung auf die Insulinsekretion durch die Betazellen | | |
| Biguanide (Metformin) | Verminderung der hepatischen ATP-Synthese durch Hemmung des Mitochondrien-Komplexes I → Reduzierung der Glukoneogenese sowie der Nüchtern-Plasmaglukosewerte | [76] |
| Thiazolidindione (Glitazone) | PPAR- γ Aktivierung → Transkription spezifischer Gene, die in den Glukose- und Lipidstoffwechsel eingreifen → Verbesserung der Insulinsensitivität von Muskel, Leber und Fettgewebe → gesteigerte Fettsäure- und Glukoseutilisation → verminderte endogene Glukoseproduktion | [76, 77] |
| Gliflozine (SGLT-2 Hemmer) | SGLT-2 Hemmung verstärkt Glykosurie → insulinunabhängige Senkung der Plasmaglukosewerte | [78] |

Fortsetzung Tabelle 2: Wirkungsweise von oralen Antidiabetika.

| Antidiabetikum | Wirkungsweise | Referenz |
|--|--|----------|
| Alpha-Glukosidase Hemmer | Alpha-Glukosidase Hemmung verlangsamt den Abbau von Kohlenhydraten → Verzögerung der Glukosefreisetzung ins Blut | [79] |
| Mit Wirkung auf die Insulinsekretion durch die Betazellen | | |
| Sulfonylharnstoffe | Hemmung der zellulären Freisetzung von Kalium → Depolarisierung und Calciumeinstrom → Zunahme der Insulin-Exozytose | [80] |
| Gliptine (DPP-4 Hemmer) | DDP-4 Hemmung verlängert die Halbwertszeit des Inkretins GLP-1 → Erhöhung der glukoseabhängigen Insulinsekretion → Unterdrückung der hepatischen Glukoseproduktion über Hemmung der Glukagonbildung in den Alphazellen | [81] |
| Glinide | Ähnliches Wirkungsprofil wie Sulfonylharnstoffe: Hemmung des ATP-abhängigen Kaliumkanals → Depolarisierung und Calciumeinstrom → Freisetzung von Insulin aus den Betazellen | [82] |

ATP: Adenosintriphosphat; DDP: Dipeptidylpeptidase; GLP: *Glucagon-like peptide*; PPAR: Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor; SGLT: Natrium-Glukose-Co-Transporter.

1.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Kardiovaskuläre Erkrankungen (engl. *cardiovascular diseases* [CVD]) umfassen Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems und stellen weltweit die häufigste Ursache für Morbidität und Mortalität dar [83]. Im Jahre 2016 starben weltweit 17,9 Millionen Menschen an den Folgen der kardiovaskulären Erkrankungen, was 31% der Todesfälle weltweit entspricht [84]. Aktuelle Prognosen erwarten, dass bis zum Jahr 2030 die jährliche Mortalität an Herz-Kreislauf-Erkrankungen auf 22,2 Millionen ansteigen wird [85]. Die Pathogenese und Progression der Atherosklerose gilt als Hauptursache für die Ausbildung von kardiovaskulären Erkrankungen. Atherosklerose beschreibt eine sich entwickelnde Krankheit, die durch eine Ansammlung von Lipiden sowie fibrösem Gewebe in der inneren Schicht der Arterienwand (Intima) gekennzeichnet ist [83, 86].

Kardiovaskuläre Begleiterkrankungen umfassen sowohl mikrovaskuläre als auch makrovaskuläre Komplikationen. Die mikrovaskulären Komplikationen schließen die Retinopathie (Augenerkrankung), Nephropathie (Nierenerkrankung) sowie die Neuropathie (Erkrankung des peripheren Nervensystems) ein. Neben der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit zählen die koronare Herzkrankheit (KHK) sowie zerebrovaskuläre Erkrankungen zu den makrovaskulären Erkrankungen [83, 87].

In der vorliegenden Arbeit wurden Assoziationen zu koronaren Herzkrankheiten (Myokardinfarkt sowie plötzlicher Herztod) sowie zerebrovaskulären Erkrankungen (Schlaganfall) untersucht, so dass diese makrovaskulären Komorbiditäten hier zunächst kurz dargestellt werden. Hierbei wird kurz auf die Prävalenz, die Ausprägungsformen, einige Risikofaktoren sowie die Pathogenese Bezug genommen. In einem weiteren Unterkapitel wird Diabetes mellitus separat als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen diskutiert.

1.2.1 Koronare Herzkrankheit

Koronare Herzkrankheiten zählen zu den Hauptausprägungsformen der kardiovaskulären Erkrankungen und sind für die meisten kardiovaskulären Todesfälle verantwortlich. Im Jahre 2008 starben weltweit insgesamt 17,3 Millionen Menschen aufgrund von kardiovaskulären Erkrankungen, wobei 7,3 Millionen der Todesfälle auf koronare Herzkrankheiten zurückzuführen waren [83]. Mit ungefähr 3,8 Millionen Todesfällen sterben jährlich weltweit mehr Männer als Frauen an den Folgen der koronaren Herzkrankheit [88].

Koronare Herzkrankheiten umfassen chronische Erkrankungen des Herzens, die durch atherosklerotisch bedingte Verengungen (Stenosen) der Herzkranzgefäße (Koronararterien) verursacht werden. Folglich kommt es zur Minderperfusion des Herzmuskels (Myokard), was wiederum mit einer Imbalance zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot einhergeht [89]. Zu den klinischen Ausprägungsformen der KHK zählen u.a. die stabile sowie instabile Angina pectoris, der Myokardinfarkt (Herzinfarkt) sowie plötzlicher Herztod [90, 91].

Neben diversen nicht-modifizierbaren Risikofaktoren wie u.a. Alter, Geschlecht, Ethnizität und Familienanamnese wurden anhand von epidemiologischen Studien, insbesondere der Framingham-Studie, die im Jahre 1948 startete, erstmals zahlreiche modifizierbare Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen identifiziert [92, 93]. Hierbei wurden ein hoher Cholesterinspiegel und ein hoher Blutdruck als erste wichtige Risikofaktoren beschrieben [93]. Klinische Studien zeigten, dass durch die Verabreichung von LDL (*low-density lipoprotein*)-Cholesterin senkenden Medikamenten sowohl die Inzidenz von koronaren Herzkrankheiten als auch die Mortalität reduziert werden konnten [93]. In klinischen Untersuchungen senkte die Verabreichung von ACE (*Angiotensin Converting Enzyme*)-Inhibitoren als blutdrucksenkendes Medikament das KHK-Risiko ebenfalls um 20% [94]. Zudem wurden Assoziationen zwischen Adipositas und klassischen Risikofaktoren für KHK wie Hypertonie und Dyslipidämie beschrieben. Interventionen zur Gewichtsabnahme sowie Bewegungsprogramme stellen eine effiziente Methode dar, um einige Risikofaktoren für KHK positiv zu beeinflussen [95].

Rauchen zählt zu einem weiteren vermeidbaren Risikofaktor für kardiovaskuläre Morbidität sowie Mortalität. Studien legten dar, dass Raucher ein zwei- bis vierfach erhöhtes Risiko für KHK aufweisen [96]. Zusätzlich scheint das Passivrauchen mit einem geringen, aber signifikanten Anstieg des Risikos für KHK assoziiert zu sein [97, 98]. Psychosoziale Faktoren werden ebenfalls in Zusammenhang mit KHK gebracht. Untersuchungen innerhalb der INTERHEART-Studie fanden eine Assoziation zwischen der Entstehung eines Myokardinfarkts und psychosozialen Faktoren wie u.a. der Jobbelastung, finanzieller Belastung oder Depressionen [99].

KHK werden überwiegend aufgrund von Atherosklerose hervorgerufen. Die Pathogenese der Atherosklerose beginnt vermutlich mit einer endothelialen Dysfunktion und dem Anstieg an Makrophagen sowie der vermehrten Bildung von lipidhaltigen Makrophagen (Schaumzellen) in der Intima [100-102]. Diese als initialen Läsionen bezeichneten Veränderungen sind zunächst klinisch unauffällig, schreiten jedoch weiter fort und werden erstmals in Form von Fettstreifen („*fatty streaks*“) makroskopisch sichtbar. Diese Schichten an Makrophagen-Schaumzellen führen zur Rekrutierung von glatten Muskelzellen in die Intima. Durch Proliferation und Produktion von extrazellulären Lipiden bildet sich atheromatöses Plaque (Atherome). Diese Läsionen gehen mit einer Desorganisation sowie Verdickung der Intima, Deformität der Gefäßwand und häufig mit Komplikationen wie z.B. Fissuren, Hämatomen oder Thrombosen einher [101, 102].

Thrombosen können wiederum zur Bildung von Blutgerinnseln (Thromben) führen, welche schließlich einen Gefäßverschluss hervorrufen und somit vaskuläre Krankheitsbilder wie den Myokardinfarkt, den plötzlichen Herztod oder den ischämischen Schlaganfall auslösen können [102, 103]. Zur Ausbildung von Thromben ist allerdings zunächst das Fortschreiten des Gewebeumbaus erforderlich, indem neues fibröses Bindegewebe in Form einer Kappe (fibröse Kappe) über einem Lipidkern (dichte Akkumulation von extrazellulären Lipiden) gebildet wird. Durch eine zunehmende Verdünnung dieser fibrösen Kappe kann es zur Plaqueruptur kommen, welche wiederum durch Ausschüttung des thrombogenen Materials ins Blut die Ausbildung eines Gefäßthrombus verursachen kann. Neben den erwähnten Plaquerupturen kann sich ein Thrombus weniger häufig auch in Folge von Plaqueeerosionen bilden [103].

1.2.2 Zerebrovaskuläre Erkrankungen

Unter die zerebrovaskulären Erkrankungen fallen Krankheiten wie transitorische ischämische Attacke oder Schlaganfall. Diese Erkrankungen führen zu Beeinträchtigungen der Blutgefäße des Gehirns [83, 90, 91] und stellen die zweithäufigste Todesursache dar. Im Jahre 2008 ließen sich von den 17,3 Millionen kardiovaskulären Todesfällen 6,2 Millionen auf Schlaganfälle zurückführen [83]. Bei einem Schlaganfall wird hauptsächlich zwischen einem ischämischen Schlaganfall oder einem hämorrhagischen Schlaganfall unterschieden. 80% der zerebrovaskulären Erkrankungen gehen auf ischämische Schlaganfälle zurück [104]. Zahlreiche nicht-modifizierbare sowie modifizierbare Risikofaktoren für zerebrovaskuläre Erkrankungen sind identisch mit Faktoren, die ebenfalls das Risiko für das Auftreten von koronaren Herzkrankheiten erhöhen. Demnach erhöht sich die Inzidenz eines Schlaganfalls mit zunehmendem Alter sowie bei positiver Familienanamnese. In Bezug auf die modifizierbaren Risikofaktoren wurde hoher Blutdruck als einer der wichtigsten Risikofaktoren für die Entstehung von zerebrovaskulären Erkrankungen identifiziert [105]. Entsprechend führte die medikamentöse Behandlung der Hypertonie mit Hilfe von ACE-Inhibitoren oder Calcium-Antagonisten zu einer 30- bis 39-prozentigen Risikoreduktion für Schlaganfälle [94]. Weitere Faktoren, die das Risiko erhöhen einen Schlaganfall zu erleiden, stellen Adipositas [106], Nikotinabusus [107] sowie Bewegungsmangel [108] dar.

Für die Pathogenese eines ischämischen Schlaganfalls sowie eines hämorrhagischen Schlaganfalls spielt ebenfalls die Atherosklerose eine entscheidende Rolle. Wie bereits in Abschnitt 1.2.1 beschrieben, ist die Ausbildung von atherosklerotischen Plaques ursächlich für die Pathogenese von ischämischen Prozessen wie einem Myokardinfarkt oder einem ischämischen Schlaganfall. Diese stabilen Plaques können zu vulnerablen Plaques umgeformt werden, rupturieren und folglich Blutgefäße verstopfen. Diese Verstopfung der Blutgefäße führt zu einer Sauerstoffunterversorgung sowie zum Absterben der Zellen, die durch diese Blutgefäße versorgt werden [103, 109].

Bei einem hämorrhagischen Schlaganfall kommt es zum Einriss eines Blutgefäßes und folglich zur Bildung eines Hämatoms (Blutergusses) im Gehirn [110]. Diese Hämatome stellen ebenfalls Komplikationen dar, die aufgrund von atherosklerotischen Läsionen auftreten können (siehe Kapitel 1.2.1) [101, 102].

1.2.3 Kardiovaskuläre Begleiterkrankungen bei Diabetes mellitus

Kardiovaskuläre Erkrankungen gelten als Hauptursache für Morbidität und Mortalität in Personen mit Typ-2-Diabetes [111]. Die Manifestation eines Typ-2-Diabetes erhöht unabhängig von weiteren kardiovaskulären Risikofaktoren das Mortalitätsrisiko [112, 113]. Verglichen mit Personen ohne Diabetes steigt das Risiko, kardiovaskuläre Erkrankungen zu entwickeln, um das Zwei- bis Dreifache in Männern mit Typ-2-Diabetes und um das Drei- bis Fünffache in Frauen mit Typ-2-Diabetes an [114]. Zu den häufigsten kardiovaskulären Begleiterkrankungen des Diabetes zählen Schädigungen der kleinen Blutgefäße (Mikroangiopathie) und pathologische Veränderungen größerer Gefäße (Makroangiopathie). Zu den wesentlichen Krankheitsbildern der diabetischen Mikroangiopathie zählen die diabetische Retinopathie, Nephropathie und Neuropathie. Als makrovaskuläre Komplikationen können die periphere arterielle Verschlusskrankheit, koronare Herzkrankheit und zerebrovaskuläre Erkrankungen infolge der Diabeteserkrankung auftreten [111, 114, 115]. Zahlreiche epidemiologische Studien beschreiben insbesondere ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung einer koronaren Herzkrankheit [116-118] sowie eines Schlaganfalls [118-120]. Eine Meta-Analyse, in der mehr als 530.000 Personen aus 102 prospektiven Studien herangezogen wurden, fand positive Assoziationen zwischen Diabetes und dem Risiko für KHK. Für Personen mit Diabetes betrug das relative Risiko und die Konfidenzintervalle (95% KI) 2,00 (1,83-2,19) nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, BMI, Rauchverhalten und systolischen Blutdruck. Hierbei wurden höhere HRs für Frauen als für Männer sowie für Nichtraucher als für Raucher ermittelt. Darüber hinaus waren die Assoziationen ausgeprägter für Personen mit einem BMI zwischen 23,8 kg/m² und <27 kg/m² als für Personen mit einem BMI von <23,8 kg/m² oder ≥27 kg/m² sowie für Personen im Alter von 40 bis 59 Jahren als für Personen höheren Alters. Diese Assoziationen waren unabhängig von der Non-HDL (*High-density lipoprotein*)-Cholesterin, HDL-Cholesterin und Triglyzerid-Konzentration, da sich nach Adjustierung für diese metabolischen Faktoren die HRs für KHK nicht wesentlich änderten. In der gleichen Studie erhöhte die Diabetesdiagnose ebenfalls das Risiko für einen Schlaganfall. Für Personen mit Diabetes lagen die HRs (95% KI) bei 2,27 (1,95-2,65) für einen ischämischen Schlaganfall, 1,56 (1,19-2,05) für einen hämorrhagischen Schlaganfall und 1,84 (1,59-2,13) für einen nicht klassifizierten Schlaganfall nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, BMI, Rauchverhalten und systolischen Blutdruck. Die Assoziationen zwischen Diabetes und dem Risiko, einen ischämischen Schlaganfall auszubilden, waren stärker in Frauen, in Personen im Alter von 40 bis 59 Jahren sowie in Personen mit einem BMI ≥27 kg/m² ausgeprägt. Die HRs für einen ischämischen Schlaganfall blieben ebenfalls nahezu unverändert nach weiterer Adjustierung für Lipide. Im Gegensatz zu den ausgeprägten Assoziationen zwischen Diabetes und vaskulären Ereignissen zeigten sich schwächere Assoziationen zwischen den Nüchtern-Glukosewerten und dem Risiko für KHK und Schlaganfall.

Verglichen mit Personen ohne Diabetes und Nüchtern-Glukosekonzentrationen von 3,9 bis <5,6 mmol/l betragen die HRs für KHK (95% KI) für Personen mit aufsteigenden Nüchtern-Glukosekonzentrationen (5,6 bis <6,1 mmol/l; 6,1 bis <7 mmol/l und ≥ 7 mmol/l) 1,11 (1,04-1,18); 1,17 (1,08-1,26) und 1,78 (1,56-2,03). Die Diabetesmanifestation führte allerdings zu einem weiteren Risikoanstieg für die Ausbildung von KHK. Verglichen mit der gleichen Referenzgruppe (Personen ohne Diabetes und Nüchtern-Glukosewerten von 3,9 bis <5,6 mmol/l) stieg das Risiko für KHK in Personen mit Diabeteserkrankung und Nüchtern-Glukosewerten von <7 mmol/l (HR [95% KI] 1,61 [1,42-1,82]) und Personen mit Diabeteserkrankung und Nüchtern-Glukosewerten von ≥ 7 mmol/l (HR [95% KI] 2,36 [2,02-2,76]) deutlich an [118].

Es ist bereits hinreichend bekannt, dass der diabetische Zustand häufig mit Begleiterkrankungen wie Hypertonie, Dyslipidämie und Adipositas einhergeht [111, 117, 121]. Wie bereits in Kapitel 1.2.1 und 1.2.2 dargelegt, tragen diese Faktoren zu einem erhöhten kardiovaskulären Risiko bei. Allerdings stellen Hypertonie, Dyslipidämie und Adipositas kardiometabolische Erkrankungen dar, so dass diese Faktoren nicht nur mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko, sondern ebenfalls mit einem höheren Diabetesrisiko assoziiert sind [3, 32, 111, 117, 121].

Die Tatsache, dass sich zahlreiche Risikofaktoren von Typ-2-Diabetes und kardiovaskulären Erkrankungen überschneiden, stärkt die von Stern eingeführte „*Common-soil*“-Hypothese. Anhand dieser Hypothese wurde bereits im Jahre 1996 von Stern aufgezeigt, dass makrovaskuläre Erkrankungen der Entstehung eines Diabetes vorausgehen können und die Pathogenese von Diabetes und Arteriosklerose auf gemeinsame genetische und umweltbedingte Faktoren zurückgeführt werden kann. Demnach wurde postuliert, dass ungünstige Umweltbedingungen wie eine suboptimale frühkindliche Ernährung ursächlich für pathologische Veränderungen wie viszerale Adipositas und Insulin-Resistenz-Syndrom sind, welche wiederum Diabetes und kardiovaskuläre Erkrankungen begünstigen können. Unter dem Begriff des Insulin-Resistenz-Syndroms wurden bereits damals mehrere Risikofaktoren wie z.B. Dyslipidämie und Hypertonie zusammengefasst [122]. In der Folgezeit wurde der Begriff des metabolischen Syndroms (MetS) geprägt, und gemäß der IDF-Definition aus dem Jahre 2005 liegt ein metabolisches Syndrom vor, wenn neben der zentralen Adipositas noch mindestens zwei der nachfolgend genannten Faktoren nachgewiesen werden können. Zu diesen Faktoren zählen u.a. ein erhöhter Triglyzerid-Spiegel ($\geq 1,7$ mmol/l [150 mg/dl]), reduzierte HDL-Cholesterinwerte (<1,03 mmol/l [40 mg/dl] in Männern und <1,29 mmol/l [50 mg/dl] in Frauen), erhöhter Blutdruck (systolischer Blutdruck ≥ 130 mmHg oder diastolischer Blutdruck ≥ 85 mmHg) oder Hyperglykämie (Nüchtern-Plasmaglukosewerte $\geq 5,6$ mmol/l [100 mg/dl]).

Zwar ist die Pathogenese des metabolischen Syndroms nicht vollständig aufgeklärt, allerdings gelten Insulinresistenz und viszerale Adipositas als zentrale Auslöser des metabolischen Syndroms [123]. Zahlreiche Studien zeigten bereits, dass sich bei der Diagnose eines metabolischen Syndroms sowohl das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen [124, 125] als auch das Diabetesrisiko [125, 126] erhöhen. Diese Ergebnisse liefern weitere Hinweise darauf, dass Diabetes und Arteriosklerose Parallelen in der Pathogenese aufweisen.

1.3 Adipokine und Inflammation

Das Fettgewebe wurde ursprünglich als stoffwechselträges Gewebe beschrieben, das lediglich als Speicher von Triglyzeriden, mechanischer Schutz sowie Wärmeisolator fungiert. Mit der Entdeckung des Adipokins Leptin im Jahre 1994 wurde allerdings deutlich, dass das Fettgewebe durch die Sekretion von zahlreichen metabolisch aktiven Peptidhormonen ein hoch dynamisches, endokrines Organ darstellt [127]. Fain et al. definierten sämtliche Substanzen, die vom Fettgewebe freigesetzt werden, als Adipokine [128], und anhand von Proteomanalysen wurden bereits mehr als 600 potenzielle Adipokine identifiziert [129]. Diese Sekretionsprodukte können sowohl auto-, para- als auch endokrin wirken, wodurch sie u.a. die Insulinsensitivität, den Lipid- und Glukosemetabolismus oder Prozesse wie Appetit und Energiebalance regulieren (Abbildung 2) [127, 130].

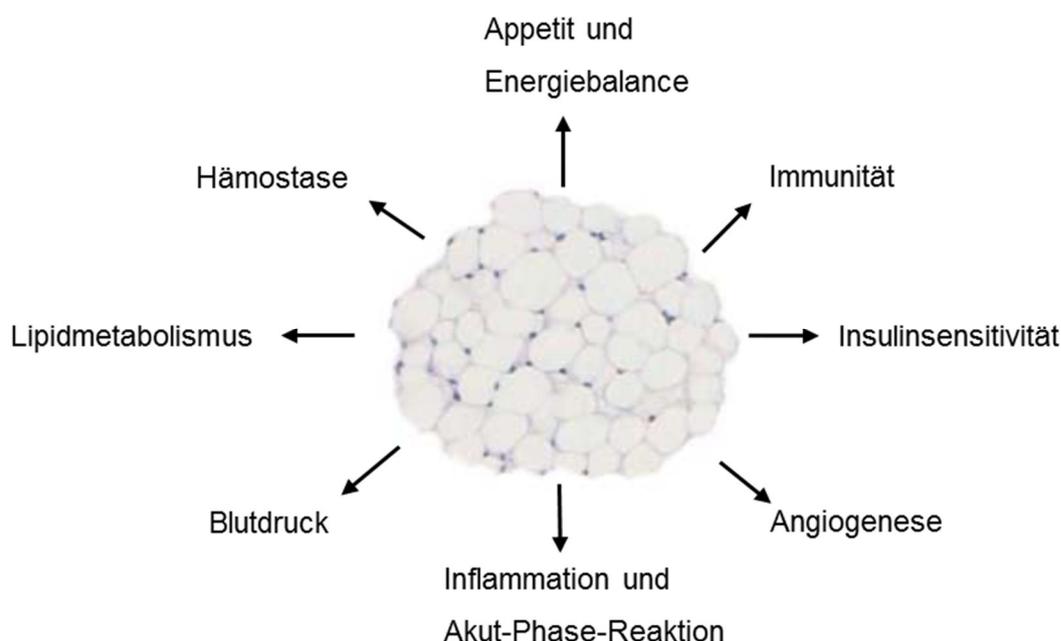


Abbildung 2: Prozesse, die durch Adipokine reguliert werden (reproduziert und modifiziert nach [127]).

Die in die Zirkulation sekretierten Adipokine stellen wichtige Regulatoren für die Interaktion zwischen den Geweben dar. Zahlreiche *in vitro*-Studien legten bereits dar, dass die von Adipozyten sekretierten Produkte die Stoffwechselfunktion von verschiedenen peripheren Geweben wie z.B. der Leber und dem Muskel beeinflussen [131-134]. In einer Studie führte die Behandlung von Skelettmuskelzellen mit konditioniertem Medium, welches mit Hilfe von Adipozyten generiert wurde, zur Hemmung des Insulinsignalweges [134].

Aufgrund der enormen Reichweite, mit der Adipokine verschiedenste Prozesse in unterschiedlichen Geweben regulieren, stellen Adipokinmessungen darüber hinaus eine klinisch relevante Methode dar, um u.a. die Funktion des Fettgewebes und somit das Risiko für die Pathogenese von Adipositas-assoziierten Komorbiditäten zu beurteilen. Der Großteil der bisher entdeckten Adipokine wie z.B. TNF α oder IL-6 weist pro-inflammatorische Wirkungen auf [130, 135]. TNF α inhibiert sowohl die Insulinsignalkaskade in insulinempfindlichen Geweben wie dem Fettgewebe und dem Muskel als auch die Insulinsekretion [135, 136]. Darüber hinaus hemmt TNF α die Lipoproteinlipase und stimuliert die Lipolyse in Adipozyten. Demnach wird angenommen, dass TNF α u.a. über die gesteigerte Freisetzung von nicht-esterifizierten Fettsäuren die Entstehung einer Insulinresistenz fördert [137]. Durch die Stimulation von HepG2 Zellen, primären Hepatozyten sowie 3T3-L1 Adipozyten mit rekombinanten IL-6 konnte gezeigt werden, dass IL-6 ebenfalls die Insulinwirkung sowie den Insulinweg negativ beeinflusst [138, 139]. Adiponektin gehört zu den bisher am besten untersuchten Adipokinen [130, 140]. Adiponektin wirkt anti-inflammatorisch, anti-apoptotisch und insulinempfindlich in zahlreichen Zelltypen [140]. Zudem zeigt Adiponektin anti-atherogene Effekte und stimuliert die Insulinsekretion der Betazellen durch gesteigerte Exozytose und gesteigerte Genexpression von Insulin [135, 140, 141].

Aufgrund der begrenzten Anzahl an Daten sowie kontroversen Befunde zählt Omentin hingegen zu den weniger gut erforschten Adipokinen. Im Rahmen dieser Arbeit liegt daher das Hauptaugenmerk auf diesem Adipokin, so dass die Datenlage zu Omentin in Kapitel 1.4 detailliert dargestellt wird.

Zahlreiche Studien legten bereits dar, dass insbesondere die Konzentrationen von Markern der Inflammation wie TNF α und IL-6 im adipösen Gewebe erhöht sind [137, 142]. Darüber hinaus wurden auch höhere Konzentrationen von IL-6 und TNF α in Personen mit Typ-2-Diabetes [143, 144] und kardiovaskulären Erkrankungen [145-147] im Vergleich zu gesunden Personen beschrieben. In zahlreichen Studien stellt IL-6 einen unabhängigen Risikofaktor für Typ-2-Diabetes dar [143, 148, 149]. In der MONICA (*Multinational MONItoring of trends and determinants in Cardiovascular disease*)/KORA (Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg) Augsburg Fall-Kohorten-Studie wurden nach multivariabler Adjustierung für Alter, Survey, Lebensstilfaktoren, anthropometrische und metabolische Faktoren sowie elterlichem Diabetes HRs (95% KI) für aufsteigende Tertile von IL-6 von 1,0; 1,22 (0,83-1,80) und 1,58 (1,09-2,30) für Männer und 1,0; 1,39 (0,81-2,37) und 2,08 (1,23-3,51) für Frauen ermittelt [149]. Darüber hinaus konnte bereits gut belegt werden, dass erhöhte Plasmakonzentrationen von IL-6 mit einem erhöhten Risiko für die Ausbildung von KHK wie u.a. eines Myokardinfarkts sowie kardiovaskulärer Mortalität assoziiert sind [145-147, 150-152].

In einer Meta-Analyse aus 17 prospektiven Studien wurden für einen Anstieg der IL-6-Konzentrationen um eine Standardabweichung ein kombiniertes Chancenverhältnis (OR: *Odds Ratio*) und Konfidenzintervalle (95% KI) von 1,26 (1,19-1,35) ermittelt [151].

Zahlreiche epidemiologische Studien untersuchten ebenfalls die Rolle von Adiponektin für die Pathogenese des Typ-2-Diabetes und seinen Begleiterkrankungen. Adiponektin zählt zu den wenigen Adipokinen, dessen Plasmakonzentrationen in adipösen Personen sowie Studienteilnehmern mit Typ-2-Diabetes oder kardiovaskulären Erkrankungen erniedrigt sind [153-157]. In einer prospektiven Fall-Kohorten-Studie innerhalb der EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*)-Potsdam Kohorte, in der 563 Personen eingeschlossen wurden, waren höhere Adiponektin-Konzentrationen mit einem niedrigeren Risiko für Typ-2-Diabetes verbunden (OR für das höchste vs. das niedrigste Quartil: 0,3 [95% KI, 0,2-0,7]) [158]. Diese Daten lassen sich durch Untersuchungen innerhalb der *Cardiovascular Health*-Studie [159], Daten der bevölkerungsbasierten MONICA/KORA Augsburg Fall-Kohorten-Studie [160] sowie durch eine Meta-Analyse von 13 prospektiven Studien [161] bestätigen.

In Bezug auf Assoziationen zwischen Adiponektin und dem kardiovaskulären Risiko liefern epidemiologische Studien hingegen kontroverse Befunde. Eine prospektive Fall-Kohorten-Studie zeigte stark ausgeprägte inverse Beziehungen zwischen den Adiponektin-Spiegeln und der Inzidenz von koronaren Herzkrankheiten in gesunden Männern [162]. Weitere Studien fanden hingegen weniger starke Assoziationen [163], keine derartigen signifikanten Zusammenhänge [164, 165] oder sogar positive Assoziationen zwischen den Adiponektin-Konzentrationen und dem Risiko für koronare Herzkrankheiten in älteren Personen [166], Personen mit kardiovaskulären Vorerkrankungen [167] oder Studienteilnehmern mit Typ-2-Diabetes [168]. Darüber hinaus wurden in einigen Studien positive Assoziationen zwischen den Adiponektin-Konzentrationen und der kardiovaskulären Sterblichkeit und der Gesamtmortalität beschrieben [169-173]. Diese Beziehungen wurden insbesondere in Personengruppen mit bestimmten Vorerkrankungen wie Niereninsuffizienz [169], stabile und instabile Angina pectoris oder Nicht-ST-Hebungsinfarkt [167, 170], Herzinsuffizienz [171, 172] oder in Menschen höheren Alters [173] beobachtet.

Die dargestellten epidemiologischen Befunde lassen erkennen, dass die subklinische Inflammation, die im Folgenden kurz definiert wird, eine zentrale Rolle in der Entwicklung des Typ-2-Diabetes und von kardiovaskulären Erkrankungen einnimmt. Es wurde beschrieben, dass ein chronisches Überangebot an Nährstoffen und die daraus resultierende Adipositas eine subklinische Inflammation auslöst [130, 174, 175]. Dieser durch Adipositas induzierte inflammatorische Zustand unterscheidet sich jedoch von der klassischen Inflammation [175].

Die klassische Inflammation stellt eine adaptive, kurzzeitige Reaktion auf schädliche Reize, Infektionen oder Gewebeschädigungen dar, um die Stimuli zu beseitigen und das geschädigte Gewebe wiederherzustellen. Dieser inflammatorische Zustand manifestiert sich in einer transienten Erhöhung von Immunmediatoren [174-177] und wird von klassischen Entzündungszeichen wie Rötung, Schwellung, Wärme, Schmerz und funktioneller Einschränkung begleitet [176]. Die subklinische Inflammation zeichnet sich hingegen durch einen chronischen und geringfügigen Anstieg von Immunmediatoren im Blut ohne klinische Symptomatik aus [175].

Die Adipositas-vermittelte subklinische Inflammation wird u.a. über die Aktivierung von verschiedenen pro-inflammatorischen Kinasen wie JNK (*c-Jun amino-terminal kinase*), IKK (*inhibitor of kappa-B kinase*) und PKR induziert. Im adipösen Zustand wird zudem eine Induktion des Inflammasoms sowie von *Toll-like* Rezeptoren beschrieben [175]. Allerdings besteht das Fettgewebe nicht nur aus differenzierten reifen Fettzellen, sondern es weist eine stromal-vaskuläre Fraktion (SVF) auf, die ein Gemisch aus verschiedenen Zellarten wie u.a. Präadipozyten, Fibroblasten, Immunzellen und Endothelzellen enthält. Durch Adipositas verändert sich jedoch dieses Erscheinungsbild, da es zu einer verstärkten Infiltration von Makrophagen in das Fettgewebe kommt [178, 179]. Diese verstärkte Infiltration wird begleitet von einer Verschiebung der Makrophagenpolarisation zugunsten der „klassisch aktivierten“ (M1) Makrophagen. Im Gegensatz zu den „alternativ aktivierten“ (M2) Makrophagen zeigen M1-Makrophagen einen pro-inflammatorischen Phänotyp, der sich durch die verstärkte Produktion von pro-inflammatorischen Mediatoren wie z.B. TNF α und IL-6 auszeichnet [175, 180]. Im adipösen Zustand tragen zusätzlich die vermehrte Infiltration von Mastzellen sowie verschiedenen T-Zellpopulationen zum inflammatorischen Zustand bei [175]. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass im adipösen Zustand intrazelluläre Veränderungen wie u.a. die Aktivierung pro-inflammatorischer Kinasen und Transkriptionsfaktoren sowie die verstärkte Infiltration von M1-Makrophagen und anderer Immunzellen die subklinische Inflammation über den Konzentrationsanstieg pro-inflammatorischer Immunmediatoren wie IL-1 β oder TNF α [175, 180] im Blut hervorrufen. Allerdings beruht die subklinische Inflammation nicht nur auf einer Immunaktivierung des Fettgewebes und manifestiert sich somit nicht lediglich in einem veränderten pro-inflammatorischen, diabetogenen oder atherogenen Adipokinmuster, sondern führt ebenso zu inflammatorischen Veränderungen in anderen metabolischen Geweben wie u.a. der Leber [175].

Messungen inflammatorischer Biomarker dienen aber nicht nur zur Vorhersage von kardiovaskulären Erkrankungen und/oder eines Typ-2-Diabetes.

Vielmehr konnte durch eine große Interventionsstudie, die CANTOS (*Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study*)-Studie gezeigt werden, dass sich eine Inflammationsreduktion zur Therapie von kardiovaskulären Erkrankungen eignen könnte. Demnach untersuchte die CANTOS-Studie erstmalig, ob sich durch Eingreifen in die Entzündungskaskade die Entstehung von primären Endpunkten (d.h. von erneuten, kardiovaskulären Ereignissen) wie Myokardinfarkt, Schlaganfall oder kardiovaskulärem Tod bei Personen, die bereits einen Myokardinfarkt erlitten hatten, reduzieren lässt. Hierbei führte die Verabreichung eines Antikörpers, der an das pro-inflammatorische Zytokin IL-1 β bindet und somit den Signalweg unterhalb des IL-1-Rezeptors inhibiert, zu einer 15-prozentigen Risikoreduktion für wiederkehrende kardiovaskuläre Ereignisse. Die Inzidenzrate für den primären Endpunkt lag mit 3,86 pro 100 Personenjahre in der Medikamentengruppe niedriger als für die Kontrollgruppe ohne Behandlung (4,50 pro 100 Personenjahre) [181]. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass die Inhibition von IL-1 β die Plasmakonzentrationen von IL-6 sowie CRP (C-reaktives Protein) ohne weitere Effekte auf die LDL- und HDL-Cholesterinkonzentrationen senkte [181, 182]. Es ist hinreichend bekannt, dass erhöhte Konzentrationen des Akut-Phase-Proteins CRP mit einem erhöhten Risiko für KHK [145, 183-186] sowie einem höheren Schlaganfall-Risiko [145, 184-187] assoziiert sind. In einer Studie betragen die relativen Risiken (95% KI) für einen ischämischen Schlaganfall für die Quartile mit ansteigender CRP-Serumkonzentration 1,0; 1,7 (0,9-2,9); 1,9 (1,1-3,2) und 1,9 (1,1-3,3) [184]. In einer weiteren Studie war ein Anstieg der log_e CRP-Konzentration um eine Standardabweichung mit einem erhöhten Risiko für ischämischen Schlaganfall verbunden (RR [95% KI] im alters- und geschlechtsadjustierten Modell 1,44 [1,32-1,57] und 1,27 [1,15-1,40] nach Adjustierung für weitere konventionellen Risikofaktoren) [185]. Die protektiven Effekte der anti-inflammatorischen Therapie auf die Inzidenz von kardiovaskulären Erkrankungen, kardiovaskulärem Tod sowie die Gesamtmortalität waren höher in der Personengruppe, die niedrigere CRP-Konzentrationen aufgrund der Behandlung erzielen konnte [188]. Die Inhibition von IL-1 β als Prävention von atherosklerotischen Ereignissen wird u.a. darauf zurückgeführt, dass IL-1 β als pro-inflammatorisches Zytokin die Adhäsion von Monozyten sowie Leukozyten an die Endothelzellen sowie die Proliferation der vaskulären glatten Muskelzellen begünstigt. Diese Prozesse fördern wiederum die Entwicklung von pathologischen Ablagerungen an den Blutgefäßen (Plaque). Zudem wurde beschrieben, dass IL-1 β den IL-6-Signalweg aktiviert, welcher in Zusammenhang mit der Entstehung von Atherothrombose gebracht wird [181].

Entsprechend konnte in Apolipoprotein E-defizienten (ApoE-KO) Mäusen gezeigt werden, dass eine IL-1 β -Defizienz zu einer verringerten Expression des Adhäsionsmoleküls VCAM (*vascular cell adhesion molecule*)-1 sowie zu einer Reduktion der atherosklerotischen Läsionen führt [189].

1.4 Omentin

1.4.1 Struktur und Expression von Omentin

Omentin ist ein kürzlich identifiziertes Adipokin, für welches zwei hochgradig homologe Isoformen (Omentin-1 und Omentin-2) mit einer Aminosäuresequenz-Identität von 83% bekannt sind. Im humanen Plasma zirkuliert vorwiegend Omentin-1, und das sezernierte Protein weist ein Molekulargewicht von ungefähr 38 kDa (313 Aminosäuren) auf [190, 191]. Die in dieser Arbeit referierten Daten beziehen sich auf Omentin-1.

Omentin wurde zunächst unter den Namen Intelectin-1 [192], HL-1 [193] und Lactoferrinrezeptor [194] geführt und als calciumabhängiges Fetthormon beschrieben, das an die Galactofuranose-Einheiten der Kohlenhydratketten der bakteriellen Zellwand bindet. Demnach wurde diesem Hormon ursprünglich eine Rolle im Abwehrmechanismus gegen Pathogene zugeschrieben [192, 195]. Die Expression von Omentin wurde zunächst in intestinalen Paneth-Zellen [196] und Endothelzellen nachgewiesen [193]. Im Jahre 2006 wurde mittels Fraktionierung des omentalen und subkutanen Fettgewebes in Adipozyten und Zellen der SVF erstmals gezeigt, dass Omentin ebenso von den stromal-vaskulären Zellen des omentalen Fettgewebes exprimiert und sezerniert wird [197]. Abgesehen von den Endothelzellen gibt es bisher keinen Nachweis dafür, dass Omentin auch von den anderen Zelltypen der SVF exprimiert wird. Allerdings wird Omentin nicht von Adipozyten und kaum im subkutanen Fettgewebe produziert [197]. Darüber hinaus konnte eine Expression von Omentin in anderen Geweben wie z.B. der Lunge, dem Herzen, der Plazenta oder dem Darm nachgewiesen werden [191, 195, 197].

In den folgenden Kapiteln (1.4.2 bis 1.4.5) werden sowohl Ergebnisse aus epidemiologischen Studien als auch zellulären Untersuchungen sowie Tiermodellen zusammengefasst, um die Rolle von Omentin in der Pathogenese des Typ-2-Diabetes sowie von kardiovaskulären Erkrankungen zu erläutern.

1.4.2 Omentin und Typ-2-Diabetes

In einigen Studien ließen sich Omentin-Konzentrationen von 100 bis 800 ng/ml in humanem Serum messen [190, 195, 198, 199] und teilweise wurden verminderte Serumkonzentrationen in übergewichtigen und adipösen Personen im Vergleich zu Normalgewichtigen beschrieben [190, 195, 198, 200, 201]. Darüber hinaus wurde in mehreren Studien dargelegt, dass die Konzentrationen dieses Adipokins bei Menschen mit Insulinresistenz oder Typ-2-Diabetes niedriger sind als bei stoffwechselgesunden Personen [195, 200-203]. Eine Gewichtsreduktion führte zu einer Erhöhung der zirkulierenden Omentin-Konzentrationen und einer Verbesserung der Insulinsensitivität [204]. In Abhängigkeit des Studiendesigns werden gegensätzliche Assoziationen zwischen Omentin und der Diabetes-Pathogenese beschrieben. Einige Querschnittsstudien berichteten, dass die Omentin-Spiegel in inverser Assoziation zur

Insulinresistenz standen [190, 195, 200, 201, 205, 206]. In einer bevölkerungsbasierten Querschnittsanalyse, der KORA F4-Studie, konnte für die Serumspiegel von Omentin nicht nur eine positive Korrelation mit der Insulinsensitivität, sondern ebenfalls mit den Serumspiegeln des anti-inflammatorischen Adipokins Adiponektin aufgezeigt werden [207]. Hohe Adiponektin-Konzentrationen sind wiederum mit einem niedrigeren Risiko für Typ-2-Diabetes assoziiert [208].

Diese Assoziationen lassen sich allerdings nicht durch die derzeitig verfügbaren Ergebnisse aus prospektiven Studien bestätigen. Untersuchungen innerhalb der EPIC-Potsdam Kohorte legten dar, dass die Omentin-Spiegel zwar in positiver Beziehung zur HDL-Cholesterinkonzentration standen und invers mit dem BMI korrelierten, allerdings waren höhere Omentin-Konzentrationen positiv mit der Entstehung eines Typ-2-Diabetes assoziiert [209].

Zusammenfassend fanden Querschnittsstudien zwar inverse Assoziationen zwischen Omentin und der Diabetes-Inzidenz, allerdings beschreiben prospektive Analysen, dass höhere Serumkonzentrationen mit einem steigenden Diabetesrisiko assoziiert sind. Prospektive Untersuchungen zur Relevanz von Omentin für inzidenten Typ-2-Diabetes wurden bisher lediglich in einer Studie innerhalb der EPIC-Potsdam Kohorte publiziert. Die kontroverse Datenlage in Bezug auf die Befunde aus Querschnittsstudien ließ sich anhand der EPIC-Potsdam-Studie allerdings nicht eindeutig erklären, so dass die Analysen des ersten Manuskriptes darauf abzielten, die Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und Veränderungen von glykämischen Parametern sowie inzidentem Typ-2-Diabetes im Rahmen der KORA F4/FF4-Studie zu untersuchen.

1.4.3 Omentin und kardiovaskuläre Erkrankungen

Aufgrund der kontroversen Datenlage aus Querschnittsstudien und prospektiven Untersuchungen ist ebenfalls unklar, inwiefern sich kardiovaskuläre Ereignisse anhand der Omentin-Spiegel vorhersagen lassen. Einige Querschnittsstudien berichteten, dass die Serumkonzentrationen von Omentin bei Personen mit kardiovaskulären Erkrankungen wie z.B. koronarer Herzkrankheit oder Schlaganfall erniedrigt sind [195, 210-214]. In zahlreichen Studien korrelierten die Omentin-Spiegel invers mit verschiedenen kardiovaskulären Risikofaktoren wie z.B. BMI, Taillenumfang oder Parametern für Insulinresistenz [190, 207, 215]. Zudem zeigte Omentin eine inverse Assoziation zu kardiometabolischen Parametern wie z.B. zu der Intima-Media Dicke der Halsschlagader in Patienten mit MetS [216] sowie in stoffwechselgesunden Probanden [199]. Eine weitere Studie deutete an, dass erniedrigte Omentin-Spiegel zur kardiovaskulären Dysfunktion in Personen mit Typ-2-Diabetes beitragen könnten [203]. Diese inversen Assoziationen konnten allerdings nicht in allen Studien gefunden werden [207, 210, 217-220].

Der Umfang an derzeitig verfügbaren prospektiven Studien, die diese Assoziation zwischen Omentin und der Inzidenz von kardiovaskulären Erkrankungen untersuchen, ist sehr begrenzt. Die Ergebnisse der Querschnittsstudien lassen sich lediglich durch eine prospektive Studie mit 136 Probanden mit Herzinsuffizienz bekräftigen. In dieser Analyse waren niedrigere Serumspiegel von Omentin mit höheren kardiovaskulären Endpunkten wie Herztod oder erneuter Krankenhauseinweisung assoziiert [221].

Weitere prospektive Untersuchungen legten allerdings dar, dass höhere Omentin-Konzentrationen mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen verbunden sind [195, 215, 220, 222]. Studiendaten aus der EPIC-Potsdam Kohorte zeigten, dass das Schlaganfall-Risiko mit höheren Omentin-Spiegeln ansteigt. Hierbei waren die Assoziationen stärker in metabolisch gesunden Personen (d.h. ohne MetS) oder Probanden, die einer niedrigeren Risikogruppe (d.h. z.B. mit niedrigem Taillenumfang, niedrigen Triglyzeridwerten oder hohen Adiponektinwerten) angehören, ausgeprägt [195, 215]. In einer weiteren Studie innerhalb der gleichen Kohorte wurde eine positive Korrelation zwischen Omentin-Spiegeln und dem Risiko, eine Herzinsuffizienz auszubilden, aufgezeigt [195, 222].

Zusammenfassend zeigen zwar die Daten aus den Querschnittsstudien inverse Assoziationen zwischen Omentin und dem kardiovaskulären Risiko, jedoch sind in nahezu allen prospektiven Untersuchungen höhere Omentin-Spiegel mit einem höheren Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert.

Die Untersuchungen des zweiten Manuskriptes wurden im Rahmen der ESTHER (Epidemiologische Studie zu Chancen der Verhütung, Früherkennung und optimierten Therapie chronischer Erkrankungen in der älteren Bevölkerung)-Kohorte durchgeführt, da bislang in keiner veröffentlichten Studie die Zusammenhänge zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und dem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen in Personen mit Typ-2-Diabetes dargelegt wurden.

1.4.4 Omentin in zellulären Studien

Omentin scheint in zahlreiche pathophysiologische Prozesse wie u.a. Adipositas, Insulinresistenz oder Entzündungsreaktionen einzugreifen. *In vitro* werden dem Adipokin diesbezüglich größtenteils protektive Eigenschaften zugeschrieben. Allerdings konnte bisher kein Rezeptor für Omentin identifiziert werden, so dass der präzise Wirkmechanismus derzeit nicht im Detail bekannt ist.

In Bezug auf die Insulinsensitivität deuten Ergebnisse einer Studie darauf hin, dass Omentin die Phosphorylierung der Proteinkinase B (Akt), einem Schlüsselprotein des Insulinsignalweges, in primären humanen Adipozyten erhöhen könnte. Diese Daten unterstützen die Untersuchungen aus Querschnittsstudien und deuten auf eine Verbesserung der Insulinsensitivität hin.

Darüber hinaus wurde in der gleichen Studie beschrieben, dass Omentin die Insulinwirkung reguliert, indem es *in vitro* abhängig von Insulin zu einer verstärkten Glukoseaufnahme in humanen Adipozyten führt [195, 197]. Diese Daten wurden bislang aber nicht von anderen Arbeitsgruppen repliziert.

Im Einklang mit den referierten Ergebnissen bezüglich der kardioprotektiven Wirkung in den Querschnittsstudien zeigten Studien auf zellulärer Ebene, dass sich Omentin aufgrund von anti-atherogenen und anti-inflammatorischen Effekten in humanen Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Makrophagen positiv auf die Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen auswirkt [195, 223-228]. Untersuchungen zu den Effekten von Omentin auf die Vasokonstriktion von aus der Ratte isolierten Blutgefäßen legten dar, dass Omentin über die Phosphorylierung der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) die Stickstoffmonoxid (NO)-Freisetzung aus dem Endothel induziert und somit die Gefäßerweiterung fördert [195, 223]. Darüber hinaus wurden eine Steigerung der Zelldifferenzierung sowie eine Reduktion der Apoptose von Endothelzellen durch die Omentin-vermittelte Aktivierung des Adenosin-Monophosphat-Kinase (AMPK)/eNOS-Signalweges beschrieben [195, 224]. Über den gleichen Signalweg wurde gezeigt, dass Omentin die über TNF α -induzierte Aktivierung der c-Jun N-terminalen Kinase (JNK) inhibiert, was wiederum mit einer hemmenden Wirkung auf die Expression der Cyclooxygenase (COX)-2 und letztendlich mit einer Suppression von inflammatorischen Prozessen einhergeht [195, 225]. Weitere Hinweise auf die anti-atherogenen Eigenschaften von Omentin lieferte eine weitere Studie in Endothelzellen. Hierbei konnte nach Omentin-Inkubation eine verminderte Expression der interzellulären und vaskulären Adhäsionsmoleküle ICAM (*intercellular adhesion molecule*)-1 und VCAM-1 und somit eine Unterdrückung der durch TNF α -induzierten Adhäsion von Monozyten an die Endothelzellen nachgewiesen werden. Diese Reduzierung der Adhäsionsmoleküle wurde durch die Suppression der „*extracellular-signal regulated kinase*“ (ERK) sowie des Transkriptionsfaktors NF κ B vermittelt [195, 226]. Untersuchungen zu inflammatorischen Signaltransduktionswegen in kultivierten Muskelzellen, die der Ratte entstammen, zeigten, dass Omentin über die Hemmung der TNF α -induzierten Expression von VCAM-1 anti-inflammatorisch wirkt. In diesem Zusammenhang wurde angedeutet, dass Omentin die TNF α -vermittelte Aktivierung des p38/JNK-Signalweges verhindert. Zudem führte eine Exposition der Muskelzellen gegenüber Omentin zu einer Inhibierung der TNF α -bedingten Monozyten-Adhäsion [195, 227].

Eine weitere Studie führte Untersuchungen zum Effekt von Omentin auf die kontraktile Funktion isolierter Kardiomyozyten durch. Hierbei löste konditioniertes Medium, welches mit Hilfe von epikardialem Fettgewebe von Patienten mit Typ-2-Diabetes generiert wurde, eine Kardiomyozyten-Dysfunktion aus. Diese Induktion der kontraktilen Dysfunktion in Kardiomyozyten ließ sich durch die Zugabe von Omentin *in vitro* aufheben.

In der gleichen Studie zeigte Omentin einen positiven Effekt auf die Insulinwirkung in Kardiomyozyten aus der Ratte, indem es eine Hemmung der insulinvermittelten Phosphorylierung der Proteinkinase B verhinderte. Diese Hemmung wurde wiederum zuvor durch freigesetzte Faktoren des konditionierten Mediums von Patienten mit Typ-2-Diabetes hervorgerufen [203]. Weitere *in vitro*-Studien in Kardiomyozyten unterstützten die positiven Einflüsse von Omentin auf das geschädigte Myokard. Omentin schwächte pathologische Prozesse wie u.a. die Entwicklung der Hypertrophie des Myokards ab [229, 230]. Zusammenfassend beschreiben die referierten *in vitro*-Studien Omentin als Adipokin mit einem kardioprotektiven Phänotyp.

1.4.5 Omentin in Tiermodellen

Studienergebnisse aus verschiedenen Mausmodellen bekräftigen sowohl die referierten Daten aus den Querschnittsstudien als auch den *in vitro*-Experimenten. In ApoE-defizienten Mäusen bewirkte die Überexpression von Omentin eine Reduktion von atherosklerotischen Läsionen in der Aorta. Darüber hinaus zeigte sich in den ApoE-defizienten Mäusen, die das humane Omentin-Gen tragen, eine verminderte Makrophagen-Akkumulation und eine reduzierte mRNA (*messenger ribonucleic acid*)-Expression von sowohl pro-inflammatorischen Proteinen wie z.B. IL-6, MCP-1 und TNF α als auch den Adhäsionsmolekülen ICAM-1 und VCAM-1 [195, 231]. Neben der Abschwächung von atherosklerotischen Gefäßveränderungen verminderte Omentin die Herzinfarktgröße und reduzierte Apoptose in einem Mausmodell des Myokardinfarkts. In diesem Zusammenhang wird postuliert, dass die verstärkte Aktivierung des AMPK/Akt-Signalweges die protektive Wirkung von Omentin auf Ischämie-bedingte Schäden vermittelt [195, 229]. In einer dritten Studie wurde nachgewiesen, dass unter pathologischen Bedingungen die Verabreichung von Omentin zu einer Verbesserung der hypertrophen Kardiomyopathie und interstitiellen Fibrose *in vivo* führt [195, 230]. Zusammenfassend stellen diese Studien positive Effekte von Omentin in der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen dar.

2. ZIELSETZUNG

Übergewicht und Adipositas stellen weltweit ein zunehmendes Gesundheitsproblem dar. Wie bereits in Kapitel 1.3 beschrieben, sekretiert das Fettgewebe als endokrines Organ eine Vielzahl an metabolisch aktiven Adipokinen. Unter Adipositas kommt es zur vermehrten Bildung und Freisetzung insbesondere pro-inflammatorischer Adipokine. Diese sekretierten Botenstoffe können wiederum in die Regulation von inflammatorischen und metabolischen Prozessen eingreifen und aufgrund eines Ungleichgewichtes von pro- und anti-inflammatorischen Proteinen die Pathogenese sowie die Progression diverser Adipositas-assoziiierter Erkrankungen wie Typ-2-Diabetes oder kardiovaskuläre Erkrankungen fördern. Im Gegensatz zu pro-inflammatorischen Adipokinen ist die Anzahl an bekannten anti-inflammatorischen Adipokinen begrenzt. Zudem ist von einem Großteil der anti-inflammatorischen Adipokine der genaue Wirkmechanismus nicht bekannt. Allerdings wird angedeutet, dass Adipokine zur Pharmakotherapie oder zur Früherkennung unterschiedlicher Stoffwechselerkrankungen eingesetzt werden könnten. Omentin stellt ein derartiges Adipokin dar, dem zunächst protektive Wirkungen zugeschrieben wurden. Allerdings sind die Relevanz von Omentin für die Inzidenz von Typ-2-Diabetes und kardiovaskulären Erkrankungen sowie der genaue Wirkmechanismus derzeit nicht eindeutig geklärt. Um diese Aspekte zu ergründen, wurden im Rahmen dieser Doktorarbeit die folgenden vier Forschungsziele formuliert und untersucht:

Forschungsziel 1: Bestimmung der Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und Veränderungen von glykämischen Parametern sowie der Inzidenz des Typ-2-Diabetes

In einigen Querschnittsstudien wurden positive Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und Adiponektin sowie inverse Korrelationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und einigen Risikofaktoren für Typ-2-Diabetes gefunden. Hingegen wurde die Relevanz der Omentin-Konzentration für die Diabetes-Inzidenz prospektiv bisher nur in einer Studie untersucht. Hierbei korrelierten die Omentin-Konzentrationen in Personen mit hohen Adiponektin-Werten positiv mit dem Diabetesrisiko. Allerdings konnte bislang nicht geklärt werden, in welchem Zusammenhang diese zwei Adipokine in Bezug auf die Diabetes-Inzidenz stehen. Aufgrund der unzureichenden sowie kontroversen Datenlage bestand daher das erste Ziel dieser Arbeit darin, in einer prospektiven Studie die Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und Adiponektin mit Veränderungen von glykämischen Parametern in nicht-diabetischen Personen zu untersuchen und zu vergleichen. Darüber hinaus sollten die Assoziationen sowohl zwischen Omentin als auch Adiponektin und der Inzidenz eines Typ-2-Diabetes charakterisiert werden.

Diese Untersuchungen basieren auf Studienteilnehmern der KORA F4- und KORA FF4-Studie.

Forschungsziel 2: Untersuchung der Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und der Inzidenz von kardiovaskulären Erkrankungen in Personen mit Typ-2-Diabetes

Die Bedeutung von Omentin für die Pathogenese von kardiovaskulären Erkrankungen ist ebenfalls nicht eindeutig geklärt. Abhängig vom gewählten Studiendesign ergeben sich diesbezüglich unterschiedliche Assoziationen. Zudem beziehen die verfügbaren prospektiven Studien bisher lediglich die Allgemeinbevölkerung oder Patienten mit bereits bestehenden kardiovaskulären Erkrankungen ein. Daten zu Assoziationen zwischen Omentin und dem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen in Personen mit Typ-2-Diabetes liegen hingegen derzeit nicht vor, obwohl Personen mit Diabetes bekanntermaßen ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen aufweisen. Aus diesem Grund beinhaltete das zweite Forschungsziel die Beurteilung der Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und der Inzidenz von kardiovaskulären Erkrankungen in Patienten mit Typ-2-Diabetes. Darüber hinaus wurde ermittelt, ob eine Abhängigkeit zu den Adiponektin-Konzentrationen besteht. Die ESTHER-Kohorte wurde für diese Untersuchungen ausgewählt.

Forschungsziel 3: Identifikation der inflammatorischen Wirkmechanismen, durch welche Omentin zelluläre Prozesse in Adipozyten reguliert

In den bisher verfügbaren *in vitro*-Daten wurde Omentin als Adipokin mit anti-inflammatorischen, anti-atherogenen sowie insulinsensitivierenden Wirkungen beschrieben. Auf zellulärer Ebene wurde der Einfluss von Omentin allerdings hauptsächlich in Endothelzellen, glatten Muskelzellen sowie Makrophagen untersucht. *In vitro*-Daten, die die Wirkungsweise von Omentin in Adipozyten beschreiben, sind derzeit kaum vorhanden. Für das dritte und vierte Manuskript wurden daher zelluläre Studien mit primären humanen Adipozyten durchgeführt. Das zentrale Ziel stellte hierbei die Charakterisierung der funktionellen Rolle von Omentin für die Inflammation sowie die Pathogenese des Typ-2-Diabetes und von kardiovaskulären Erkrankungen dar.

Im dritten Manuskript sollte zunächst der Effekt von Omentin auf die Sekretion und Expression von Inflammationsmarkern untersucht werden. Darüber hinaus sollten *in silico*-Analysen durchgeführt werden, um anhand der Identifikation von potenziellen *Upstream Regulatoren* erste Hinweise über die zugrundeliegenden Wirkmechanismen zu erhalten. Unter Berücksichtigung dieser *in silico*-Daten sollten die Signalwege, über welche die Omentin-induzierten Effekte vermittelt werden, auf zellulärer Ebene identifiziert werden.

Forschungsziel 4: Untersuchung des Einflusses von Omentin auf das Sekretom von primären humanen Adipozyten

Ergänzend zu den Daten des dritten Manuskriptes zielte das vierte Manuskript darauf ab, die Wirkmechanismen von Omentin über inflammatorische Prozesse hinaus weiter zu entschlüsseln. Mit Hilfe einer Proteomanalyse sollte zunächst das ganze Sekretom von primären humanen Adipozyten analysiert werden. Dadurch sollte die Identifizierung und Charakterisierung von möglichst allen Proteinen in diesem Zielgewebe erfolgen, um somit die Analysen zu der Omentin-vermittelten Freisetzung von Inflammationsmarkern aus dem dritten Manuskript zu erweitern. Die Möglichkeit, hierbei mehr als 3500 Proteine zu identifizieren, bildet zudem die Basis für die Identifizierung neuer Adipokine, die in Verbindung mit der Wirkungsweise von Omentin, dem Typ-2-Diabetes und/oder den Komorbiditäten stehen. Anschließend sollten mit Hilfe von *in silico*-Analysen sowohl potenzielle *Upstream Regulatoren* als auch Signalwege, in denen die Omentin-regulierten Proteine überrepräsentiert sind, identifiziert werden. Dadurch sollte erforscht werden, welche zellulären Veränderungen durch Omentin in Fettzellen hervorgerufen werden.

3. METHODIK

3.1 KORA F4/FF4-Studie zur Untersuchung der Assoziation zwischen Omentin und der Diabetes-Inzidenz

Epidemiologische Studien eignen sich grundsätzlich zur Bestimmung der Prävalenz, Inzidenz sowie Ursachen und Folgen von Krankheiten in Populationen. Es lassen sich Einfluss- oder Risikofaktoren wie z.B. Umweltfaktoren oder Verhaltensmerkmale ermitteln, die sowohl zur Pathogenese und Progression von Erkrankungen als auch zur Entwicklung neuer pharmakologischer Behandlung beitragen können. In der vorliegenden Arbeit wurden prospektive Kohortenstudien ausgewählt. Dieses Studiendesign eignet sich, um Assoziationen zwischen einem Einflussfaktor oder mehreren Einflussfaktoren und dem interessierenden Ereignis (z.B. der Entstehung einer Erkrankung) über einen bestimmten Zeitraum zu ermitteln. Von Bedeutung ist hierbei, dass die Manifestation der zu untersuchenden Erkrankung erst nach Studienbeginn (d.h. nach der Basiserhebung) eintritt. Durch diesen zeitlichen Verlauf kann auf eine zeitliche Abfolge geschlossen werden, die eine wesentliche Voraussetzung für eine kausale Abhängigkeit darstellt. Um diesen Zusammenhang zu erheben, erfolgt nach Studienende der Vergleich zwischen den exponierten Studienteilnehmern und der Untersuchungsgruppe ohne Exposition hinsichtlich der Neuerkrankungsrate. Durch Berechnung des relativen Risikos oder vergleichbarer Effektschätzer kann die Stärke der Assoziationen dargestellt werden. Die Daten dieser Arbeit basieren auf prospektiven Untersuchungen innerhalb der KORA F4/FF4- sowie der ESTHER-Kohorte.

Die Analysen des ersten Manuskriptes basieren auf den Daten der KORA F4- und KORA FF4-Studie. Diese Studien stellen zwei Nachuntersuchungen der großen bevölkerungsbasierten KORA-Basisstudie (S4) dar. Die KORA-Studie startete wiederum im Jahre 1996 als Fortsetzung sowie Erweiterung des MONICA-Projektes. Die KORA S4-Querschnittsstudie stellt die letzte von vier Querschnitterhebungen (S1-S4) dar und wurde in der Region von Augsburg und Umgebung in dem Zeitraum von 1999 bis 2001 durchgeführt. Hierbei erfolgte die Untersuchung von 4261 Teilnehmern im Alter von 25 bis 74 Jahren. In der KORA F4-Studie nahmen von den Teilnehmern der KORA S4-Studie 3080 Personen in den Jahren 2006/2008 teil, von welchen wiederum noch 2279 Personen in der KORA FF4-Studie in den Jahren 2013/2014 untersucht wurden [232, 233]. Die hier ausgewählte Studienkohorte ist repräsentativ für die Allgemeinbevölkerung im Studiengebiet. In beiden Nachuntersuchungen wurden Prävalenz und Inzidenz des Typ-2-Diabetes anhand einer Selbstauskunft durch die Teilnehmer und anschließender Validierung durch den behandelnden Arzt, der Einnahme von blutzuckersenkenden Arzneimittel oder durch den Nachweis eines gestörten Glukosemetabolismus über die Nüchtern- und/oder 2-h-Plasmaglukosewerte mit Hilfe eines oGTTs bestimmt. Im ersten Manuskript der vorliegenden Arbeit wurden zunächst 1161 Teilnehmerinnen und Teilnehmer im Alter von 62 bis 81 Jahren eingeschlossen.

Nach Berücksichtigung diverser Ausschlusskriterien wie u.a. unklarem Glukosetoleranzstatus basierten die Analysen zu Serumspiegeln von Omentin und den Veränderungen von glykämischen Parametern auf 471 Personen und die Assoziationen von Omentin und der Inzidenz des Typ-2-Diabetes auf 506 Studienteilnehmern. Die Nachbeobachtungszeit betrug 6,5 Jahre.

3.2 ESTHER-Studie zur Untersuchung der Assoziation zwischen Omentin und der Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen in Patienten mit T2D

Das zweite Manuskript dieser Arbeit basiert auf Daten der ESTHER-Studie, die initiiert wurde, um zur verbesserten Verhütung, Früherkennung und Therapie chronischer Erkrankungen wie Krebs oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen beizutragen [234]. An der Basiserhebung dieser epidemiologischen Kohortenstudie nahmen zwischen 2000 und 2002 insgesamt 9949 Personen aus dem Saarland im Alter von 50 bis 74 Jahren teil [235]. Die Studienteilnehmer mit Diabetes wurden über Hausarztpraxen während einer Gesundheitsuntersuchung rekrutiert und die Studienkohorte, aus der die Studienteilnehmer mit Diabetes ausgewählt wurden, ist repräsentativ für diese beschriebene Personengruppe in Deutschland [236]. Nachbefragungen zum Gesundheitsstatus der Teilnehmer erfolgten nach 14 Jahren [234].

Das Ziel des zweiten Manuskriptes war die Bestimmung der Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und der Inzidenz von kardiovaskulären Erkrankungen in Personen mit Typ-2-Diabetes nach 14 Jahren. Daher bestand die Ausgangspopulation zunächst aus 1375 Personen mit diagnostiziertem Diabetes. Nach Berücksichtigung diverser Ausschlusskriterien verringerte sich die Studienpopulation auf 933 Teilnehmer. Zu den Ausschlusskriterien zählten u.a. die Diabetesdiagnose vor dem vierzigsten Lebensjahr aufgrund der möglichen Einbeziehung von Personen mit Typ-1-Diabetes, fehlende oder unzureichende Serummengen zur Durchführung der Omentin-Messungen sowie die Selbstauskunft über Myokardinfarkte oder Schlaganfälle zur Basiserhebung. Darüber hinaus wurden Personen mit Serumkonzentration von CRP ≥ 10 mg/l aufgrund möglicher Infektionen oder Gewebeschädigungen sowie Studienteilnehmer, die keine Nachuntersuchung absolvierten, ausgeschlossen.

3.3 Quantifizierung der Serumkonzentration von Omentin mittels ELISA

Für das erste und zweite Manuskript der vorliegenden Arbeit erfolgte die Bestimmung der Serumkonzentrationen von Omentin innerhalb der KORA F4/FF4- sowie ESTHER-Kohorte mit Hilfe eines *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISAs) der Firma BioVendor (Brno, Tschechien). Über diese Methode lassen sich die Analyte (wie z.B. Proteine oder Peptide) durch enzymatische Farbreaktionen nachweisen. Die Versuchsdurchführung erfolgte entsprechend den Herstellerangaben. Der durchgeführte ELISA basiert auf Verwendung der sogenannten „Sandwich-Methode“, bei welcher es zum Einsatz von zwei Antikörpern kommt. Nach Bindung des an die Mikrotiterplatte gebundenen Primärantikörpers an das nachzuweisende Antigen erfolgt die Zugabe eines biotinylierten Antikörpers, der andere Epitope des Antigens erkennt [237]. Anschließend wird durch Zugabe eines Streptavidin-Enzym-Konjugates eine Signalverstärkung erzielt, da Streptavidin mit hoher Affinität an Biotin bindet [238]. Der in dieser Arbeit durchgeführte ELISA verwendet die Meerrettich-Peroxidase (*horseradish peroxidase* [HRP]) als Reporterenzym, welche im letzten Inkubationsschritt die Reduktion des zugegebenen chromogenen Substrates (Wasserstoffperoxid und Tetramethylbenzidin) in ein farbiges Reaktionsprodukt katalysiert [239]. Die gemessene Absorption verhält sich hierbei proportional zur Konzentration des Antigens [237].

3.4 Primäre humane Adipozyten als *in vitro*-Modell zur Untersuchung des Omentin-Signalweges

Für die Untersuchung der molekularen Wirkmechanismen von Omentin (drittes und viertes Manuskript der vorliegenden Arbeit) wurden für die experimentellen Arbeiten primäre humane Präadipozyten als *in vitro*-Modell verwendet. Adipozyten stellen ein geeignetes *in vitro*-Modell für die vorliegende Arbeit dar, denn Adipositas und der damit verbundene pro-inflammatorische Zustand gelten bekanntermaßen als Risikofaktoren für die Entstehung des Typ-2-Diabetes und seiner Begleiterkrankungen. Die Zellen wurden aus subkutanem Fettgewebe von verschiedenen, nicht diabetischen Spendern isoliert und von den Firmen Promocell (Heidelberg, Deutschland) sowie Lonza (Basel, Schweiz) bezogen. Die männlichen und weiblichen Spender waren im Alter von 27 bis 56 Jahren und wiesen einen BMI zwischen 22 kg/m² und 28 kg/m² auf.

Die Kultivierung der Zellen erfolgte bei 37 °C und 5% CO₂-Atmosphäre, und alle Zellkulturarbeiten wie u.a. das Passagieren sowie die Behandlung der Säugertierzellen mit rekombinantem Omentin erfolgten unter sterilen Bedingungen. Für jedes Experiment wurde nach der Proliferation der primären humanen Präadipozyten eine vierzehntägige Differenzierung in reife, lipidhaltige Adipozyten eingeleitet. Anschließend wurden diese differenzierten Adipozyten mit rekombinantem Omentin oder TNF α stimuliert. In jedem Experiment dienten unbehandelte Zellen als Kontrolle.

Zur Verwendung von Omentin-Konzentrationen, die am ehesten den physiologischen Bedingungen entsprechen, wurden die Konzentrationen von 500 ng/ml und 2000 ng/ml basierend auf vorherigen Analysen von Serumproben der KORA F4-Studie ausgewählt [207]. Hierbei wies eine Bevölkerungsgruppe ohne Typ-2-Diabetes mittlere Omentin-Konzentrationen von etwa 500 ng/ml auf. In Bezug auf die verwendete Konzentration von 2000 ng/ml wurden in der erwähnten Bevölkerungsgruppe maximale Konzentrationen von ungefähr 2500 ng/ml ermittelt [207]. Allerdings kommt die höhere Omentin-Konzentration vermutlich eher an die lokalen Konzentrationen im Fettgewebe heran. Nach der Behandlung erfolgte die Gewinnung von Überständen und Lysaten, welche bis zur weiteren Verwendung bei -80 °C eingefroren wurden.

3.5 Messung von Inflammationsmarkern im Zellkulturüberstand mit Hilfe der Proximity Extension Assay-Technologie von Olink Proteomics

Im dritten Manuskript der vorliegenden Arbeit wurde anhand des Olink® INFLAMMATION Analyse Panels (Uppsala, Schweden) der Effekt von Omentin auf die Sekretion von pro- und anti-inflammatorischen Proteinen in primären humanen Adipozyten untersucht (Messung von Olink Proteomics durchgeführt). Diese *Proximity Extension Assay*-Technologie (PEA) ermöglicht die gleichzeitige Messung von 92 Biomarkern in einem minimalen Probenvolumen und mit guten Variationskoeffizienten [240]. Die gemessenen Inflammationsmarker sind an biologischen Prozessen wie z.B. dem MAPK (*mitogen-activated protein kinase*)-Signalweg, der Chemotaxis oder der Zelladhäsion beteiligt [241, 242]. Diese Methode stellt eine Kombination aus einem Antikörper-basierten Immunoassay mit einer Polymerase-Kettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) und einer quantitativen Echtzeit-PCR (*quantitative real-time PCR*, qPCR) dar. Die PEA-Technologie umfasst fünf zentrale Schritte, die in Abbildung 3 dargestellt sind.

Im ersten Schritt kommt es zur Bindung der Oligonukleotid-gekoppelten Antikörper an die Zielproteine (Abbildung 3A). Anschließend hybridisieren die Oligonukleotide, die sich in räumlicher Nähe zueinander befinden (Abbildung 3B) und werden durch eine DNA-Polymerase komplementär verlängert (Elongation) (Abbildung 3C). Nach Amplifikation mittels PCR (Abbildung 3D) kann der gesamte Vervielfältigungsprozess mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen (qPCR) quantifiziert werden (Abbildung 3E) [243]. Hierbei korreliert die Fluoreszenzintensität mit dem gebundenen Antigen und nachfolgend mit der transkribierten DNA-Menge [240, 244].

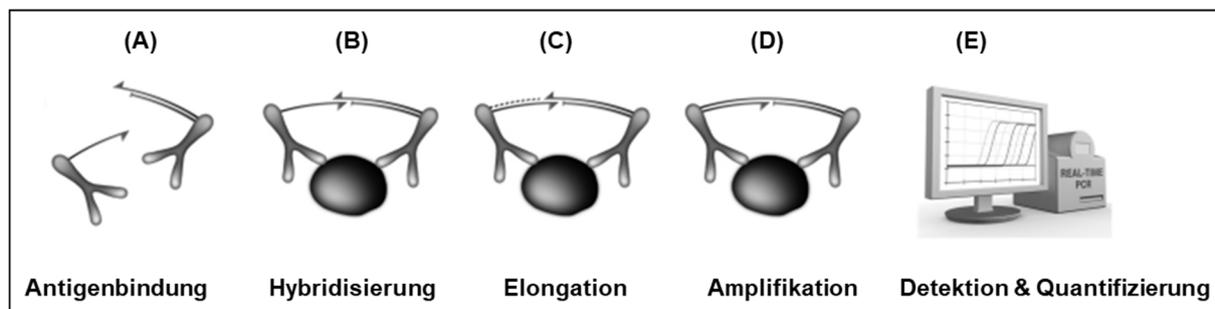


Abbildung 3: Schematische Darstellung der PEA-Technologie (reproduziert und modifiziert nach [243]).

Die Daten werden als arbiträre Einheiten in logarithmischer Darstellung (\log_2), den sogenannten normalisierten Protein-Expressionseinheiten (*normalized protein expression*, NPX) dargestellt. Hierbei entsprechen hohe NPX-Werte einer höheren Proteineexpression. Die relative Quantifizierung dieser NPX-Einheiten erfolgt wiederum anhand der C_t -Werte (*threshold cycle*) [245, 246]. Diese C_t -Werte entsprechen dem PCR-Zyklus, in dem die Fluoreszenz erstmalig über das Hintergrundrauschen ansteigt und eine exponentielle Amplifikation der PCR-Fragmente einsetzt [244, 245]. Im Vergleich zu konventionellen Immunoassays kommt es trotz des Multiplex-Nachweisverfahrens bei der PEA-Technologie zu keinem Verlust der Spezifität und Sensitivität, da unspezifische Bindungen zwischen den Antikörpern (Kreuzreaktivität) verhindert werden [240].

3.6 Identifizierung der Omentin-vermittelten Wirkmechanismen mit Hilfe der *Ingenuity® Pathway Analyse*

Für die Generierung von Daten für sowohl das dritte als auch das vierte Manuskript der vorliegenden Arbeit wurden *in silico*-Analysen mit Hilfe der *Ingenuity® Pathway Analyse* (IPA®) (Qiagen, Hilden, Germany) durchgeführt. Diese Software verwendet eine wissenschaftliche Gen- sowie Proteindatenbank, die durch manuelle Literaturrecherche erstellt wurde. Darüber hinaus werden ebenfalls Drittanbieter-Datenbanken eingeschlossen [247]. Mit dieser bioinformatischen Analysemethode erfolgte die Interpretation der Olink Proteomics-Daten (Messung von Inflammationsmarkern, siehe Abschnitt 3.5) sowie der Daten der Proteomanalyse (siehe Abschnitt 3.8) mit dem Ziel, den Omentin-induzierten Sekretionsmechanismus zu entschlüsseln. Basierend auf einer *Upstream Regulator Analyse* lassen sich Regulatoren vorhersagen, die die Veränderungen im Datensatz (wie z.B. die Sekretionsveränderungen von Inflammationsmarkern in der vorliegenden Arbeit) verursachen könnten. Die webbasierte Software kalkuliert einen so genannten *z-score*, der den Aktivitätszustand des potenziellen *Upstream Regulators* vorhersagt.

Hierbei sprechen *z-scores* größer 2 für die Aktivierung und *z-scores* kleiner -2 für die Inhibierung des potenziellen *Upstream Regulators*. Ein *Upstream Regulator* stellt jede Art von Molekül dar, welches die Expression von anderen Molekülen beeinflussen kann. Basierend auf diesen *Upstream Regulatoren* lassen sich *de novo* Signalwege (mechanistische Netzwerke) entwickeln und mögliche Interaktionen zwischen den Regulatoren visualisieren [248]. Darüber hinaus wurde durch eine kanonische Signalweg-Analyse die Überrepräsentation der regulierten Proteine in kanonischen Signalwegen ermittelt.

3.7 Analyse von Signalwegen mit Hilfe des Simple Western™ Systems

Mit Hilfe einer neuartigen Technologie (Simple Western™, ProteinSimple®, San José, USA) erfolgte die Analyse von Omentin-induzierten Signalwegen. Diese Methode stellt sowohl ein Verfahren zur Auftrennung von Proteinen nach ihrer Größe als auch zum anschließenden Nachweis der gewünschten Zielproteine aus einem komplexen Lysat durch Antikörper dar. Demnach ist dieser kapillarbasierte Immunoassay ein vollautomatisiertes Verfahren, und jegliche Schritte wie u.a. die Probenauftragung auf ein SDS (*sodium dodecylsulfate*)- oder Polyacrylamidgel, die Übertragung der Proteine von einem Gel auf eine Trägermembran, manuelle Waschschriffe sowie die manuelle, densitometrische Intensitätsbestimmung der Proteinbanden entfallen [249]. In der vorliegenden Arbeit wurden die Proteinexpressionen mit Hilfe eines größenbasierten Assays (12-230 kDa) analysiert. Abbildung 4 zeigt die zentralen Schritte dieses Immunoassays vom Beladen der Platte bis hin zur Datenanalyse. Nach Beladen der Platte erfolgt die automatische Aufnahme der Proben in die Kapillare, die Migration der Proben durch das Sammel- und Trenngel sowie die Proteinauftrennung nach dem Molekulargewicht. Anschließend werden die aufgetrennten Proteine über eine firmeneigene Fotoaktivierung an der Kapillarwand immobilisiert und der primäre Antikörper bindet spezifisch an das Epitop im Zielprotein [249, 250]. Nach Erkennung der artspezifischen Epitope bindet der HRP-gekoppelte Zweitantikörper an die Fc-Region des Primärantikörpers [251]. Über eine Chemilumineszenz-Reaktion, die von der Meerrettich-Peroxidase katalysiert wird, werden die gewünschten Zielproteine visualisiert. Hierbei dient eine mit Peroxid versetzte Luminollösung als Substrat für die Peroxidase [250].

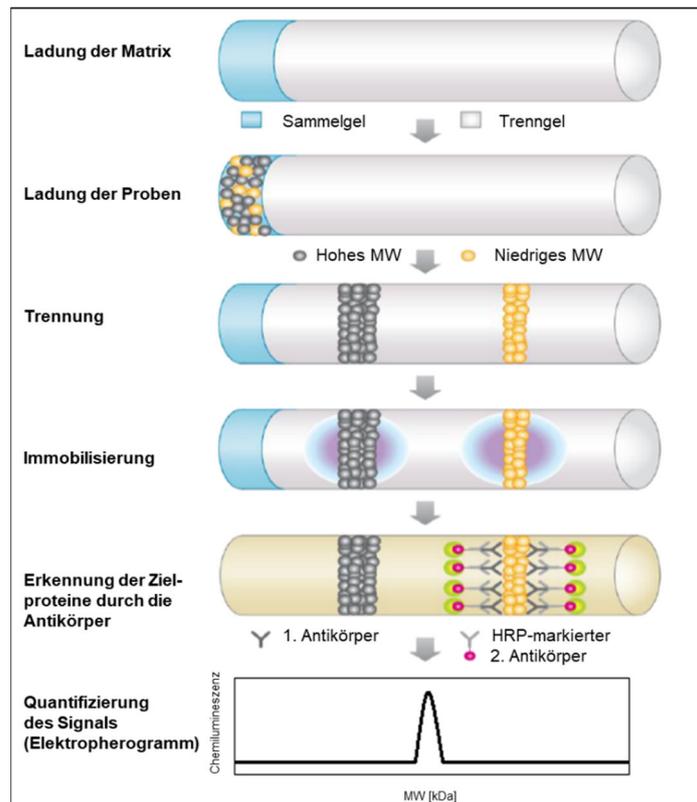


Abbildung 4: Schematischer Ablauf des größenbasierten Simple Western™ Systems.

Das automatisierte System führt die Elektrophorese, die Detektion und Charakterisierung der Proteine sowie die Datenanalyse durch (reproduziert und modifiziert nach [252]). MW: Molekulargewicht (engl. *molecular weight*); HRP: Meerrettich-Peroxidase (engl. *horseradish peroxidase*).

Das generierte Licht wird zu verschiedenen Belichtungszeiten gemessen und die Angabe der Chemilumineszenz in der Software entspricht dem Verhältnis von Licht zu Zeit. Das Chemilumineszenz-Signal wird als Elektropherogramm dargestellt und über die Berechnung der Fläche unter der Kurve (*area under the curve*, AUC) erstellt die Software ein virtuelles Bandenmuster [253].

Die Software gibt das Molekulargewicht, die Fläche (in arbiträrer Einheit und in Prozent) sowie das Signal-Rausch-Verhältnis (in arbiträrer Einheit) für jedes detektierte Protein an [249]. Durch diese Methode ließen sich gleichzeitig bis zu 24 Proteine pro Messung innerhalb von 3,5 Stunden analysieren.

3.8 Untersuchung des Einflusses von Omentin auf das Sekretom von primären humanen Adipozyten mit Hilfe einer Proteomanalyse

Das vierte Manuskript zeigt Daten zu einer Proteomanalyse mit primären humanen Adipozyten. Diese Proteomik-Studie wurde in der Abteilung *Protein Science* am Helmholtz Zentrum München in Kooperation mit Frau Dr. Hauck durchgeführt, um das Sekretom der Omentin-behandelten Adipozyten zu untersuchen. Neben der Detektion des Proteinprofils konnten hierdurch Veränderungen in der Proteinsekretion aufgrund der Omentin-Behandlung ermittelt werden. Diese quantitative Proteinanalyse erfolgte mittels hochauflösender Flüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS/MS). Mit Hilfe der Massenspektrometrie lässt sich die molekulare und atomare Masse von ganzen Molekülen, molekularen Fragmenten und Atomen analysieren. Hierfür wird die zu untersuchende Substanz in die Gasphase überführt, ionisiert und die Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) sortiert [254].

Vor der Durchführung dieser massenspektrometrischen Analyse müssen die Proteine zunächst aus dem biologischen Material extrahiert und verdaut werden. Dieser Prozess erfolgte mittels der Filter-unterstützten Probenvorbereitung (*Filter-Aided Sample Preparation*, FASP), welche Prozesse wie die Entfernung von störenden Komponenten mit niedrigen Molekulargewichten (*molecular weight*, MW) mittels Harnstoff, die Carbamidomethylierung von Thiolen, den Proteinverdau sowie die Elution der Peptide beinhaltet [255].

Anschließend wurden die Peptidgemische für die LC-MS/MS verwendet. Durch Verwendung des Daten-unabhängigen Erfassungsmodus (DIA: *data-independent acquisition modus*) wurden die MS/MS-Spektren generiert. Bei dieser ausgewählten Messmethode werden die gesamten Ionen innerhalb eines definierten m/z -Bereiches fragmentiert und analysiert. Die Analyse der massenspektrometrischen Rohdaten und somit die Identifizierung und Quantifizierung der Proteine erfolgte über den Abgleich mit einer internen, spektralen Datenbank, die zuvor mit Hilfe von verschiedenen Datenbanken wie *Proteome Discoverer 2.1*, *Mascot search engine* und *Swissprot Mouse database* generiert wurde.

3.9 Statistische Auswertungen

Im ersten Manuskript wurde zur Bestimmung der Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und Adiponektin mit Veränderungen von glykämischen Parametern die multiple lineare Regressionsanalyse angewendet. Basierend auf den Konzentrationen von Omentin und Adiponektin (\log_2 - und anschließend z-transformiert) wurden die ORs und 95% KI ermittelt. Die Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von sowohl Omentin als auch Adiponektin und der Inzidenz eines Typ-2-Diabetes wurden mittels multipler logistischer Regression bewertet. Letztlich wurde ein Interaktionsterm in das logistische Regressionsmodell aufgenommen, um mögliche Interaktionen zwischen Omentin und Adiponektin aufzudecken. Die statistischen Auswertungen wurden mit der Software R Version 3.2.4 (*R Core Team, Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich*) durchgeführt.

Im zweiten Manuskript der vorliegenden Arbeit wurden die Charakteristika der Studienpopulation für kontinuierliche Variablen als Median (Interquartilsabstand) und für kategoriale Merkmale als absolute Werte und Prozentwerte angegeben. Gruppenvergleiche wurden mit Hilfe des Wilcoxon-Tests bzw. des Chi-Quadrat-Tests durchgeführt. Zur Bestimmung von Assoziationen zwischen den Konzentrationen von Omentin und Adiponektin wurde die multiple lineare Regressionsanalyse eingesetzt. Die Darstellung der kumulativen Inzidenzen aller kardiovaskulären Ereignisse erfolgte mit Hilfe von Kaplan-Meier-Kurven, und für den Vergleich der kumulativen Inzidenzen für die Omentin-Tertile wurde der Log-rank-Test angewendet. Cox-Regressionen wurden durchgeführt, um die HRs und 95% KI für die Assoziationen zwischen Omentin-Konzentrationen und dem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse zu bestimmen. Die Datenanalyse erfolgte mit der Statistiksoftware SAS 9.4 (*SAS Institute, Cary, NC, USA*).

In beiden Manuskripten wurde in den Regressionsanalysen für eine Liste von potenziellen Störfaktoren adjustiert, die aufgrund von Daten in der Literatur und eigenen Daten sowohl mit den Adipokin-Konzentrationen als auch mit den *Outcomes* assoziiert sein können.

Die in den Manuskripten drei und vier durchgeführten Experimente wurden mit fünf biologischen Replikaten durchgeführt. Der exakte Fisher-Test wurde angewendet, um die Wahrscheinlichkeit zu berechnen, dass signifikante Assoziationen nicht nur aufgrund von zufälligen Daten entstanden sind. Im dritten Manuskript sind die Daten als Mittelwerte mit Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. Als Signifikanztests wurden der Friedman-Test oder ANOVA (engl. *Analysis of Variance*) verwendet. Anschließend erfolgte die Korrektur für multiples Testen entweder nach dem Verfahren von Dunn oder mit Hilfe der Benjamini-Hochberg-Methode.

Im dritten Manuskript der vorliegenden Arbeit wurden damit Veränderungen der Proteinspiegel zwischen den verschiedenen Behandlungen analysiert. Die gesamten statistischen Analysen des dritten Manuskriptes erfolgten mit der Software Prism 7 (GraphPad Software, LaJolla, CA, USA).

Im vierten Manuskript wurden die Unterschiede in der Proteinsekretion mit Hilfe des gepaarten t-Tests (\log_2 -transformiert) analysiert. Die Datenanalyse im vierten Manuskript erfolgte mit den Programmen R Version 3.3.3 (*R Core Foundation, Computing, Wien, Österreich*) und Python Version 3.6.1 (*Python Software Foundation*). Für die gesamten Auswertungen aller Manuskripte wurde eine statistische Signifikanz bei p-Werten $<0,05$ abgeleitet.

4. ORIGINAL VERÖFFENTLICHUNGEN

4.1 Manuskript 1

Independent and opposite associations between serum levels of omentin-1 and adiponectin with increases in glycaemia and incident type 2 diabetes: KORA F4/FF4 Study

Short title: Omentin, adiponectin and incident T2D

Christian Herder^{1,2}, Julia M. Kannenberg^{1,2}, **Corinna Niersmann^{1,2}**,
Cornelia Huth^{2,3}, Maren Carstensen-Kirberg^{1,2}, Clemens Wittenbecher^{2,4}, Matthias
Schulze^{2,4}, Matthias Blüher^{2,5,6}, Wolfgang Rathmann^{2,7}, Annette Peters^{2,3}, Michael
Roden^{1,2,8}, Christa Meisinger^{3*}, Barbara Thorand^{2,3*}

- ¹ Institute for Clinical Diabetology, German Diabetes Center, Leibniz Center for Diabetes Research at Heinrich Heine University Düsseldorf, Düsseldorf, Germany
- ² German Center for Diabetes Research (DZD), München-Neuherberg, Germany
- ³ Institute of Epidemiology II, Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Neuherberg, Germany
- ⁴ Department of Molecular Epidemiology, German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke, Nuthetal, Germany
- ⁵ Department of Medicine, University of Leipzig, Leipzig, Germany
- ⁶ IFB Adiposity Diseases, University of Leipzig, Leipzig, Germany
- ⁷ Institute for Biometrics and Epidemiology, German Diabetes Center, Leibniz Center for Diabetes Research at Heinrich Heine University Düsseldorf, Düsseldorf, Germany
- ⁸ Department of Endocrinology and Diabetology, Medical Faculty, University Hospital Düsseldorf, Düsseldorf, Germany

4.2 Manuskript 2

Higher circulating omentin is associated with increased risk of primary cardiovascular events in individuals with diabetes

Corinna Niersmann^{1,2}, Maren Carstensen-Kirberg^{1,2}, Haifa Maalmi^{1,2},
Bernd Holleczek³, Michael Roden^{1,2,4}, Hermann Brenner^{5,6}, Christian Herder^{1,2,4},
Ben Schöttker^{5,6}

- ¹ Institute for Clinical Diabetology, German Diabetes Center, Leibniz Center for Diabetes Research at Heinrich Heine University Düsseldorf, Auf'm Hennekamp 65, 40225 Düsseldorf, Germany
- ² German Center for Diabetes Research (DZD), München-Neuberberg, Germany
- ³ Saarland Cancer Registry, Saarbrücken, Germany
- ⁴ Division of Endocrinology and Diabetology, Medical Faculty, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany
- ⁵ Division of Clinical Epidemiology and Aging Research, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany
- ⁶ Network Aging Research, University of Heidelberg, Heidelberg, Germany

4.3 Manuskript 3

Increased release of proinflammatory proteins in primary human adipocytes and activation of the inflammatory NFκB, p38 and ERK pathways upon omentin treatment

Running Head: Proinflammatory action of omentin in human adipocytes

**Corinna Niersmann^{a,b}, Karin Röhrig^{a,b}, Matthias Blüher^{b,c}, Michael Roden^{a,b,d},
Christian Herder^{a,b,d}, Maren Carstensen-Kirberg^{a,b}**

- ^a Institute for Clinical Diabetology, German Diabetes Center, Leibniz Center for Diabetes Research at Heinrich Heine University Düsseldorf, Düsseldorf, Germany
- ^b German Center for Diabetes Research (DZD), München-Neuherberg, Germany
- ^c Department of Medicine, University of Leipzig, Leipzig, Germany
- ^d Division of Endocrinology and Diabetology, Medical Faculty, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany

Obes Facts 2020; 13:221-236

4.4 Manuskript 4

Omentin-regulated proteins combine a pro-inflammatory phenotype with an anti-inflammatory counterregulation in human adipocytes: a proteomics analysis

Running title: Omentin and inflammation

Corinna Niersmann^{1,2}, Stefanie M. Hauck^{2,3}, Julia M. Kannenberg^{1,2}, Karin Röhrig^{1,2}, Christine von Toerne^{2,3}, Michael Roden^{1,2,4}, Christian Herder^{1,2}, Maren Carstensen-Kirberg^{1,2}

¹ Institute for Clinical Diabetology, German Diabetes Center, Leibniz Center for Diabetes Research at Heinrich Heine University Düsseldorf, Düsseldorf, Germany

² German Center for Diabetes Research (DZD), München-Neuherberg, Germany

³ Research Unit Protein Science, Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health (GmbH), München-Neuherberg, Germany

⁴ Division of Endocrinology and Diabetology, Medical Faculty, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany

Diabetes Metab Res Rev 2019; 35:e3074

5. ALLGEMEINE DISKUSSION

Die Bedeutsamkeit des kürzlich entdeckten Adipokins Omentin für die Entstehung eines Typ-2-Diabetes und/oder den Komorbiditäten konnte bisher nicht eindeutig charakterisiert werden. Die in dieser Arbeit vorliegenden Manuskripte zielten darauf ab, die Zusammenhänge zwischen Omentin und Prozessen der subklinischen Inflammation sowie die Wirkmechanismen, die für die Pathogenese des Typ-2-Diabetes sowie von kardiovaskulären Erkrankungen relevant sind, darzulegen. Die zentralen Ergebnisse können folgendermaßen zusammengefasst werden:

- Durch Analysen innerhalb der KORA F4/FF4-Studie haben wir gezeigt, dass höhere Serumkonzentrationen des Adipokins Omentin mit höheren Anstiegen von Nüchtern-Glukose-, 2-h-Glukose- sowie HbA1c-Werten assoziiert waren. Zudem konnte eine positive Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und inzidentem Typ-2-Diabetes gefunden werden. Diese Assoziationen blieben nach Adjustierung für die Serumkonzentrationen des anti-inflammatorischen Adipokins Adiponektin bestehen.
- Im Rahmen der ESTHER-Kohorten-Studie konnte erstmalig festgestellt werden, dass höhere Serumkonzentrationen von Omentin mit einem steigenden Risiko für die Ausbildung von kardiovaskulären Erkrankungen in Personen mit Typ-2-Diabetes assoziiert waren. Adjustierungen für Alter, anthropometrische, metabolische und Lebensstilfaktoren sowie Einnahme von Medikamenten führten zu keinen wesentlichen Änderungen dieser Assoziationen.
- Zelluläre Studien in primären humanen Adipozyten sprechen für einen pro-inflammatorischen Phänotyp von Omentin. In humanen Adipozyten induzierte Omentin die Sekretion von zahlreichen, pro-inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen und aktivierte die inflammatorischen Signalwege NFκB, p38 und ERK1/2.
- Im Rahmen einer Proteomanalyse konnten wir zeigen, dass Omentin das anti-inflammatorische Protein TNFAIP-6 (*tumor necrosis factor-alpha-induced protein-6*, auch bekannt als *tumor necrosis factor-stimulated gene 6 [TSG6]*) am stärksten hochregulierte. Die Omentin-regulierten Proteine und die identifizierten *Upstream Regulatoren* deuten jedoch auch auf pro-inflammatorische Wirkungen von Omentin hin. Darüber hinaus kann aufgrund von *Pathway* Analysen vermutet werden, dass die Omentin-regulierten Proteine zellulären Stress auslösen, an inflammatorischen

Prozessen sowie der Interaktion zwischen verschiedenen Geweben beteiligt sind [P1-P4].

5.1 Omentin und Typ-2-Diabetes

Der Zusammenhang des Adipokins Omentin mit der Inzidenz eines Typ-2-Diabetes wurde anhand von Serummessungen in Studienteilnehmern der großen populationsbasierten KORA F4/FF4-Kohorte untersucht. Die Analysen zwischen den zirkulierenden Serumkonzentrationen von Omentin und Veränderungen von glykämischen Parametern basierten auf 471 nicht-diabetischen Studienteilnehmern. Die Zusammenhänge zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und inzidentem Typ-2-Diabetes wurden anhand von 430 Personen mit inzidentem Typ-2-Diabetes und 76 Personen ohne inzidentem Typ-2-Diabetes bewertet.

5.1.1 Positive Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und glykämischen Parametern

In dieser Studie wurden höhere Serumkonzentrationen von Omentin in Frauen als in Männern ermittelt. Diese geschlechtsspezifischen Unterschiede konnten bereits in einer weiteren Studie nachgewiesen werden [190]. Demnach könnten Geschlechtshormone an der Freisetzung dieses Adipokins beteiligt sein. Darüber hinaus konnte erstmalig gezeigt werden, dass höhere systemische Konzentrationen von Omentin mit ausgeprägteren späteren Anstiegen der Nüchtern- und 2-h-Glukose sowie des HbA1c-Wertes verbunden waren als niedrigere Omentin-Konzentrationen. Demnach stehen diese Studienergebnisse im Gegensatz zu Befunden aus einigen Querschnittsstudien, die nur auf Daten zu einem Zeitpunkt beruhten und diesbezüglich inverse Assoziationen gefunden haben [202, 207, 256]. Eine dieser Querschnittsstudien konnte allerdings lediglich aufzeigen, dass die Serumkonzentrationen von Omentin invers mit 2-h-Glukosewerten assoziiert sind, nicht jedoch mit den Nüchtern-Glukose- oder HbA1c-Werten [207]. In einer weiteren Studie innerhalb der EPIC-Potsdam-Kohorte konnten diesbezüglich ebenfalls keine Assoziationen beobachtet werden [209, P1].

Allerdings müssen zur Abschätzung von Assoziationen und somit zur Validitätsprüfung diverse mögliche Störfaktoren (engl. *Confounder*) berücksichtigt werden, wenn diese mit einem Einflussfaktor und dem Endpunkt (z.B. der Entstehung des Typ-2-Diabetes) in Zusammenhang stehen. In dem ersten Manuskript der vorliegenden Arbeit ist es besonders erwähnenswert, dass diese Assoziationen nicht von Störfaktoren wie dem Alter, Geschlecht, anthropometrischen, metabolischen oder Lebensstilfaktoren hervorgerufen wurden. Innerhalb der KORA F4-Studie führten hingegen Adjustierungen für BMI sowie Serumkonzentrationen von Lipiden zur Abschwächung der geschätzten Assoziation zwischen Omentin und den 2-h-Glukosewerten [207]. Darüber hinaus konnte in Bezug auf den Einfluss der Adiponektin-Konzentrationen im ersten Manuskript der vorliegenden Arbeit dargelegt werden, dass die Assoziationen zwischen Omentin und den untersuchten Risikofaktoren für Typ-2-Diabetes

ebenfalls unabhängig von diesem Adipokin waren. Im Gegensatz dazu blieben die inversen Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und glykämischen Parametern in der KORA F4-Studie nicht erhalten [207, P1].

5.1.2 Positive Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und inzidentem Typ-2-Diabetes

Weitere Studienergebnisse des ersten Manuskriptes deuten darauf hin, dass Omentin einen Risikofaktor für inzidenten Typ-2-Diabetes darstellen könnte. Hierbei waren höhere Serumkonzentrationen von Omentin mit einem höheren Diabetesrisiko assoziiert. Die Berücksichtigung der Daten aus Querschnittsstudien führt erneut zu einer kontroversen Datenlage, da diese Studien für protektive Beziehungen zwischen Omentin und Typ-2-Diabetes sprechen. Zahlreiche Querschnittsanalysen beschreiben, dass die Serumkonzentrationen von Omentin in Personen mit Prädiabetes oder Typ-2-Diabetes im Vergleich zu Personen mit normalem Glukosemetabolismus erniedrigt sind [200-203]. In diesem Zusammenhang sollte allerdings erneut beachtet werden, dass in einigen dieser Querschnittsstudien nur unzureichende Adjustierungen für Störfaktoren vorgenommen wurden. Darüber hinaus konnten innerhalb der KORA F4-Studie keine Konzentrationsunterschiede von Omentin in der Personengruppe mit Typ-2-Diabetes (473 ng/ml) und der Kontrollgruppe ohne Typ-2-Diabetes (493 ng/ml) vermerkt werden [207]. Demnach stehen auch die Daten dieser Querschnittsstudie den prospektiven Ergebnissen der KORA F4/FF4-Studie entgegen [P1].

Allerdings bekräftigt eine weitere prospektive Analyse innerhalb der EPIC-Potsdam-Kohorte unsere prospektiven Studienergebnisse. Basierend auf 2319 Personen, von welchen 123 Personen einen Typ-2-Diabetes ausbildeten, waren die Serumkonzentrationen von Omentin zwar negativ mit dem BMI und positiv mit den Konzentrationen von HDL-Cholesterin sowie Adiponektin assoziiert, dennoch wurde eine positive Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und dem Risiko für Typ-2-Diabetes nachgewiesen. Abweichend zu unseren Studienergebnissen aus der KORA F4/FF4-Studie sprechen die Daten der EPIC-Potsdam Studie für eine Interaktion zwischen Omentin und Adiponektin. Mit Hilfe von stratifizierten Analysen wurde insbesondere Studienteilnehmern mit hohen Konzentrationen an Adiponektin ein erhöhtes Diabetesrisiko zugeschrieben [209]. Hingegen lieferten unsere Studienergebnisse innerhalb der KORA F4/FF4-Kohorte keine Hinweise dafür, dass Omentin lediglich im Zusammenspiel mit Adiponektin die Pathogenese eines Typ-2-Diabetes begünstigt. Von Bedeutung ist jedoch, dass beide Studien darauf hindeuten, dass erhöhte Omentin-Konzentrationen mit höherer Diabetes-Inzidenz verbunden sind [P1].

5.1.3 Potenzielle Erklärungen für die kontroverse Datenlage aus Querschnittsstudien und prospektiven Untersuchungen

In den vorangegangenen Abschnitten wurde dargelegt, dass Omentin in Querschnittsstudien invers mit Typ-2-Diabetes assoziiert ist, wohingegen prospektive Untersuchungen positive Assoziationen mit inzidentem Typ-2-Diabetes zeigen. Bisher konnte diese Diskrepanz noch nicht eindeutig ergründet werden.

Zum einen ist es allerdings möglich, dass erhöhte Omentin-Konzentrationen Störungen der Glukosehomöostase hervorrufen und somit das Diabetesrisiko erhöht wird. Es wäre denkbar, dass Omentin eine Reduktion der Insulin-stimulierten Glukoseaufnahme in viszeralen oder subkutanen Adipozyten oder in anderen insulinsensitiven Geweben wie der Leber oder dem Muskel hervorruft. Aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit von zellulären Studien lassen sich diese Annahmen jedoch bisher nicht bestätigen. Bislang liegen lediglich Daten einer einzigen Studie vor, die die Wirkungen von Omentin auf die Insulinsensitivität in primären humanen Adipozyten *in vitro* untersuchte. Hierbei stimulierte Omentin die Insulinsignaltransduktion über eine erhöhte Akt-Phosphorylierung sowie eine verstärkte Glukoseaufnahme in primären humanen Adipozyten [197, P1]. Zwar sprechen diese Daten für eine Verbesserung der Insulinsensitivität und stimmen somit mit den Befunden aus Querschnittsanalysen überein, allerdings liegen derzeit keine weiteren zellulären Studien vor, die diese protektiven Eigenschaften in Bezug auf das Diabetesrisiko repliziert oder ergänzt haben. Stattdessen zeigen die Daten aus dem dritten und vierten Manuskript dieser Arbeit, dass Omentin die Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen in primären humanen Adipozyten induziert [P1]. Einige dieser Omentin-regulierten Proteine stehen wiederum in Verbindung mit Typ-2-Diabetes.

Zum anderen könnten die zugrundeliegenden Mechanismen über die Regulation der Expression von Omentin eine Erklärung dafür liefern, inwiefern sich die positiven Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und inzidentem Typ-2-Diabetes innerhalb der prospektiven KORA F4/FF4-Studie mit den inversen Assoziationen aus Querschnittsstudien vereinbaren lassen. Einige Studien sprechen dafür, dass das Körpergewicht bzw. ein Lebensstil-induzierter Gewichtsverlust die Expression von Omentin steuert [190, 204]. Zudem gibt es erste Hinweise darauf, dass es unter inflammatorischen Zuständen wie z.B. Morbus Crohn oder Asthma zu Expressionsveränderungen von Omentin kommt [191, 257]. Es ist gut bekannt, dass erhöhte Konzentrationen von pro-inflammatorischen Immunmediatoren mit einem steigenden Diabetesrisiko verbunden sind. Es wurden beispielsweise erhöhte zirkulierende Konzentrationen von TNF α sowie IL-6 in Personen mit Typ-2-Diabetes beschrieben [137, 258], welche wiederum positiv mit der Insulinresistenz korrelieren [137, 138, 258].

Darüber hinaus liegt Evidenz vor, dass pro-inflammatorische Adipokine wie TNF α , IL-6 oder IL-1 β an der Regulation von Adipokinen wie z.B. Adiponektin, Visfatin oder Leptin beteiligt sind [259-261]. Auf Grundlage dieser Daten wird daher vermutet, dass die erhöhten Omentin-Konzentrationen in der KORA F4/FF4-Studie ebenfalls durch metabolische und/oder pro-inflammatorische Faktoren, die in Verbindung mit einem erhöhten Diabetesrisiko stehen, hervorgerufen werden. Bisher liegen zwar keine Daten vor, die diese Hochregulation von Omentin durch pro-inflammatorische Risikofaktoren bestätigen könnten, allerdings deuten Studien über das anti-inflammatorische Protein IL-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1RA) auf ein ähnliches Muster hin und schlagen somit einen vergleichbaren Mechanismus vor [262-264, P1]. Auf der einen Seite wurden für das anti-inflammatorische Protein IL-1RA protektive Wirkungen in Bezug auf Typ-2-Diabetes beschrieben, indem die Verabreichung von IL-1RA zur Abschwächung der subklinischen Inflammation sowie zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität und Betazellfunktion führt [265, 266]. Auf der anderen Seite wurde hingegen gezeigt, dass höhere Konzentrationen von IL-1RA mit einem steigenden Risiko für Typ-2-Diabetes assoziiert sind (OR pro IL-1RA-Anstieg um eine Standardabweichung, 1,43; 95% KI, 1,03-2,00 nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, Taillenumfang, kardiovaskuläre Risikofaktoren, sozioökonomischen Status, CRP und IL-6 sowie Nüchtern-Glukose und Nüchtern-Insulin) [264]. IL-1RA spiegelt den natürlichen Gegenspieler des pro-inflammatorischen Zytokins IL-1 β wider [267]. IL-1 β inhibiert in chronisch erhöhten Spiegeln die Betazellfunktion und induziert die Fas-vermittelte Betazellapoptose, was wiederum die Entstehung eines Typ-2-Diabetes begünstigt [268]. In einigen Studien wurde bereits die Hypothese aufgestellt, dass die Hochregulation des Immunmediators IL-1 β den Konzentrationsanstieg des anti-inflammatorischen IL-1RA auslöst, um somit den schädlichen Effekten von IL-1 β entgegenzuwirken [262-264].

Verglichen mit unserer prospektiven KORA F4/FF4-Studie könnte demnach der Anstieg in der Omentin-Konzentration ebenfalls ein Indikator für das Vorhandensein von erhöhten pro-inflammatorischen Risikofaktoren sein und somit eine anti-inflammatorische Gegenregulation darstellen. Diese Gegenregulation scheint jedoch nicht auszureichen, um die Entstehung des Typ-2-Diabetes zu verhindern. Hinsichtlich pathophysiologischer Aspekte könnte diese Hochregulation von Omentin dafürsprechen, dass die Manifestation des Typ-2-Diabetes nicht nur durch eine pro-inflammatorische Aktivität gekennzeichnet ist, sondern es ebenfalls zu einer Hochregulation von anti-inflammatorischen Mediatoren kommt. Innerhalb der Whitehall II-Studie und der KORA-Studie wurde bereits dargelegt, dass im prädiabetischen Zustand anti-inflammatorische Proteine wie IL-1RA, TGF (*transforming growth factor*)- β 1 und GDF-15 (*growth differentiation factor-15*, zunächst identifiziert als *macrophage inhibitory cytokine-1* [MIC-1]) hochreguliert werden [263, 269].

5.2 Omentin und kardiovaskuläre Erkrankungen

Die Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und dem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse wurden in 933 Personen in einer prospektiven Studie innerhalb der ESTHER-Kohorte untersucht. Zu Studienbeginn lag bei allen Studienteilnehmern ein diagnostizierter Typ-2-Diabetes vor, jedoch keine kardiovaskuläre Vorerkrankung.

5.2.1 Positive Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und der Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen

In dieser Studie wurde gezeigt, dass höhere Serumkonzentrationen von Omentin mit einem höheren Risiko für die Ausbildung von primären kardiovaskulären Ereignissen in Personen mit Typ-2-Diabetes assoziiert sind. Entsprechend zu vorherigen Analysen wurde zur Erfassung von mehreren klinisch relevanten kardiovaskulären Ereignissen ein kombinierter Endpunkt (engl. *composite endpoint*), welcher das erste Auftreten eines Myokardinfarkts, Schlaganfalls oder kardiovaskulären Tod umfasst, eingeführt [168, 270]. Im Rahmen des zweiten Manuskriptes wurde die derzeit verfügbare Literatur erweitert, denn prospektive Untersuchungen zu Assoziationen zwischen Omentin und kardiovaskulären Ereignissen erfolgten bisher lediglich in der Allgemeinbevölkerung [215] oder in Personen, bei denen bereits kardiovaskuläre Erkrankungen festgestellt wurden oder vermutlich vorgelegen haben [220]. Studien deuteten bisher an, dass sich anhand von Inflammationsmarkern wie IL-6 oder IL-15 das kardiovaskuläre Risiko in Personen mit Typ-2-Diabetes abschätzen lässt [168, 271, P2]. Demnach liefern die Daten des zweiten Manuskriptes mit dem Adipokin Omentin einen zusätzlichen Biomarker, der in Verbindung mit der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen in Personen mit Typ-2-Diabetes steht. In dem vorliegenden Manuskript waren die Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und inzidentem Schlaganfall am stärksten ausgeprägt. Dieses Ergebnis lässt sich durch eine Studie innerhalb der EPIC-Potsdam Kohorte untermauern. Hierbei war eine Verdopplung der Omentin-Konzentration ebenfalls mit inzidentem Schlaganfall assoziiert (HR [95% KI] 2,22 [1,52-3,22]). In der gleichen Studie wurden allerdings keine Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und inzidentem Herzinfarkt gefunden (HR pro Verdopplung der Omentin-Konzentration [95% KI] 1,17 [0,79-1,72]) [215]. Im zweiten Manuskript der vorliegenden Arbeit konnten jedoch ähnliche Assoziationen für beide Endpunkte (Schlaganfall sowie Herzinfarkt) anhand der geschätzten HRs ermittelt werden. Hierbei betragen die HRs (95% KI) 1,66 (2,10-2,48) für die Inzidenz eines Schlaganfalls und 1,44 (0,95-2,18) für inzidenten Herzinfarkt. Demnach wurden in dieser Studie innerhalb der ESTHER-Kohorte niedrigere HRs im Vergleich zu der EPIC-Potsdam Kohorte ermittelt. Allerdings lassen sich diese niedriger berechneten HRs in der ESTHER-Kohorte mit stratifizierten Analysen innerhalb der EPIC-Potsdam Kohorte vereinbaren.

Anhand dieser stratifizierten Auswertungen wurde ebenfalls ein niedrigeres Schlaganfallrisiko für Personen mit MetS (HR pro Verdopplung der Omentin-Konzentration [95% KI] 1,21 [0,59-2,50]) als für Personen ohne MetS (HR pro Verdopplung der Omentin-Konzentration [95% KI] 2,58 [1,64-4,07]) nachgewiesen [215, P2]. Die Diabetespatienten, die in der ESTHER-Studie teilnahmen, dürften eher mit der ersten der beiden Subgruppen vergleichbar gewesen sein. Neben der erwähnten EPIC-Potsdam Studie zeigten weitere Studien, dass Omentin positiv mit verschiedenen kardiovaskulären Endpunkten assoziiert ist [220, 222]. In einer zweiten Studie innerhalb der EPIC-Potsdam Kohorte wurden nach multivariater Adjustierung lineare Assoziationen zwischen den Plasmakonzentrationen von Omentin und dem Risiko für die Ausbildung einer Herzinsuffizienz in Personen ohne koronare Herzkrankheiten beschrieben [222]. Des Weiteren lassen sich unsere ESTHER-Daten durch eine weitere, klinikbasierte Studie mit Personen, denen bereits kardiovaskuläre Vorerkrankungen zu Studienbeginn dokumentiert wurden, bekräftigen. In dieser Studie wurden zwar keine separaten Untersuchungen zu Assoziationen zwischen Omentin und den zwei Endpunkten (inzidentem Herzinfarkt und inzidentem Schlaganfall) durchgeführt, allerdings stieg das Risiko für einen kombinierten Endpunkt für verschiedene kardiovaskuläre Komplikationen ebenso mit aufsteigenden Tertilen von Omentin an [220, P2].

Darüber hinaus konnte innerhalb dieser ESTHER-Studie durch zusätzliche Adjustierungen für Adiponektin gezeigt werden, dass die Assoziationen unabhängig von dem Adipokin Adiponektin sind. Diese Daten sprechen gegen eine bereits aufgestellte Hypothese, dass die Assoziationen zwischen Omentin und Typ-2-Diabetes auf eine Omentin-vermittelte Hochregulation von Adiponektin zurückzuführen sind [207]. In weiteren Studien wurde ebenfalls eine Interaktion zwischen Adiponektin und Omentin vermutet [209, 215, P2]. Allerdings sind weitere Studien notwendig, um sicher darlegen zu können, dass Adiponektin nicht die Zusammenhänge zwischen Omentin und den kardiometabolischen Risikofaktoren vermittelt und Omentin somit unabhängig von Adiponektin wirkt.

5.2.2 Pathophysiologische Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen von Omentin und dem kardiovaskulären Risiko

Anhand dieser prospektiven Studie innerhalb der ESTHER-Kohorte lässt sich nicht beweisen, dass den geschätzten Assoziationen eine Kausalität zugrunde liegt. Zur Interpretation der Daten ist es daher sinnvoll, unsere Studienergebnisse in die derzeit verfügbare Literatur zu Omentin in Zusammenhang mit dem kardiovaskulären Risiko einzuordnen.

Ähnlich den vorgestellten Daten in Kapitel 5.1 über die potenzielle Relevanz von Omentin für die Entwicklung eines Typ-2-Diabetes stehen unsere prospektiven Daten aus dem zweiten Manuskript zahlreichen Querschnittsstudien sowie den Befunden aus zellulären Arbeiten gegenüber. In Querschnittsstudien wurden niedrigere Serumkonzentrationen in Personen mit

koronarer Herzkrankheit oder ischämischen Schlaganfall im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollgruppen ohne kardiovaskuläre Erkrankungen beschrieben [210-214, P2]. Darüber hinaus berichteten zwei weitere Studien von inversen Korrelationen zwischen Omentin und der Intima-Media Dicke [199, 216]. Diese Studienergebnisse stehen im Einklang mit Beobachtungen aus anderen Studien, die inverse Zusammenhänge zwischen Omentin und kardiovaskulären Risikofaktoren wie z.B. BMI, Taillenumfang oder Insulinresistenz darlegten [190, 207, 215]. In diesem Zusammenhang ist allerdings ebenfalls darzustellen, dass Omentin nicht als Biomarker angesehen werden kann, der in allen Studien invers mit kardiovaskulären Risikofaktoren assoziiert ist. In der ESTHER-Studie konnten keine inversen Assoziationen zwischen Omentin und BMI sowie Omentin und dem HbA1c-Wert gefunden werden [P2]. Aufgrund der dargestellten kontroversen Datenlage aus epidemiologischen Studien ist eine Betrachtung der verfügbaren zellulären Studien und somit der zugrundeliegenden Mechanismen hilfreich, um die tatsächliche Rolle von Omentin in atherosklerotischen Prozessen weiter zu charakterisieren. Wie bereits in Abschnitt 1.4.4 ausführlich dargestellt, werden dem Adipokin Omentin überwiegend positive Wirkungen zugeschrieben, indem es anti-inflammatorisch sowie anti-atherogene Effekte zeigte. Zahlreiche *in vitro*-Studien zeigten, dass Omentin zur Steigerung der Zelldifferenzierung, Reduktion der Apoptose, Förderung der Gefäßerweiterung, Hemmung von Entzündungsreaktionen, Unterdrückung der Monozytenadhäsion oder Verbesserung der kontraktilen Funktion in Endothelzellen, glatten Muskelzellen, Makrophagen oder Kardiomyozyten führt [203, 223-228, P2].

In diesem Zusammenhang ist allerdings erwähnenswert, dass sich diese protektiven Eigenschaften von Omentin bislang nicht durch *in vitro*-Studien in Adipozyten bestätigen lassen. Stattdessen sprechen die Daten aus dem dritten und vierten Manuskript eher für einen pro-inflammatorischen Phänotyp von Omentin in primären humanen Adipozyten. Hierbei reguliert Omentin Proteine, die bekanntermaßen mit einem höheren Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert sind [P3, P4]. Wie in Abschnitt 1.4.5 zusammengefasst, zeigten Untersuchungen an Mausmodellen hingegen, dass Omentin u.a. über Reduktion der Herzinfarktgröße, Abschwächung der Herzmuskelverdickung sowie über eine verzögerte Ausbildung von atherosklerotischen Läsionen der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen *in vivo* entgegenwirkt [229-231, P2].

Die subklinische Inflammation stellt einen zentralen Mechanismus in der Pathogenese des Typ-2-Diabetes sowie von kardiovaskulären Erkrankungen dar. Wie bereits in Abschnitt 5.1.3 beschrieben, können pro-inflammatorische Reaktionen mit einer anti-inflammatorischen Gegenregulation einhergehen. Demnach könnte dieses Zusammenspiel von pro- und anti-inflammatorischen Mediatoren ebenfalls eine Erklärung dafür darstellen, dass in prospektiven Studien höhere Omentin-Konzentrationen mit einer höheren Inzidenz für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert sind, obwohl anhand von präklinischen Studien und

Querschnittsanalysen Omentin eher protektive Effekte in Bezug auf das kardiovaskuläre Risiko zugeschrieben werden. Demnach wird auch in dieser Studie innerhalb der ESTHER-Kohorte vermutet, dass inflammatorische oder sonstige atherogene Faktoren, welche die Pathogenese und Progression der Atherosklerose begünstigen, die Hochregulation von zirkulierendem Omentin induzieren. Allerdings nehmen wir weiter an, dass diese Hochregulation lediglich einen wirkungslosen Versuch darstellt, um den schädlichen Effekten entgegenzuwirken und um somit die Manifestation von kardiovaskulären Erkrankungen zu verhindern. Folglich lässt sich die aufgestellte Hypothese noch dahingehend weiter ausführen, dass die ermittelten Assoziationen eine reverse Kausalität darstellen könnten, indem erhöhte Biomarkerkonzentrationen auf frühe kardiovaskuläre Symptome hindeuten. Diese aufgestellte Hypothese lässt sich dadurch untermauern, dass das relative Erkrankungsrisiko für alle vier Endpunkte größer für Studienteilnehmer war, die diese kardiovaskulären Ereignisse innerhalb der ersten vier Jahre der Nachuntersuchung ausbildeten im Vergleich zu denen, die später ein kardiovaskuläres Ereignis hatten. Eine analoge Analyse wurde bislang in keiner der anderen prospektiven Studien zu inzidentem Typ-2-Diabetes oder inzidenten kardiovaskulären Ereignissen durchgeführt, so dass der Ansatz des zweiten Manuskriptes erstmalig den Aspekt einer möglichen reversen Kausalität in einer solchen epidemiologischen Studie untersucht [P2].

In Abschnitt 5.1.3 wurde ebenfalls bereits dargestellt, dass die zellulären Wirkungen von IL-1RA im Widerspruch zu den Assoziationen aus epidemiologischen Studien stehen. Neben diesem Protein lassen sich weitere Biomarker wie Adiponektin, GDF-15 sowie IL-22 aufführen, die trotz der beschriebenen kardioprotektiven Eigenschaften in experimentellen Studien positiv mit dem kardiovaskulären Risiko in epidemiologischen Studien korrelieren [272-278, P2]. Die kontroverse Datenlage zu Omentin ist daher nicht ungewöhnlich, denn die Daten zu dieser Gruppe an Biomarkern stärken vielmehr unsere dargestellten Ergebnisse. Allerdings sind sowohl weitere epidemiologische Studien über den zeitlichen Verlauf von Omentin und pro-inflammatorischen Immunmediatoren als auch zelluläre Studien zur Untersuchung der Mechanismen, über welche die Expression von Omentin reguliert wird, notwendig, um die Hypothese über die komplexe Interaktion zwischen Omentin und pro-inflammatorischen Immunmediatoren weiter ausbauen zu können. Wie bereits in Kapitel 5.1.3 erwähnt, sollte darüber hinaus eine alternative Hypothese zur Assoziation von Omentin mit kardiometabolischen Erkrankungen nicht unberücksichtigt bleiben. Demnach kann nicht ausgeschlossen werden, dass Omentin eine pro-inflammatorische Stellung in der Entstehung eines Typ-2-Diabetes sowie von kardiovaskulären Erkrankungen einnimmt. Diese alternative Erläuterung würde in Einklang mit unseren *in vitro*- und *in silico*-Daten stehen, die auf pro-inflammatorische Eigenschaften von Omentin hinweisen und in den nachfolgenden Kapiteln ausführlich dargestellt werden.

5.3 Zelluläre Effekte von Omentin auf primäre humane Adipozyten

Die zentralen Gründe, die Effekte von Omentin in primären humanen Adipozyten zu untersuchen, liegen zum einen darin, dass Adipositas und die von Adipozyten sekretierten pro-inflammatorischen Proteine als wichtige Auslöser des Typ-2-Diabetes und seiner Komorbiditäten gelten. Zum anderen konnte aufgrund der kontroversen epidemiologischen Datenlage die pathophysiologische Bedeutung von Omentin für diese Krankheitsbilder bislang nicht eindeutig aufgezeigt werden. Hinzu kommt noch, dass *in vitro*-Daten über die Wirkungsweise von Omentin bis dato hauptsächlich in glatten Muskelzellen, Endothelzellen sowie Makrophagen veröffentlicht wurden. Die wenigen zellulären Studien in primären humanen Adipozyten sind nicht ausreichend, um die funktionelle Rolle von Omentin in der Entstehung von kardiometabolischen Erkrankungen zu verstehen. Basierend auf dem dritten und vierten Manuskript der vorliegenden Arbeit wurden daher zelluläre Studien mit primären humanen Adipozyten durchgeführt, um die bislang nicht ausreichend bekannten Wirkmechanismen, durch die Omentin metabolische und inflammatorische Prozesse in kardiometabolischen Erkrankungen regulieren könnte, zu charakterisieren.

5.3.1 Omentin vermittelt einen pro-inflammatorischen Phänotyp *in vitro*

Die Daten des dritten und vierten Manuskriptes der vorliegenden Arbeit liefern Hinweise darauf, dass Omentin eine pro-inflammatorische Rolle in primären humanen Adipozyten einnimmt. Anhand von zwei unabhängigen Analysen (Olink Proteomics-Analyse sowie Proteomanalyse) konnte erstmalig gezeigt werden, dass Omentin die Sekretion von zahlreichen Zytokinen wie u.a. IL-6 und IL-1 α als auch von Chemokinen wie u.a. MCP-1 und IL-8 *in vitro* stimuliert [P3, P4]. Es ist bereits hinreichend bekannt, dass die Infiltration von Makrophagen die Sekretion von inflammatorischen Proteinen wie IL-6, IL-8 und MCP-1 vermittelt, was wiederum einen inflammatorischen Zustand hervorbringt [279]. Zelluläre Studien in Adipozyten konnten zeigen, dass inflammatorische Zytokine wie IL-6 oder IL-1 α den Glukose- und Lipidmetabolismus u.a. über eine reduzierte mRNA-Expression des Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptors (PPAR)- γ [280] oder eine verminderte Aktivität der Lipoproteinlipase [281] beeinflussen. In einer weiteren Studie wurde der Effekt von IL-6 auf noch nicht ausdifferenzierte Adipozyten sowie reife Adipozyten *in vitro* untersucht. Auch hier hemmte eine längerfristige Behandlung mit IL-6 die Insulin-induzierte Lipogenese, den Glukose-Transport sowie den Insulinsignalweg [282]. MCP-1 als ein weiteres in dieser Arbeit hochreguliertes Protein begünstigt bekanntermaßen die Rekrutierung von Monozyten, was wiederum zur Initiation sowie zur Aufrechterhaltung des inflammatorischen Zustandes beiträgt [283]. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass sich die Sekretionsprofile von Omentin und TNF α stark überschneiden, was wiederum darauf hindeutet, dass den beiden Proteinen ähnliche Mechanismen in Bezug auf die Proteinsekretion zugrunde liegen.

Allerdings lassen sich diese Ergebnisse nicht mit den Befunden aus anderen *in vitro*-Studien vereinbaren. Im Gegensatz zu unserer Studie sprechen Studien in Makrophagen oder in Mäusen aufgrund einer gehemmten Sekretion von pro-inflammatorischen Proteinen wie IL-1 α , IL-1 β oder IL-6 für anti-inflammatorische Effekte von Omentin [284-286]. Diese widersprüchlichen Daten lassen sich möglicherweise zum einen durch art- und zellspezifische Unterschiede erklären, denn in den beschriebenen *in vitro*-Studien wurden die Untersuchungen lediglich in Mäusen durchgeführt [284-286]. Zum anderen wurde in zwei Studien ein inflammatorisches Zellmodell verwendet, so dass die Zellen nicht nur mit Omentin, sondern auch mit pro-inflammatorischen Faktoren wie z.B. LPS (Lipopolysaccharid) oder TNF α stimuliert wurden [284, 286]. In unseren Studien wurden primäre humane Adipozyten hingegen lediglich mit rekombinantem Omentin behandelt und es erfolgten keine zusätzlichen Stimulationen mit pro-inflammatorischen Proteinen.

Darüber hinaus ist es möglich, dass die Verwendung höherer Omentin-Konzentrationen sowie unterschiedliche Behandlungszeiten zu den erwähnten Widersprüchen im Sekretionsprofil führten. Die Studie von Rao et al. zeigte, dass Omentin in einer supraphysiologischen Konzentration von 300 $\mu\text{g/ml}$ die Produktion von pro-inflammatorischen Faktoren in TNF α -stimulierten Makrophagen hemmte [286]. Im verwendeten Mausmodell von Song et al. erfolgten über einen Zeitraum von acht Wochen zunächst Omentin-Verabreichungen in einem zweiwöchigen Rhythmus. Die Messung der pro-inflammatorischen Proteine folgte erst zwei Wochen nach der letzten Omentin-Injektion [285]. Für unsere zellulären Arbeiten wurden deutlich niedrigere Konzentrationen von 500 ng/ml und 2000 ng/ml ausgewählt, um möglichst unter physiologischen Bedingungen die Effekte von Omentin in primären humanen Adipozyten *in vitro* zu ermitteln. Außerdem wurden die Zellen für 24 Stunden behandelt und unmittelbar danach erfolgte die Bestimmung der Inflammationsmarker in den Überständen der Adipozyten. Vergleichbare Sekretionsanalysen in Adipozyten liegen derzeit nicht vor. Stattdessen zeigte lediglich eine *in vitro*-Studie in reifen Adipozyten, dass die Omentin-Behandlung zu einer Reduktion der Genexpression von TNF α führte. Allerdings beschränkte sich diese Studie auf die Expression von nur drei Genen. Expressionsveränderungen für die zwei weiteren Gene IL-6 und IL-1 α konnten in dieser Studie nicht nachgewiesen werden [287, P3].

Neben der Sekretion von pro-inflammatorischen Proteinen liefern die *in silico*-Analysen und Western-Blot Analysen weitere Hinweise darauf, dass Omentin einen pro-inflammatorischen Phänotyp *in vitro* induziert. Mittels der *in silico*-Analysen wurden als potenzielle *Upstream Regulatoren* pro-inflammatorische Zytokine wie u.a. TNF α , IL-18 und IL-1 β identifiziert. Diese Proteine deuten auf eine pro-inflammatorische Aktivität hin, da sie bekanntermaßen über die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF κ B sowie der inflammatorischen Kinasen p38 und ERK Entzündungsreaktionen auslösen [288-290]. Die Tatsache, dass wir diesen Transkriptionsfaktor und die zwei Kinasen ebenfalls als potenzielle Regulatoren charakterisiert

haben, spricht für eine Beteiligung der NFκB-, ERK- und p38-Signalwege am Omentin-regulierten Sekretionsmuster. Aufgrund der Identifikation der Transkriptionsfaktoren NFκB, RelA (Untereinheit von NFκB, auch bekannt als p65) und SP1, der Transmembranrezeptoren *toll-like receptor* (TLR) 3 und TLR4 sowie des NFκB Inhibitors IκBKB (*inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta*) scheint es durchaus plausibel, dass der NFκB-Signalweg eine zentrale Rolle in der Wirkungsweise von Omentin einnimmt [P3, P4]. Im kanonischen NFκB-Signalweg kann die Signalkaskade durch TLR initiiert werden [291]. Der Transkriptionsfaktor SP1 reguliert den Transkriptionsfaktor RelA, welcher wiederum als eine Untereinheit von NFκB an der Heterodimer-Bildung beteiligt sein kann [292, P4]. Die Aktivierung des kanonischen NFκB-Signalweges kann demnach auch erfolgen, indem die Untereinheit RelA post-translational modifiziert wird. Diese post-translationale Modifikation kann wiederum durch Zytokine wie TNFα oder IL-1 erfolgen [293, P3].

Diese Beteiligung des NFκB-Signalweges an der Sekretion von pro-inflammatorischen Proteinen lässt sich über die im dritten Manuskript durchgeführten Quantifizierungen auf Proteinebene bekräftigen. Hierbei konnte mit Hilfe von Western-Blot Analysen nachgewiesen werden, dass Omentin die p65-Untereinheit von NFκB aktiviert. Der Transkriptionsfaktor NFκB gilt als zentraler Regulator von Immun- und Entzündungsreaktionen, indem er die Expression von Genen induziert, die verschiedene pro-inflammatorische Zytokine und Chemokine codieren [291, 294, P3]. Darüber hinaus konnten bereits einige *in vitro*-Studien darlegen, dass der NFκB-Signalweg die Freisetzung von einigen pro-inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen in Adipozyten und Fettgewebsexplantaten vermittelt [295-297]. Die Inhibition des NFκB-Signalweges reduzierte die Freisetzung sowohl von *C-X-C motif ligand 10* (CXCL10) in 3T3-L1 Adipozyten [297], von IL-1 aus humanem Fettgewebe [296] als auch von MCP-1 aus Explantaten des viszeralen Fettgewebes adipöser Frauen [295]. Demnach scheint es plausibel, dass der NFκB-Signalweg teilweise den Omentin-vermittelten Sekretionsprozess in primären humanen Adipozyten vermittelt. Darüber hinaus konnten wir nachweisen, dass Omentin die zwei weiteren inflammatorischen Signalwege p38 und ERK1/2 *in vitro* induziert. Über die Umwandlung umfangreicher extrazellulärer Stimuli und die anschließende Signalweiterleitung sind diese MAP-Kinasen ebenfalls an zahlreichen zellulären Prozessen wie u.a. Proliferation, Stressreaktionen und Inflammation beteiligt [298]. Die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen gilt als eine Hauptfunktion von p38 [298, 299, P3]. Diese Regulation der Zytokinexpression verläuft u.a. über die Modulation von Transkriptionsfaktoren wie NFκB [298, 299]. In diesem Zusammenhang ist nochmal erwähnenswert, dass die Aktivierung dieser drei Signalwege eine positive Rückkopplung hervorruft [288-290]. Der p38-Signalweg reguliert die Produktion von Proteinen wie IL-1β und TNFα, welche wiederum die Signaltransduktion über p38 induzieren und somit den pro-inflammatorischen Zustand aufrechterhalten [300, P3].

Basierend auf den *in vitro*- und *in silico*-Analysen sind in Abbildung 5 mögliche Signalwege stark vereinfacht dargestellt, über die die Omentin-induzierte Sekretion von pro-inflammatorischen Proteinen ablaufen könnte. In diesem Zusammenhang sollte noch einmal erwähnt werden, dass bisher kein Rezeptor für Omentin bekannt ist.

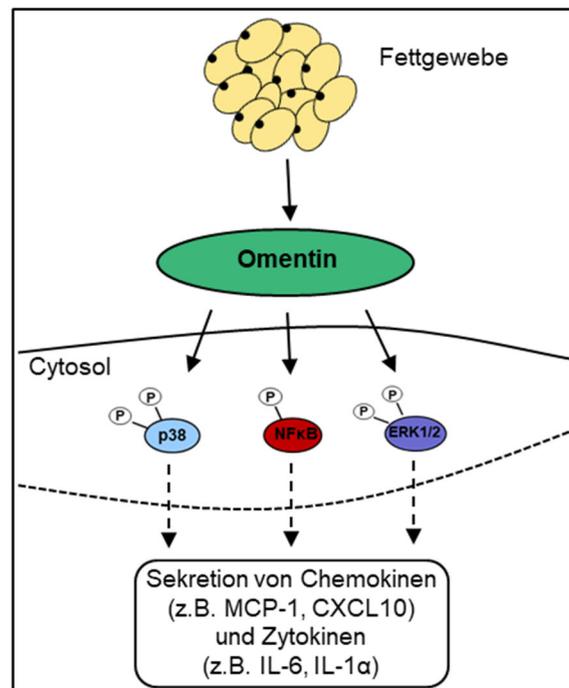


Abbildung 5: Omentin-Signalweg, der die Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen in primären Adipozyten vermitteln könnte (basierend auf den durchgeführten *in vitro*-Studien und *in silico*-Analysen aus dem dritten und vierten Manuskript der vorliegenden Arbeit). Omentin induziert die inflammatorischen Signalwege NFκB, p38 und ERK1/2, welche wiederum an der Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen beteiligt sind. CXCL10: *C-X-C motif ligand 10*; ERK1/2: *extracellular-signal regulated kinase 1/2*; IL-6: Interleukin-6; MCP-1: *monocyte chemoattractant protein-1*; NFκB: *nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells*; P: Phosphorylierung.

Wie bereits oben dargelegt, konnten keine *in vitro*-Studien gefunden werden, die das beschriebene Sekretionsprofil von Omentin untermauern könnten. In Bezug auf die Rolle der inflammatorischen Signalwege NFκB, p38 und ERK1/2 in der Wirkungsweise von Omentin liefern die derzeit verfügbaren *in vitro*-Studien ebenfalls eine entgegengesetzte Datenlage. Wie bereits in Kapitel 1.4.4 beschrieben, führte Omentin zur Hemmung des NFκB-Signalweges und der MAPK-Signalwege JNK, ERK und p38 in humanen Endothelzellen oder Muskelzellen aus der Ratte, was wiederum mit anti-inflammatorischen, anti-atherogenen sowie kardioprotektiven Effekten verbunden war [225-227].

Wie bereits oben angedeutet, kann dieses Missverhältnis zwischen unseren *in vitro*-Studien und anderen mechanistischen *in vitro*-Analysen durch gewebs- und zellspezifische Unterschiede zustande gekommen sein. Darüber hinaus konnten weitere Abweichungen in der Versuchsdurchführung wie u.a. eine niedrigere Omentin-Dosis, eine kürzere Behandlungsdauer oder eine zusätzliche Stimulation mit pro-inflammatorischen Faktoren im Vergleich zu unseren *in vitro*-Studien vermerkt werden. In zwei Studien betrug die Omentin-Konzentration maximal 300 ng/ml und die Behandlung der Zellen wurde hierbei für eine Dauer von maximal einer Stunde durchgeführt. Zusätzlich wurde der hemmende Effekt von Omentin auf die Signalwege nicht unmittelbar nach dieser Omentin-Behandlung ermittelt, sondern erst im Anschluss an die Stimulation mit TNF α [226, 227, P3]. In beiden erwähnten Studien wurde ebenfalls der Effekt von Omentin auf inflammatorische Signalwege ohne eine zusätzliche pro-inflammatorische Stimulation untersucht [226, 227]. Allerdings zeigte die Behandlung der Muskelzellen mit Omentin in Konzentrationen von 30-300 ng/ml für 20 Minuten keine Effekte auf die phosphorylierte Proteinmenge von sowohl NF κ B als auch von p38 im Vergleich zu den unbehandelten Zellen [227]. In der erwähnten *in vitro*-Studie mit Endothelzellen wurde die Aktivität von NF κ B und ERK ebenfalls nicht durch die einstündige Behandlung mit 300 ng/ml Omentin beeinflusst. Auf Proteinebene ließen sich zudem keine Veränderungen der Menge an inhibitorischen I κ B α (*nuclear factor kappa-B inhibitor alpha*) Proteinen nach der Omentin-Inkubation von einer Stunde nachweisen [226]. Zusammenfassend konnten wir im dritten und vierten Manuskript der vorliegenden Arbeit zeigen, dass Omentin einen pro-inflammatorischen Zustand in Adipozyten hervorruft. Die Tatsache, dass wir diese pro-inflammatorischen Effekte von Omentin auf verschiedenen Ebenen nachweisen konnten, untermauert diesen pro-inflammatorischen Phänotyp von Omentin in Adipozyten. Neben den pro-inflammatorischen Effekten konnten wir allerdings aufgrund der ausgeprägten Omentin-induzierten Freisetzung von TNFAIP-6 auch Hinweise für eine endogene Gegenregulation auf zellulärer Ebene finden. Da die Produktion und Sekretion von TNFAIP-6 erst durch inflammatorische Faktoren erfolgt und zudem als gewebeschützendes und anti-inflammatorisches Protein beschrieben wird [301], nehmen wir derzeit an, dass TNFAIP-6 versucht die pro-inflammatorischen Wirkungen von Omentin in primären humanen Adipozyten *in vitro* zu neutralisieren [P4]. In Kapitel 5.3.3 wird ausführlicher beschrieben, wie TNFAIP-6 diese Kompensation bewerkstelligen könnte. Wie bereits diskutiert, stehen diese Daten allerdings nicht in Einklang mit anderen *in vitro*-Studien und bekräftigen bisher ebenso wenig unsere epidemiologischen Befunde aus den ersten beiden Manuskripten. In diesem Zusammenhang sollte nochmals betont werden, dass bis dato keine vergleichbare Studie in Adipozyten veröffentlicht wurde. Der derzeitige Kenntnisstand erlaubt demnach keine abschließende Beurteilung der Zusammenhänge zwischen unseren epidemiologischen Daten und unseren zellulären Daten sowie keine definitive Aussage über die tatsächlichen Eigenschaften von Omentin.

Unsere zellulären Daten des dritten und vierten Manuskriptes reichen zwar nicht aus, um von einer systemischen Wirkung sprechen zu können, dennoch erweitern diese zellulären Studien das Verständnis über die lokalen Wirkungen von Omentin im Fettgewebe.

5.3.2 Omentin-regulierte Proteine stehen in Verbindung mit Diabetes und kardio-vaskulären Erkrankungen

Allerdings zeichnen sich die sekretierten Proteine nicht nur durch ihre pro-inflammatorischen Eigenschaften aus, sondern - wie bereits in Kapitel 1.3 aufgeführt - stehen einige dieser Biomarker wie IL-6, IL-8, MIP-1 α (*macrophage inflammatory protein-1 α*), VEGFA (*vascular endothelial growth factor A*), CSF-1 (*macrophage colony-stimulating factor-1*) und MCP-1 in Verbindung mit einem höheren Risiko für Typ-2-Diabetes und kardiovaskuläre Erkrankungen in Kohorten-Studien und/oder Meta-Analysen [147, 270, 302-305, P3]. In der prospektiven, populationsbasierten MONICA/KORA Augsburg Fall-Kohorten-Studie wurden erhöhte Serumkonzentrationen der Chemokine MCP-1, IL-8 und CXCL10 bei Patienten, die einen Typ-2-Diabetes während der Nachbeobachtungszeit entwickelten, nachgewiesen. Nach multivariater Adjustierung konnte jedoch nur noch eine positive Assoziation zwischen den Serumspiegeln von MCP-1 und inzidentem Typ-2-Diabetes ermittelt werden [302]. Studienergebnisse einer *in vitro*-Studie und Untersuchungen an Mausmodellen stützen die Befunde dieser epidemiologischen Studie zu MCP-1 [283, 306, 307]. In differenzierten Adipozyten reduzierte MCP-1 die Expression von adipogenen Genen und die Insulin-vermittelte Glukoseaufnahme [283]. Tierstudien fanden, dass die Verabreichung von MCP-1 eine Insulinresistenz in Mäusen hervorruft [306] und ein *C-C motif chemokine receptor-2*-Mangel in adipösen Mäusen sowohl den Makrophagen-Gehalt reduziert, das Inflammationsprofil des Fettgewebes abschwächt als auch die Insulinsensitivität verbessert [307]. Darüber hinaus wurde eine Hochregulation der Genexpression von zahlreichen C-C Chemokinen wie MCP-1, MCP-2, MCP-3, CCL (*C-C-motif ligand*) 3 und CCL11 im subkutanen und viszeralen Fettgewebe von adipösen Patienten, welche eine erhöhte Insulinresistenz aufzeigten, beschrieben [308]. CXCL5 und CXCL1 sind weitere Proteine, die in unseren *in vitro*-Studien durch Omentin hochreguliert wurden und bereits in Verbindung mit chronisch entzündlichen Prozessen gebracht wurden. Es wurden erhöhte Serumkonzentrationen von CXCL1 in Patienten mit Typ-2-Diabetes beschrieben [309] und in einer weiteren Studie waren erhöhte Serumkonzentrationen von CXCL1 und CXCL5 mit der Entstehung von Adipositas und Hyperglykämie in Mäusen assoziiert [310]. In der gleichen Studie beeinflussten diese Chemokine synergistisch die Insulfunktion, indem die kombinierte Behandlung zur Abnahme der intrazellulären Calcium-Konzentration führte [310]. Die Behandlung von Mäusen mit CXCL5 hemmte die Insulin-stimulierte Glukoseaufnahme in isolierten Muskelzellen und die Inhibition des CXCL5-Signalweges verbesserte die Insulinsensitivität in insulinresistenten

Mäusen [311]. Darüber hinaus konnten wir eine erhöhte Sekretion des Adipokins *secreted frizzled-related protein 4* (SFRP4) nach Omentin-Behandlung nachweisen. In Betazellen reduzierte rekombinantes SFRP4 die Glukose-stimulierte Insulinsekretion und Serumkonzentrationen von SFRP4 waren mit erhöhten Nüchtern-Glukosewerten, reduziertem Dispositionsindex und gestörter Insulinsensitivität assoziiert [312, P4].

Abgesehen von den bereits erwähnten Biomarkern am Anfang dieses Kapitels lassen sich weitere Sekretionsprodukte in Zusammenhang mit der Pathogenese von kardiovaskulären Erkrankungen bringen. Höhere Serumkonzentrationen der löslichen Formen der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und VCAM-1 sind mit einem höheren Risiko für koronare Herzkrankheiten assoziiert [313, P4].

Neben diesen Adhäsionsmolekülen wurden ebenfalls die Matrix-Metalloprotease 1 (MMP1) und 10 in unseren *in vitro*-Studien von primären humanen Adipozyten freigesetzt. Matrix-Metalloproteasen sind u.a. an dem Gewebeumbau und Reparaturvorgängen beteiligt und erhöhte Konzentrationen an Matrix-Metalloproteasen wie z.B. MMP1, MMP2, MMP7 und MMP9 wurden bereits in Patienten mit atherosklerotischen Veränderungen beschrieben [314-316].

Darüber hinaus konnten wir nachweisen, dass Omentin ebenfalls zahlreiche Proteine herunterreguliert, die wiederum überwiegend zelluläre Prozesse beeinflussen. Die herunterregulierten Proteine *eukaryotic translation initiation factor 3 subunit D* (EIF3D) und *eukaryotic translation initiation factor 2 (eIF2) alpha kinase activator homologue GCN1* sind beispielsweise an der Proteinsynthese beteiligt [317, 318]. In diesem Zusammenhang zeigte die *Pathway* Analyse, dass zwanzig der Omentin-regulierten Proteine einschließlich EIF3D dem Signalweg „EIF2 Signalweg“ zugeordnet werden können. Hierbei wurden neunzehn Proteine herunterreguliert, was wiederum für die Inhibition dieses Signalweges spricht. Darüber hinaus finden sich sechs dieser zwanzig Omentin-regulierten Proteine in dem Signalweg „Regulation des eIF4 und p70S6K (70-kDa ribosomale S6 Kinase) Signalweges“ wieder und sind ebenfalls herunterreguliert. Beide Signalwege weisen hauptsächlich ribosomale Proteine auf [P4], welche bekanntermaßen u.a. für die Translationsinitiation und Proteinsynthese erforderlich sind [319]. Die verminderte Freisetzung dieser ribosomalen Proteine könnte auf eine Aktivierung der „*Integrated Stress Response*“ (ISR) hindeuten. Dieser Signalweg wird als Reaktion auf diverse Stressfaktoren wie u.a. ER-Stress angeschaltet, um die zelluläre Homöostase wiederherzustellen. Die eIF2 α Phosphorylierung stellt hierbei den initialen Schritt zur Aktivierung der ISR dar und die aktivierte ISR resultiert schließlich in einer Hemmung der Proteinsynthese [320, 321].

Die Identifizierung der Signalwege „Komplementsystem“ und „Akut-Phase-Reaktion“ bekräftigt unsere in Kapitel 5.3.1 beschriebene Annahme, dass Omentin einen pro-inflammatorischen Zustand in primären humanen Adipozyten hervorruft.

Die Akut-Phase-Antwort, die bekanntermaßen als Reaktion des Körpers auf zellulären Stress gilt, wird durch pro-inflammatorische Zytokine wie z.B. IL-6 oder TNF α induziert. Im Zuge der Akut-Phase-Reaktion kommt es zu Konzentrationsänderungen von Plasmaproteinen (den sogenannten Akut-Phase-Proteinen) wie z.B. CRP oder Komplementfaktor C3 [322, 323]. In unserer Studie wurden Akut-Phase-Proteine wie die Komplementfaktoren C3, H und B nachgewiesen, die im Zuge der Immunantwort hochreguliert werden und entsprechend ihrer Funktion dem Komplementsystem zugeordnet werden können [322]. Den erwähnten Komplementfaktoren C3, H und B werden ebenfalls pro-inflammatorische Effekte zugeschrieben [324, 325, P4].

In Bezug auf diesen pro-inflammatorischen Zustand wurde in Kapitel 5.3.1 bereits angedeutet, dass der NF κ B-Signalweg an der Omentin-vermittelten Sekretion pro-inflammatorischer Proteine beteiligt sein könnte. Die Identifizierung des Signalweges „Protein Ubiquitinierung“ untermauert diese Annahme, denn die Aktivierung des kanonischen NF κ B-Signalweges erfordert nach Phosphorylierung von I κ B die Ubiquitinierung dieser inhibitorischen Untereinheiten, welche anschließend durch das 26S-Proteasom proteolytisch abgebaut werden [326]. Darüber hinaus ergab die Pathway Analyse, dass einige der Omentin-hochregulierten Proteine in dem Signalweg „Hemmung der Matrix-Metalloproteinasen“ überrepräsentiert sind. In diesem Signalweg wirken u.a. proteolytische Enzyme wie MMP2, welche die Verfügbarkeit und Aktivität von inflammatorischen Chemokinen und Zytokinen beeinflussen können [327]. Die Hochregulation von TIMP1 (engl. *tissue inhibitor of metalloproteinase-1*) kann durch pro-inflammatorische Zytokine wie TNF α , IL-6 oder IL-1 β erfolgen [328, 329, P4]. Demnach unterstützt auch die Identifizierung dieses Signalweges die pro-inflammatorische Aktivität von Omentin in primären humanen Adipozyten.

Die Pathway Analyse lieferte allerdings nicht nur Hinweise darauf, dass Omentin zellulären Stress und ein pro-inflammatorischen Zustand in primären Adipozyten hervorruft, sondern spricht ebenfalls dafür, dass Omentin die Interaktion zwischen den Geweben fördert. Diese Annahme basiert zum einen auf der Identifizierung des Signalweges „Leberfibrose/Aktivierung der hepatischen Sternzellen“. In diesem Signalweg konnten u.a. die Adhäsionsmoleküle VCAM-1 und ICAM-1 nachgewiesen werden, welche bereits in einigen Studien als vielversprechende Marker für pathologische Prozesse wie z.B. eine hepatische Fibrose [330] oder Lebermetastasen beschrieben wurden [331] [P4].

Abgesehen von den Proteinen, die in diesem Signalweg überrepräsentiert sind, deuten auch weitere Sekretionsprodukte der Omentin-behandelten Adipozyten wie MCP-1 auf mögliche Interaktionen zwischen dem Fettgewebe und anderen Geweben hin.

In einer Studie hemmte das Sekretionsprodukt MCP-1 bereits in Konzentrationen, die unter dem physiologischen Bereich lagen, den Insulinsignalweg und die Glukoseaufnahme in humanen Skelettmuskelzellen [134].

LIMS1 (engl. LIM und *senescent cell antigen-like-containing domain protein 1*) ist ein weiteres Protein, das die Adipozyten nach Omentin-Behandlung sekretierten. LIMS1 kann die Funktion der Nierentubuli beeinflussen [332], so dass dieses Adipozytokin ebenfalls als Regulator zwischen den Geweben fungieren könnte [P4].

5.3.3 Hochregulation des anti-inflammatorischen Proteins TNFAIP-6 liefert Hinweise auf eine Gegenregulation

Anhand der im vierten Manuskript durchgeführten Proteomanalyse konnten wir zudem zeigen, dass nach Omentin-Behandlung TNFAIP-6 unter den sekretierten Proteinen am stärksten reguliert wurde. Dies ist erwähnenswert, denn TNFAIP-6 stellt ein sekretorisches Protein mit anti-inflammatorischen und gewebeschützenden Eigenschaften dar. Die Expression von TNFAIP-6 erfolgt größtenteils nicht konstitutiv, sondern wird erst durch inflammatorische Stimuli eingeleitet [P4]. Zusätzlich wurde beschrieben, dass dieses Protein mit zahlreichen Liganden wie u.a. Chemokinen (z.B. CCL2, CCL5, CXCL4, CXCL8), knochenmorphogenetischen Proteinen (z.B. BMP2 [engl. *bone morphogenetic protein 2*]), Glykosaminoglykanen (z.B. Heparin) oder anderen Matrixproteinen (z.B. Pentraxin 3) interagiert [301]. Die Bindung von TNFAIP-6 an Chemokine führt dazu, dass diese Chemokine keine Bindung mehr mit Glykosaminoglykanen und der endothelialen Zelloberfläche eingehen können. Folglich kann die Funktion dieser Chemokine eingeschränkt werden [301, 333]. In diesem Zusammenhang soll ebenfalls diskutiert werden, dass in unserer *in vitro*-Studie Pentraxin 3 als Interaktionspartner hochreguliert wurde und CXCL5 das am zweitstärksten hochregulierte Protein war. Wie bereits beschrieben, übt TNFAIP-6 seine anti-inflammatorische Wirkung unter anderem über Wechselwirkungen mit Chemokinen aus [P4]. Insgesamt sind bisher zehn Chemokine als TNFAIP-6-Interaktionspartner bekannt [301], wobei es möglich ist, dass auch CXCL5 einen potenziellen Bindungspartner darstellt. Demnach liegt die Hypothese nahe, dass das anti-inflammatorische Protein TNFAIP-6 als Antwort auf den durch Omentin-induzierten pro-inflammatorischen Zustand hochreguliert wird, um dann diesen pro-inflammatorischen Effekten entgegenzuwirken [P4].

Wie bereits in Kapitel 5.3.1 erläutert, lassen sich unsere *in vitro*-Daten nicht mit unseren epidemiologischen Befunden vereinbaren. Diese erwähnte endogene Gegenregulation würde lediglich in Einklang mit den Ergebnissen aus Querschnittsstudien, nicht aber mit den Daten aus prospektiven Analysen stehen. Dennoch beschreibt diese Proteomanalyse erstmalig, dass Omentin die Hochregulation des anti-inflammatorischen Proteins TNFAIP-6 induziert und deutet auf eine mögliche Interaktion zwischen TNFAIP-6 und dem Chemokin CXCL5 und somit auf eine endogene Gegenregulation hin. Weitere Studien sind notwendig, um die Funktionen von TNFAIP-6 sowohl mit als auch ohne Interaktionspartner detaillierter charakterisieren und darlegen zu können, ob diese Proteine die Aktivität von Omentin regulieren [P4].

5.4 Stärken und Schwächen

Im Folgenden wird kurz auf die Stärken und Schwächen der vier Studien hingewiesen. Die erste Studie innerhalb der KORA F4/FF4-Studie hat im Wesentlichen folgende Stärken. Zunächst ist hierbei die Anlegung als prospektive Studie, die Verwendung von oGTT Daten sowohl der Ausgangs- als auch Nachuntersuchungen zur Einschätzung möglicher Veränderungen des Glukosetoleranzstatus sowie die Adjustierung für zahlreiche potenzielle Störgrößen zu nennen. Eine weitere Stärke dieser Studie ist die Bestimmung der Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und Veränderungen von glykämischen Parametern sowie inzidentem Typ-2-Diabetes. Kritisch zu bewerten ist hingegen die Datenerhebung in Form einer Beobachtungsstudie sowie die Einbeziehung von lediglich europäischen Personen in der Altersgruppe von 62 bis 81 Jahren. Folglich lassen sich die Studienergebnisse weder auf Personen außereuropäischer Herkunft noch auf eine jüngere Bevölkerung verallgemeinern [P1].

Das zweite Manuskript weist als Stärken ebenfalls das prospektive Studiendesign, die lange Nachbeobachtungszeit von 14 Jahren, die umfangreiche Adjustierung für kardiometabolische Risikofaktoren sowie die Auswahl einer Studienkohorte, die repräsentativ für die beschriebene Personengruppe in Deutschland ist, auf. Darüber hinaus lag bis dato keine vergleichbare Studie vor, die die Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen in Personen mit Typ-2-Diabetes untersuchte. Die Verwendung des kombinierten Endpunktes als primärer Endpunkt bringt ebenfalls verschiedene Vorteile wie u.a. eine geringere Stichprobengröße und die Möglichkeit, die Bedeutung der Omentin-Konzentrationen für verschiedene klinisch relevante Ereignisse zu erfassen, mit sich [P2]. Letztlich sollte nicht unerwähnt bleiben, dass niedrige Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten (3,4% und 7,1%) erzielt werden konnten, was wiederum eine gute Reproduzierbarkeit und Präzision der ELISAs widerspiegelt.

Diesen Stärken stehen aber auch Schwächen entgegen. Zum einen wurden nur Studienteilnehmer mit einer Diabetesdiagnose nach dem 40. Lebensjahr eingeschlossen, um mögliche Personen mit Typ-1-Diabetes auszuschließen. Durch diese Vorgehensweise und insbesondere aufgrund nicht erfolgter Auto-Antikörper-Messungen ist es möglich, dass in dieser Studie wenige Personen mit früher Typ-2-Diagnose ausgeschlossen und vereinzelte Patienten mit Typ-1-Diabetes hingegen eingeschlossen wurden. Wie bereits als Kritikpunkt für die erste Studie aufgeführt wurde, gelten diese erhobenen Daten lediglich für Personen im Alter von 50 bis 74 Jahren mit überwiegend deutscher Abstammung.

Darüber hinaus erfolgte die Messung von Omentin lediglich zu einem Zeitpunkt und aufgrund fehlender Daten zum Taillenumfang der Studienteilnehmer konnte die abdominale Adipositas nicht als Einflussfaktor innerhalb dieser Studie berücksichtigt werden [P2].

Die für das dritte und vierte Manuskript durchgeführten *in vitro*-Studien weisen einige gemeinsame Stärken sowie Schwächen auf. Zum einen ist die Verwendung von primären humanen Zellen im *in vitro*-Modell vorteilhaft, da primäre humane Zellen am wenigsten verändert wurden und somit am ehesten den physiologischen Bedingungen entsprechen [334]. Außerdem wurden die Zellen nur mit rekombinantem Omentin behandelt. Demnach erfolgten keine zusätzlichen Stimulationen mit pro-inflammatorischen Proteinen, so dass sich die Daten dieser *in vitro*-Experimente auf spezifische Effekte von Omentin zurückführen lassen. Weitere Stärken sind die Verwendung von physiologischen Omentin-Konzentrationen und die Durchführung von sowohl *in silico*- als auch *in vitro*-Methoden [P3, P4]. Insbesondere die Proteomanalyse ermöglichte die Analyse des ganzen Sekretoms von primären humanen Adipozyten und stellt somit durch die Analyse von über 3500 sekretierten Proteinen eine umfangreiche Analyse dar [P4]. Abschließend werden die Daten des dritten und vierten Manuskriptes dadurch abgeschwächt, dass sich die *in vitro*-Daten lediglich auf primäre Zellen kaukasischer Spender beschränken und sich somit nicht auf andere ethnische Gruppen übertragen lassen. Außerdem kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass unsere *in vitro*-Systeme eine geringe Menge anderer Zellen wie z.B. Präadipozyten oder Endothelzellen aufgewiesen haben [P3, P4].

6. SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK

Im Fokus dieser Dissertation lag die Bedeutung des Adipokins Omentin für die Entstehung eines Typ-2-Diabetes und von kardiovaskulären Erkrankungen. Zuvor wurde diesem Adipokin zwar bereits eine Beteiligung an der Entwicklung verschiedener Krankheitsbilder zugeschrieben, dennoch ließen die widersprüchlichen Befunde aus epidemiologischen Analysen und *in vitro*-Studien keine konkrete Aussage über die pathophysiologischen Zusammenhänge von Omentin zu.

In unseren prospektiven Studien innerhalb der KORA F4/FF4- und ESTHER-Kohorten konnten wir positive Assoziationen zwischen den Serumkonzentrationen von Omentin und dem Diabetesrisiko sowie der Inzidenz von kardiovaskulären Erkrankungen nachweisen. Entscheidend ist hierbei, dass wir erstmalig die Hypothese einer anti-inflammatorischen Gegenregulation vor der Manifestation des Typ-2-Diabetes und von kardiovaskulären Erkrankungen aufstellten. Diese Gegenregulation als Antwort auf pro-inflammatorische Faktoren liefert einen möglichen Erklärungsansatz dafür, wie sich die inversen Assoziationen aus Querschnittsstudien mit den positiven Assoziationen aus prospektiven Analysen vereinbaren lassen könnten. Zukünftige zelluläre Studien müssten nun zeigen, ob pro-inflammatorische Zytokine, die in positiver Beziehung zum Diabetesrisiko und kardiovaskulären Risiko stehen, die Hochregulation von Omentin hervorrufen. Darüber hinaus spiegelt sich die Neuheit unserer Daten des zweiten Manuskripts dadurch wieder, dass erstmalig Untersuchungen zum kardiovaskulären Risiko in Personen mit Typ-2-Diabetes durchgeführt wurden.

Unsere *in vitro*- und *in silico*-Daten in primären humanen Fettzellen leisten ebenfalls einen Beitrag zur Fragestellung, da es in diesem Umfang bisher nur wenige Studien gibt, die zur Charakterisierung der Wirkungsweise von Omentin im Fettgewebe beitragen. Der aktuelle Wissensstand beschränkt sich größtenteils auf die funktionelle Rolle von Omentin in anderen Zellen wie Muskelzellen, Endothelzellen oder Makrophagen.

Unsere *in vitro*-Daten mit primären humanen Adipozyten legten nahe, dass Omentin über die Sekretion spezieller Adipokine sowohl einen pro-inflammatorischen Phänotyp induziert, zellulären Stress verursacht als auch als Regulator zwischen den Geweben fungieren könnte. Allerdings konnte die Rolle von Omentin bisher noch nicht im Detail charakterisiert werden, so dass weitere Studien notwendig sind. Um die zugrundeliegenden Mechanismen von Omentin weiter aufzudecken, könnten *in vitro*-Experimente mit NFκB-, p38- und/oder ERK-Inhibitoren durchgeführt werden. Dadurch ließe sich gegebenenfalls unsere Annahme, dass die inflammatorischen Signalwege NFκB, p38 und/oder ERK an der Omentin-vermittelten Sekretion pro-inflammatorischer Proteine beteiligt sein könnten, weiter bekräftigen.

Darüber hinaus sollten insbesondere Experimente mit Ko-Kulturen von Adipozyten und insulinempfindlichen Zellen wie Leber- oder Muskelzellen oder Behandlungen dieser insulinempfindlichen Zellen mit Adipozyten-konditioniertem Medium erfolgen, um die Aspekte der Interaktion zwischen Adipozyten und anderen Geweben weiter aufzudecken. In diesem Zusammenhang könnte erforscht werden, ob die nach Omentin-Behandlung sekretierten Adipokine an der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen und/oder Stoffwechselstörungen in insulinempfindlichen Geweben beteiligt sind. Zusätzlich sollte das Wissen über Omentin als möglicher Stressor erweitert werden, denn unsere *Ingenuity® Pathway* Analyse deutete durch Identifizierung des Signalweges „EIF2 Signalweg“ auf eine Reduktion der Proteinbiosynthese hin. Dies spricht wiederum dafür, dass die Omentin-behandelten Adipozyten eine stressbedingte zelluläre Reaktion auslösen. Es ist denkbar, dass diese Stressreaktion durch die Induktion der „*Integrated Stress Response*“ (ISR) bewerkstelligt wird. Zur Überprüfung dieser Annahme bietet sich demnach an, den Einfluss von Omentin auf den Aktivitätszustand von eIF2 auf zellulärer Ebene zu erforschen, denn die Phosphorylierung von eIF2 α initiiert die ISR. Abgesehen von einer reduzierten Proteinbiosynthese löst diese Phosphorylierung anschließend eine erhöhte Translation von ISR-spezifischen und stressbedingten mRNA Transkripten aus [318], so dass eine Expressionsmessung dieser stressspezifischen Gene wie z.B. ATF4 (*activating transcription factor 4*) oder CHOP (*C/EBP-homologous protein*) ebenfalls zweckmäßig wäre. Letztlich konnten wir durch die Omentin-vermittelte Sekretion von TNFAIP-6 möglicherweise ein vielversprechendes Protein nachweisen, das durch Interaktion mit anderen Chemokinen den pro-inflammatorischen Effekten von Omentin entgegenwirken könnte. Um diese Hypothese über ein mögliches Zusammenspiel zwischen Omentin und TNFAIP-6 allerdings weiter ausbauen zu können, sind ebenfalls weitere *in vitro*-Studien erforderlich.

Zusammenfassend erweitern die Daten der vorliegenden Dissertation den Kenntnisstand über die Rolle von Omentin für inflammatorische Prozesse, die wiederum die Pathogenese von Typ-2-Diabetes und kardiovaskulären Erkrankungen begünstigen.

Allerdings ergeben sich aus den Daten der vorliegenden Arbeit zwei sich gegenüberstehende Hypothesen über die potenzielle Rolle von Omentin. Zum einen lieferten unsere epidemiologischen Daten Hinweise darauf, dass der Anstieg der zirkulierenden Omentin-Konzentration als eine anti-inflammatorische Antwort auf einen bestehenden pro-inflammatorischen Zustand angesehen werden könnte. Als anti-inflammatorischer Gegenregulator versucht Omentin demnach die Entstehung von Typ-2-Diabetes und/oder von kardiovaskulären Erkrankungen abzuwenden.

Neben dieser kompensatorischen Gegenregulation stützten unsere *in vitro*- und *in silico*-Analysen die zweite Hypothese über den Omentin-induzierten pro-inflammatorischen Zustand in primären humanen Adipozyten.

Dieser pro-inflammatorische Phänotyp wurde von Omentin über die Sekretion von zahlreichen pro-inflammatorischen Proteinen und die Aktivierung der inflammatorischen Signalwege NFκB, p38 und ERK vermittelt. Die Tatsache, dass pro-inflammatorische Reaktionen ebenfalls mit anti-inflammatorischen Mechanismen einhergehen, bekräftigt auch die zweite aufgestellte Hypothese. Auf zellulärer Ebene konnten wir bekanntlich nachweisen, dass das Protein TNFAIP-6, das erst durch inflammatorische Stimuli exprimiert wird und zudem anti-inflammatorisch wirkt, nach Omentin-Behandlung durch primäre humane Adipozyten *in vitro* freigesetzt wurde.

Basierend auf diesen Daten kann demnach bisher keine abschließende Aussage darüber getroffen werden, ob Omentin ein Adipokin mit anti-inflammatorischen und/oder pro-inflammatorischen Eigenschaften darstellt und inwiefern sich gewebs- und zellspezifische Wirkungen für dieses Adipokin nachweisen lassen.

Darüber hinaus bleibt weiterhin zu klären, ob Omentin tatsächlich Anwendung in der Pharmakotherapie oder Früherkennung von kardiometabolischen Erkrankungen finden könnte und sich somit als ein klinisch relevantes Adipokin etablieren wird.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Nauck N, Petersmann A, Müller-Wieland D, Schleicher E, Müller UA, Landgraf R, Freckmann G, Heinemann L. Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Diabetologie* 2018; 13:S90-S96
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010; 33:S62-S69
3. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2018; 41:S13-S27
4. International Diabetes Federation. *The IDF Atlas, 8th edn*. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2017
5. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27:1047-1053
6. Wild SH, Forouhi NG. What is the scale of the future diabetes epidemic, and how certain are we about it? *Diabetologia* 2007; 50:903-905
7. Tönnies T, Röckl S, Hoyer A, Heidemann C, Baumert J, Du Y, Scheidt-Nave C, Brinks R. Projected number of people with diagnosed Type 2 diabetes in Germany in 2040. *Diabet Med* 2019; 36:1217-1225
8. Jacobs E, Hoyer A, Brinks R, Kuss O, Rathmann W. Burden of mortality attributable to diagnosed diabetes: A nationwide analysis based on claims data from 65 million people in Germany. *Diabetes Care* 2017; 40:1703-1709
9. Tönnies T, Hoyer A, Brinks R. Excess mortality for people diagnosed with type 2 diabetes in 2012 - Estimates based on claims data from 70 million Germans. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2018; 28:887-891
10. Jacobs E, Hoyer A, Brinks R, Icks A, Kuß O, Rathmann W. Healthcare costs of type 2 diabetes in Germany. *Diabet Med* 2017; 34:855-861
11. Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Phys Ther* 2008; 88:1254-1264
12. Chang AM, Halter JB. Aging and insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284:E7-E12
13. Rathmann W, Strassburger K, Heier M, Holle R, Thorand B, Giani G, Meisinger C. Incidence of Type 2 diabetes in the elderly German population and the effect of clinical and lifestyle risk factors: KORA S4/F4 cohort study. *Diabet Med* 2009; 26:1212-1219
14. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87:4-14
15. DeFronzo RA. Glucose intolerance and aging: evidence for tissue insensitivity to insulin. *Diabetes* 1979; 28:1095-1101
16. Reers C, Erbel S, Esposito I, Schmied B, Büchler MW, Nawroth PP, Ritzel RA. Impaired islet turnover in human donor pancreata with aging. *Eur J Endocrinol* 2009; 160:185-191

-
17. Maedler K, Schumann DM, Schulthess F, Oberholzer J, Bosco D, Berney T, Donath MY. Aging correlates with decreased beta-cell proliferative capacity and enhanced sensitivity to apoptosis: a potential role for Fas and pancreatic duodenal homeobox-1. *Diabetes* 2006; 55:2455-2462
 18. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, DiPietro L, Cline GW, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003; 300:1140-1142
 19. Abate N, Chandalia M. The impact of ethnicity on type 2 diabetes. *J Diabetes Complications* 2003; 17:39-58
 20. Moore AF, Florez JC. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and implications for antidiabetic therapy. *Annu Rev Med* 2008; 59:95-111
 21. Poulsen P, Kyvik KO, Vaag A, Beck-Nielsen H. Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance--a population-based twin study. *Diabetologia* 1999; 42:139-145
 22. Barnett AH, Eff C, Leslie RD, Pyke DA. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia* 1981; 20:87-93
 23. Medici F, Hawa M, Ianari A, Pyke DA, Leslie RD. Concordance rate for type II diabetes mellitus in monozygotic twins: actuarial analysis. *Diabetologia* 1999; 42:146-150
 24. Meigs JB. The genetic epidemiology of type 2 diabetes: opportunities for health translation. *Curr Diab Rep* 2019; 19:62
 25. Herder C, Roden M. Genetics of type 2 diabetes: pathophysiologic and clinical relevance. *Eur J Clin Invest* 2011; 41:679-692
 26. Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, et al. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet* 2012; 44:981-990
 27. Nolan CJ, Damm P, Prendtke M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet* 2011; 378:169-181
 28. Zhi-qiu Huang, Yao-qi Liao, Run-ze Huang, Jin-peng Chen & Hui-lin Sun. Possible role of *TCF7L2* in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 2018; 32:830-834
 29. World Health Organization. Obesity and overweight. 2018; <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [Online Artikel aufgerufen am 31.07.2019]
 30. World Health Organization. Body mass index - BMI. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi> [aufgerufen am 31.07.2019]
 31. Norris SL, Zhang X, Avenell A, Gregg E, Bowman B, Schmid CH, Lau J. Long-term effectiveness of weight-loss interventions in adults with pre-diabetes: a review. *Am J Prev Med* 2005; 28:126-139
 32. Bassuk SS, Manson JE. Epidemiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *J Appl Physiol* (1985) 2005; 99:1193-1204

-
33. van Dam RM, Rimm EB, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men. *Ann Intern Med* 2002; 136:201-209
34. Aune D, Ursin G, Veierød MB. Meat consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Diabetologia* 2009; 52:2277-2287
35. Ley SH, Hamdy O, Mohan V, Hu FB. Prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. *Lancet* 2014; 383:1999-2007
36. Dyson PA, Twenefour D, Breen C, Duncan A, Elvin E, Goff L, Hill A, Kalsi P, Marsland N, Mc Ardle P, Mellor D, Oliver L, Watson K. Diabetes UK evidence-based nutrition guidelines for the prevention and management of diabetes. *Diabet Med* 2018; 35:541-547
37. Pan XR, Li GW, Hu YH, Wang JX, Yang WY, An ZX, Hu ZX, Lin J, Xiao JZ, Cao HB, Liu PA, Jiang XG, Jiang YY, Wang JP, Zheng H, Zhang H, Bennett PH, Howard BV. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Care* 1997; 20:537-544
38. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM. Diabetes Prevention Program Research Group: Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; 346:393-403
39. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson J, Valle TT, Hamalainen H Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001; 344:1343-1350
40. Ramachandran A, Snehalatha C, Mary S, Mukesh B, Bhaskar AD, Vijay V; Indian Diabetes Prevention Programme (IDPP). The Indian Diabetes Prevention Programme shows that lifestyle modification and metformin prevent type 2 diabetes in Asian Indian subjects with impaired glucose tolerance (IDPP-1). *Diabetologia* 2006; 49:289-297
41. Lindström J, Peltonen M, Eriksson JG, Ilanne-Parikka P, Aunola S, Keinänen-Kiukaanniemi S, Uusitupa M, Tuomilehto J; Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): improved lifestyle and decreased diabetes risk over 13 years: long-term follow-up of the randomised Finnish Diabetes Prevention Study (DPS). *Diabetologia* 2013; 56:284-293
42. Li G, Zhang P, Wang J, An Y, Gong Q, Gregg EW, Yang W, Zhang B, Shuai Y, Hong J, Engelgau MM, Li H, Roglic G, Hu Y, Bennett PH: Cardiovascular mortality, all-cause mortality, and diabetes incidence after lifestyle intervention for people with impaired glucose tolerance in the Da Qing Diabetes Prevention Study: a 23-year follow-up study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2:474-480
43. Diabetes Prevention Program Research Group: Long-term effects of lifestyle intervention or metformin on diabetes development and microvascular complications over 15-year follow-up: the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015; 3:866-875
44. Agardh EE, Ahlbom A, Andersson T, Efendic S, Grill V, Hallqvist J, Norman A, Ostenson CG. Work stress and low sense of coherence is associated with type 2 diabetes in middle-aged Swedish women. *Diabetes Care* 2003; 26:719-724
45. Kumari M, Head J, Marmot M. Prospective study of social and other risk factors for incidence of type 2 diabetes in the Whitehall II study. *Arch Intern Med* 2004; 164:1873-1880

-
46. Gottlieb DJ, Punjabi NM, Newman AB, Resnick HE, Redline S, Baldwin CM, Nieto FJ. Association of sleep time with diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Arch Intern Med* 2005; 165:863-867
47. Tuomilehto H, Peltonen M, Partinen M, Seppä J, Saaristo T, Korpi-Hyövälti E, Oksa H, Puolijoki H, Saltevo J, Vanhala M, Tuomilehto J. Sleep duration is associated with an increased risk for the prevalence of type 2 diabetes in middle-aged women - The FIN-D2D survey. *Sleep Med* 2008; 9:221-227
48. Heraclides A, Chandola T, Witte DR, Brunner EJ. Psychosocial stress at work doubles the risk of type 2 diabetes in middle-aged women: evidence from the Whitehall II study. *Diabetes Care* 2009; 32:2230-2235
49. Mueller G, Berger K. The influence of neighbourhood deprivation on the prevalence of diabetes in 25- to 74-year-old individuals: first results from the Dortmund Health Study. *Diabet Med* 2012; 29:831-833
50. Maier W, Holle R, Hunger M, Peters A, Meisinger C, Greiser KH, Kluttig A, Völzke H, Schipf S, Moebus S, Bokhof B, Berger K, Mueller G, Rathmann W, Tamayo T, Mielck A; DIAB-CORE Consortium. The impact of regional deprivation and individual socio-economic status on the prevalence of type 2 diabetes in Germany. A pooled analysis of five population-based studies. *Diabet Med* 2013; 30:e78-e86
51. Rathmann W, Scheidt-Nave C, Roden M, Herder C. Type 2 diabetes: prevalence and relevance of genetic and acquired factors for its prediction. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110:331-337
52. Müller G, Kluttig A, Greiser KH, Moebus S, Slomiany U, Schipf S, Völzke H, Maier W, Meisinger C, Tamayo T, Rathmann W, Berger K. Regional and neighborhood disparities in the odds of type 2 diabetes: results from 5 population-based studies in Germany (DIAB-CORE consortium). *Am J Epidemiol* 2013; 178:221-230
53. Krämer U, Herder C, Sugiri D, Strassburger K, Schikowski T, Ranft U, Rathmann W. Traffic-related air pollution and incident type 2 diabetes: results from the SALIA cohort study. *Environ Health Perspect* 2010; 118:1273-1279
54. Erickson SC, Le L, Zakharyan A, Stockl KM, Harada AS, Borson S, Ramsey SD, Curtis B. New-onset treatment-dependent diabetes mellitus and hyperlipidemia associated with atypical antipsychotic use in older adults without schizophrenia or bipolar disorder. *J Am Geriatr Soc* 2012; 60:474-479
55. Shaw J. Epidemiology of childhood type 2 diabetes and obesity. *Pediatr Diabetes* 2007; 8:7-15
56. Ramlo-Halsted BA, Edelman SV. The natural history of type 2 diabetes. Implications for clinical practice. *Prim Care* 1999; 26:771-789
57. Del Prato S. Role of glucotoxicity and lipotoxicity in the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus and emerging treatment strategies. *Diabet Med* 2009; 26:1185-1192
58. Hammarstedt A, Graham TE, Kahn BB. Adipose tissue dysregulation and reduced insulin sensitivity in non-obese individuals with enlarged abdominal adipose cells. *Diabetol Metab Syndr* 2012; 4:42

-
59. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9:367-377
60. Szendroedi J, Roden M. Ectopic lipids and organ function. *Curr Opin Lipidol* 2009; 20:50-56
61. Kraegen EW, Cooney GJ, Ye JM, Thompson AL, Furler SM. The role of lipids in the pathogenesis of muscle insulin resistance and beta cell failure in type II diabetes and obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109:S189-S201
62. Roden M. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle. *News Physiol Sci* 2004; 19:92-96
63. Taylor R. Pathogenesis of type 2 diabetes: tracing the reverse route from cure to cause. *Diabetologia* 2008; 51:1781-1789
64. Kovacs P, Stumvoll M. Fatty acids and insulin resistance in muscle and liver. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19:625-635
65. Taylor R, Barnes AC. Translating aetiological insight into sustainable management of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2018; 61:273-283
66. Tushuizen ME, Bunck MC, Pouwels PJ, Bontemps S, van Waesberghe JH, Schindhelm RK, Mari A, Heine RJ, Diamant M. Pancreatic fat content and beta-cell function in men with and without type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30:2916-2921
67. Zhou YP, Grill VE. Long-term exposure of rat pancreatic islets to fatty acids inhibits glucose-induced insulin secretion and biosynthesis through a glucose fatty acid cycle. *J Clin Invest* 1994; 93:870-876
68. Lupi R, Dotta F, Marselli L, Del Guerra S, Masini M, Santangelo C, Patané G, Boggi U, Piro S, Anello M, Bergamini E, Mosca F, Di Mario U, Del Prato S, Marchetti P. Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and pro-apoptotic effects on human pancreatic islets: evidence that beta-cell death is caspase mediated, partially dependent on ceramide pathway, and Bcl-2 regulated. *Diabetes* 2002; 51:1437-1442
69. Laybutt DR, Preston AM, Akerfeldt MC, Kench JG, Busch AK, Biankin AV, Biden TJ. Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2007; 50:752-763
70. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, Tuncman G, Görgün C, Glimcher LH, Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 2004; 306:457-461
71. Montgomery MK, Turner N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocr Connect* 2015; 4:R1-R15
72. Sivitz WI, Yorek MA. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2010; 12:537-577
73. Leem J, Koh EH. Interaction between mitochondria and the endoplasmic reticulum: implications for the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Exp Diabetes Res* 2012; 2012:242984

-
74. Maechler P, Wollheim CB. Mitochondrial function in normal and diabetic beta-cells. *Nature* 2001; 414:807-812
75. Tabák AG, Jokela M, Akbaraly TN, Brunner EJ, Kivimäki M, Witte DR. Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: an analysis from the Whitehall II study. *Lancet* 2009; 373:2215-2221
76. Phielix E, Szendroedi J, Roden M. The role of metformin and thiazolidinediones in the regulation of hepatic glucose metabolism and its clinical impact. *Trends Pharmacol Sci* 2011; 32:607-616
77. Hauner H. The mode of action of thiazolidinediones. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18:S10-S15
78. Hasan FM, Alsahli M, Gerich JE. SGLT2 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; 104:297-322
79. Kalra S. Alpha glucosidase inhibitors. *J Pak Med Assoc* 2014; 64:474-476
80. Sola D, Rossi L, Schianca GP, Maffioli P, Bigliocca M, Mella R, Corlianò F, Fra GP, Bartoli E, Derosa G. Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Arch Med Sci* 2015; 11:840-848
81. Ahrén B. DDP-4 inhibitors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007; 21:517-533
82. de Wet H, Proks P. Molecular action of sulphonylureas on KATP channels: a real partnership between drugs and nucleotides. *Biochem Soc Trans* 2015; 43:901-907
83. Mendis S, Puska P, Norrving B editors. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. World Health Organization, Geneva 2011
84. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs). 2017; [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) [aufgerufen am 17.08.2019]
85. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014. World Health Organization, Geneva. 2014
86. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420:868-874
87. Cade WT. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther* 2008; 88:1322-1335
88. Mackay J, Mensah GA, eds. The atlas of heart disease and stroke, part three: the burden. Deaths from coronary heart disease. World Health Organization Geneva, 2004; https://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/cvd_atlas_14_deathHD.pdf?ua=1 [aufgerufen am 18.08.2019]
89. Cassar A, Holmes DR Jr, Rihal CS, Gersh BJ. Chronic coronary artery disease: diagnosis and management. *Mayo Clin Proc* 2009; 84:1130-1146
90. Einarson TR, Acs A, Ludwig C, Panton UH. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017. *Cardiovasc Diabetol* 2018; 17:83

-
91. International Diabetes Federation. Diabetes and cardiovascular disease. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2016. p. 1-144
 92. Hajar R. Risk factors for coronary artery disease: Historical perspectives. *Heart views* 2017; 18:109-114
 93. O'Donnell CJ, Elosua R. Cardiovascular risk factors. Insights from Framingham Heart Study. *Rev Esp Cardiol* 2008; 61:299-310
 94. Neal B, MacMahon S, Chapman N; Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. *Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Lancet* 2000; 356:1955-1964
 95. Alexander JK. Obesity and coronary heart disease. *Am J Med Sci* 2001; 321:215-224
 96. Lakier JB. Smoking and cardiovascular disease. *Am J Med* 1992; 93:8S-12S
 97. He J, Vupputuri S, Allen K, Prerost MR, Hughes J, Whelton PK. Passiv smoking and the risk of coronary heart disease--a meta-analysis of epidemiologic studies. *N Engl J Med* 1999; 340:920-926
 98. Leone A, Giannini D, Bellotto C, Balbarini A. Passiv smoking and coronary heart disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2004; 2:175-182
 99. Rosengren A, Hawken S, Ounpuu S, Sliwa K, Zubaid M, Almahmeed WA, Blackett KN, Sitthi-amorn C, Sato H, Yusuf S; INTERHEART investigators. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364:953-962
 100. Malakar AK, Choudhury D, Halder B, Paul P, Uddin A, Chakraborty S. A review on coronary artery disease, its risk factors, and therapeutics. *J Cell Physiol* 2019; 234:16812-16823
 101. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1994; 89:2462-2478
 102. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995; 92:1355-1374
 103. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352:1685-1695
 104. Ojaghihaghghi S, Vahdati SS, Mikaeilpour A, Ramouz A. Comparison of neurological clinical manifestation in patients with hemorrhagic and ischemic stroke. *World J Emerg Med* 2017; 8:34-38
 105. Arboix A. Cardiovascular risk factors for acute stroke: Risk profiles in the different subtypes of ischemic stroke. *World J Clin Cases* 2015; 3:418-429

-
106. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2009; 9:88
107. Shinton R, Beevers G. Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. *BMJ* 1989; 298:789-794
108. Lee CD, Folsom AR, Blair SN. Physical activity and stroke risk: a meta-analysis. *Stroke* 2003; 34:2475-2481
109. Dinarello CA, Simon A, van der Meer JW. Targeting inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11:633-652
110. An SJ, Kim TJ, Yoon BW. Epidemiology, risk factors, and clinical features of intracerebral hemorrhage: an update. *J Stroke* 2017; 19:3-10
111. Petrie JR, Guzik TJ, Touyz RM. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: Clinical insights and vascular mechanisms. *Can J Cardiol* 2018; 34:575-584
112. Tuomilehto J, Rastenyte D, Jousilahti P, Sarti C, Vartiainen E. Diabetes mellitus as a risk factor for death from stroke. Prospective study of the middle-aged Finnish population. *Stroke*; 1996; 27:210-215
113. Almdal T, Scharling H, Jensen JS, Vestergaard H. The independent effect of type 2 diabetes mellitus on ischemic heart disease, stroke, and death: a population-based study of 13,000 men and women with 20 years of follow-up. *Arch Intern Med* 2004; 164:1422-1426
114. Rydén L, Standl E, Bartnik M, Van den Berghe G, Betteridge J, de Boer MJ, Cosentino F, Jönsson B, Laakso M, Malmberg K, Priori S, Ostergren J, Tuomilehto J, Thrainsdottir I, Vanhorebeek I, Stramba-Badiale M, Lindgren P, Qiao Q, Priori SG, Blanc JJ, Budaj A, Camm J, Dean V, Deckers J, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Morais J, Osterspey A, Tamargo J, Zamorano JL, Deckers JW, Bertrand M, Charbonnel B, Erdmann E, Ferrannini E, Flyvbjerg A, Gohlke H, Juanatey JR, Graham I, Monteiro PF, Parhofer K, Pyörälä K, Raz I, Schernthaner G, Volpe M, Wood D; Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC); European Association for the Study of Diabetes (EASD). Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J* 2007; 28:88-136
115. Matheus AS, Tannus LR, Cobas RA, Palma CC, Negrato CA, Gomes MB. Impact of diabetes on cardiovascular disease: an update. *Int J Hypertens* 2013; 2013:653789
116. Wagenknecht LE, D'Agostino RB Jr, Haffner SM, Savage PJ, Rewers M. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes, and carotid wall thickness: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 1998; 21:1812-1818
117. Haffner SM. Diabetes, hyperlipidemia, and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1999; 83:17F-21F
118. Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, Gobin R, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Ingelsson E, Lawlor DA, Selvin E, Stampfer M, Stehouwer CD, Lewington S, Pennells L, Thompson A, Sattar N, White IR, Ray KK, Danesh J. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet* 2010; 375:2215-2222

-
119. Wannamethee SG, Perry IJ, Shaper AG. Nonfasting serum glucose and insulin concentrations and the risk of stroke. *Stroke* 1999; 30:1780-1786
120. Janghorbani M, Hu FB, Willett WC, Li TY, Manson JE, Logroscino G, Rexrode KM. Prospective study of type 1 and type 2 diabetes and risk of stroke subtypes: the Nurses' Health Study. *Diabetes Care* 2007; 30:1730-1735
121. De Rosa S, Arcidiacono B, Chiefari E, Brunetti A, Indolfi C, Foti DP. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease: genetic and epigenetic links. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 9:2
122. Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease. The "common soil" hypothesis. *Diabetes* 1995; 44:369-374
123. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006; 23:469-480
124. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, Taskinen MR, Groop L. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24:683-689
125. Wilson PW, D'Agostino RB, Parise H, Sullivan L, Meigs JB. Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2005; 112:3066-3072
126. Stern MP, Williams K, González-Villalpando C, Hunt KJ, Haffner SM. Does the metabolic syndrome improve identification of individuals at risk of type 2 diabetes and/or cardiovascular disease? *Diabetes Care* 2004; 27:2676-2681
127. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004; 92:347-355
128. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004; 145:2273-2282
129. Lehr S, Hartwig S, Sell H. Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteomics Clin Appl* 2012; 6:91-101
130. Blüher M. Clinical relevance of adipokines. *Diabetes Metab J* 2012; 36:317-327
131. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002; 8:1288-1295
132. Dietze D, Ramrath S, Ritzeler O, Tennagels N, Hauner H, Eckel J. Inhibitor kappaB kinase is involved in the paracrine crosstalk between human fat and muscle cells. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28:985-992

-
133. Zhou H, Song X, Briggs M, Violand B, Salsgiver W, Gulve EA, Luo Y. Adiponectin represses gluconeogenesis independent of insulin in hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338:793-799
134. Sell H, Dietze-Schroeder D, Kaiser U, Eckel J. Monocyte chemotactic protein-1 is a potential player in the negative cross-talk between adipose tissue and skeletal muscle. *Endocrinology* 2006; 147:2458-2467
135. Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36:461-470
136. Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha. *J Clin Invest* 1994; 94:1543-1549
137. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280:E745-E751
138. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Mooney RA. Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. *Diabetes* 2002; 51:3391-3399
139. Rotter V, Nagaev I, Smith U. Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J Biol Chem* 2003; 278:45777-45784
140. Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia* 2012; 55:2319-2326
141. Lee YH, Magkos F, Mantzoros CS, Kang ES. Effects of leptin and adiponectin on pancreatic β -cell function. *Metabolism* 2011; 60:1664-1672
142. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259:87-91
143. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286:327-334
144. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes* 2003; 52:812-817
145. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342:836-843
146. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101:1767-1772
147. Kaptoge S, Seshasai SR, Gao P, Freitag DF, Butterworth AS, Borglykke A, Di Angelantonio E, Gudnason V, Rumley A, Lowe GD, Jørgensen T, Danesh J. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. *Eur Heart J* 2014; 35:578-589

-
148. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, Hoogeveen R, Folsom AR, Heiss G; Atherosclerosis Risk in Communities Study. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes* 2003; 52:1799-1805
149. Thorand B, Baumert J, Kolb H, Meisinger C, Chambless L, Koenig W, Herder C. Sex differences in the prediction of type 2 diabetes by inflammatory markers: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Diabetes Care* 2007; 30:854-860
150. Lindmark E, Diderholm E, Wallentin L, Siegbahn A. Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or noninvasive strategy. *JAMA* 2001; 286:2107-2113
151. Danesh J, Kaptoge S, Mann AG, Sarwar N, Wood A, Angleman SB, Wensley F, Higgins JP, Lennon L, Eiriksdottir G, Rumley A, Whincup PH, Lowe GD, Gudnason V. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. *PLoS Med* 2008; 5:e78
152. Held C, White HD, Stewart RAH, Budaj A, Cannon CP, Hochman JS, Koenig W, Siegbahn A, Steg PG, Soffer J, Weaver WD, Östlund O, Wallentin L; STABILITY Investigators. Inflammatory biomarkers interleukin-6 and C-reactive protein and outcomes in stable coronary heart disease: experiences from the STABILITY (Stabilization of Atherosclerotic Plaque by Initiation of Darapladib Therapy) Trial. *J Am Heart Assoc* 2017; 6:e005077
153. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257:79-83
154. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999; 100:2473-2476
155. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1595-1599
156. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1930-1935
157. Shibata R, Ouchi N, Murohara T. Adiponectin and cardiovascular disease. *Circ J* 2009; 73:608-614
158. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2003; 361:226-228
159. Kizer JR, Arnold AM, Benkeser D, Ix JH, Djousse L, Zieman SJ, Barzilay JI, Tracy RP, Mantzoros CS, Siscovick DS, Mukamal KJ. Total and high-molecular-weight adiponectin and risk of incident diabetes in older people. *Diabetes Care* 2012; 35:415-423

-
160. Thorand B, Zierer A, Baumert J, Meisinger C, Herder C, Koenig W. Associations between leptin and the leptin / adiponectin ratio and incident Type 2 diabetes in middle-aged men and women: results from the MONICA / KORA Augsburg study 1984-2002. *Diabet Med* 2010; 27:1004-1011
161. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009; 302:179-188
162. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004; 291:1730-1737
163. Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N, Tchernova J, Cherry L, Wallace AM, Danesh J, Whincup PH. Adiponectin and coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Circulation* 2006; 114:623-629
164. Lawlor DA, Davey Smith G, Ebrahim S, Thompson C, Sattar N. Plasma adiponectin levels are associated with insulin resistance, but do not predict future risk of coronary heart disease in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:5677-5683
165. Lindsay RS, Resnick HE, Zhu J, Tun ML, Howard BV, Zhang Y, Yeh J, Best LG. Adiponectin and coronary heart disease: the Strong Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:e15-e16
166. Kizer JR, Barzilay JI, Kuller LH, Gottdiener JS. Adiponectin and risk of coronary heart disease in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:3357-3364
167. Cavusoglu E, Ruwende C, Chopra V, Yanamadala S, Eng C, Clark LT, Pinsky DJ, Marmur JD. Adiponectin is an independent predictor of all-cause mortality, cardiac mortality, and myocardial infarction in patients presenting with chest pain. *Eur Heart J* 2006; 27:2300-2309
168. Schöttker B, Herder C, Rothenbacher D, Roden M, Kolb H, Müller H, Brenner H. Proinflammatory cytokines, adiponectin, and increased risk of primary cardiovascular events in diabetic patients with or without renal dysfunction: results from the ESTHER study. *Diabetes Care* 2013; 36:1703-1711
169. Menon V, Li L, Wang X, Greene T, Balakrishnan V, Madero M, Pereira AA, Beck GJ, Kusek JW, Collins AJ, Levey AS, Sarnak MJ. Adiponectin and mortality in patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:2599-2606
170. Pilz S, Mangge H, Wellnitz B, Seelhorst U, Winkelmann BR, Tiran B, Boehm BO, März W. Adiponectin and mortality in patients undergoing coronary angiography. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4277-4286
171. Kistorp C, Faber J, Galatius S, Gustafsson F, Frystyk J, Flyvbjerg A, Hildebrandt P. Plasma adiponectin, body mass index, and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2005; 112:1756-1762
172. George J, Patal S, Wexler D, Sharabi Y, Peleg E, Kamari Y, Grossman E, Sheps D, Keren G, Roth A. Circulating adiponectin concentrations in patients with congestive heart failure. *Heart* 2006; 92:1420-1424
173. Poehls J, Wassel CL, Harris TB, Havel PJ, Swarbrick MM, Cummings SR, Newman AB, Satterfield S, Kanaya AM; Health ABC Study. Association of adiponectin with mortality in older adults: the Health, Aging, and Body Composition Study. *Diabetologia* 2009; 52:591-595

-
174. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444:860-867
175. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol* 2011; 29:415-445
176. Cone JB. Inflammation. *Am J Surg* 2001; 182:558-562
177. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget* 2017; 9:7204-7218
178. Vieira-Potter VJ. Inflammation and macrophage modulation in adipose tissues. *Cell Microbiol* 2014; 16:1484-1492
179. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112:1796-1808
180. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 316:129-139
181. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M, Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ; CANTOS Trial Group. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med* 2017; 377:1119-1131
182. Ridker PM, Howard CP, Walter V, Everett B, Libby P, Hensen J, Thuren T; CANTOS Pilot Investigative Group. Effects of interleukin-1 β inhibition with canakinumab on hemoglobin A1c, lipids, C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen: a phase IIb randomized, placebo-controlled trial. *Circulation* 2012; 126:2739-2748
183. Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, Hutchinson WL, Pepys MB. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99:237-342
184. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336:973-979
185. Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, Danesh J. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet* 2010; 375:132-140
186. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998; 98:731-733
187. Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, D'Agostino RB, Franzblau C, Wilson PW. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke* 2001; 32:2575-2579

-
188. Ridker PM, MacFadyen JG, Everett BM, Libby P, Thuren T, Glynn RJ; CANTOS Trial Group. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial. *Lancet* 2018; 391:319-328
189. Kirii H, Niwa T, Yamada Y, Wada H, Saito K, Iwakura Y, Asano M, Moriwaki H, Seishima M. Lack of interleukin-1beta decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:656-660
190. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, Ndubuizu K, Patil S, Schwartz A, Kligman M, Fried SK, Gong DW, Shuldiner AR, Pollin TI, McLenithan JC. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes* 2007; 56:1655-1661
191. Schäffler A, Neumeier M, Herfarth H, Fürst A, Schölmerich J, Büchler C. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1732:96-102
192. Tsuji S, Uehori J, Matsumoto M, Suzuki Y, Matsuhisa A, Toyoshima K, Seya T. Human intelectin is a novel soluble lectin that recognizes galactofuranose in carbohydrate chains of bacterial cell wall. *J Biol Chem* 2001; 276:23456-23463
193. Lee JK, Schnee J, Pang M, Wolfert M, Baum LG, Moremen KW, Pierce M. Human homologs of the *Xenopus* oocyte cortical granule lectin XL35. *Glycobiology* 2001; 11:65-73
194. Suzuki YA, Shin K, Lönnerdal B. Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor. *Biochemistry* 2001; 40:15771-15779
195. Niersmann C, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Omentin und kardiometabolisches Risiko. *Diabetologie* 2019; 15:305-310
196. Komiya T, Tanigawa Y, Hirohashi S. Cloning of the novel gene intelectin, which is expressed in intestinal paneth cells in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 251:759-762
197. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, Shuldiner AR, Fried SK, McLenithan JC, Gong DW. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290:E1253-E1261
198. Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, Izumiya Y, Rokutanda T, Araki S, Kataoka Y, Ohashi K, Daida H, Kihara S, Ogawa H, Murohara T, Ouchi N. Fat-derived factor omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2012; 287:408-417
199. Shibata R, Takahashi R, Kataoka Y, Ohashi K, Ikeda N, Kihara S, Murohara T, Ouchi N. Association of a fat-derived plasma protein omentin with carotid artery intima-media thickness in apparently healthy men. *Hypertens Res* 2011; 34:1309-1312
200. Pan HY, Guo L, Li Q. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 88:29-33
201. Yan P, Liu D, Long M, Ren Y, Pang J, Li R. Changes of serum omentin levels and relationship between omentin and adiponectin concentrations in type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2011; 119:257-263

-
202. Zhang Q, Zhu L, Zheng M, Fan C, Li Y, Zhang D, He Y, Yang H. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects, type 2 diabetes and type 2 diabetes with overweight and obesity in Chinese adults. *Ann Endocrinol* 2014; 75:171-175
203. Greulich S, Chen WJ, Maxhera B, Rijzewijk LJ, van der Meer RW, Jonker JT, Mueller H, de Wiza DH, Floerke RR, Smiris K, Lamb HJ, de Roos A, Bax JJ, Romijn JA, Smit JW, Akhyari P, Lichtenberg A, Eckel J, Diamant M, Ouwens DM. Cardioprotective properties of omentin-1 in type 2 diabetes: evidence from clinical and in vitro studies. *PLoS One* 2013; 8:e59697
204. Moreno-Navarrete JM, Catalán V, Ortega F, Gómez-Ambrosi J, Ricart W, Frühbeck G, Fernández-Real JM. Circulating omentin concentration increases after weight loss. *Nutr Metab* 2010; 7:27
205. Saremi A, Asghari M, Ghorbani A. Effects of aerobic training on serum omentin-1 and cardiometabolic risk factors in overweight and obese men. *J Sports Sci* 2010; 28:993-998
206. Wang Q, Feng X, Zhou C, Li P, Kang J. Decreased levels of serum omentin-1 in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *Ann Clin Biochem* 2013; 50:230-235
207. Herder C, Ouwens DM, Carstensen M, Kowall B, Huth C, Meisinger C, Rathmann W, Roden M, Thorand B. Adiponectin may mediate the association between omentin, circulating lipids and insulin sensitivity: results from the KORA F4 study. *Eur J Endocrinol* 2015; 172:423-432
208. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009; 302:179-188
209. Wittenbecher C, Menzel J, Carstensen-Kirberg M, Biemann R, di Giuseppe R, Fritsche A, Isermann B, Herder C, Aleksandrova K, Boeing H, Weikert C, Schulze MB. Omentin-1, adiponectin, and the risk of developing type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2016; 39:e79-e80
210. Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, Takahashi R, Takeshita K, Kataoka Y, Ohashi K, Ikeda N, Kihara S, Murohara T. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. *Atherosclerosis*. 2011; 219:811-814
211. Zhong X, Zhang HY, Tan H, Zhou Y, Liu FL, Chen FQ, Shang DY. Association of serum-1 levels with coronary artery disease. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32:873-878
212. Onur I, Oz F, Yildiz S, Oflaz H, Sigirci S, Elitok A, Pilten S, Karaayvaz EB, Cizgici AY, Kaya MG, Onur ST, Sahin I, Dinckal HM. Serum omentin 1 level is associated with coronary artery disease and its severity in postmenopausal women. *Angiology* 2014; 65:896-900
213. Du Y, Ji Q, Cai L, Huang F, Lai Y, Liu Y, Yu J, Han B, Zhu E, Zhang J, Zhou Y, Wang Z, Zhao Y. Association between omentin-1 expression in human epicardial adipose tissue and coronary atherosclerosis. *Cardiovasc Diabetol* 2016; 15:90
214. Yue J, Chen J, Wu Q, Liu X, Li M, Li Z, Gao Y. Serum levels of omentin-1 association with early diagnosis, lesion volume and severity of acute ischemic stroke. *Cytokine* 2018; 111:518-522
215. Menzel J, di Giuseppe R, Biemann R, Wittenbecher C, Aleksandrova K, Pischon T, Fritsche A, Schulze MB, Boeing H, Isermann B, Weikert C. Omentin-1 and risk of myocardial infarction and stroke: Results from the EPIC-Potsdam cohort study. *Atherosclerosis* 2016; 251:415-421

-
216. Liu R, Wang X, Bu P. Omentin-1 is associated with carotid atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 93:21-25
217. Jung CH, Jung SH, Kim BY, Kim CH, Kang SK, Mok JO. Association of serum omentin levels with cardiac autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus: a hospital-based study. *Cardiovasc Diabetol* 2015; 14:140
218. Vu A, Sidhom MS, Bredbeck BC, Kosmiski LA, Aquilante CL. Evaluation of the relationship between circulating omentin-1 concentrations and components of the metabolic syndrome in adults without type 2 diabetes or cardiovascular disease. *Diabetol Metab Syndr* 2014; 6:4
219. Orlik B, Madej P, Owczarek A, Skalba P, Chudek J, Olszanecka-Glinianowicz M. Plasma omentin and adiponectin levels as markers of adipose tissue dysfunction in normal weight and obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014; 81:529-535
220. Saely CH, Leiberer A, Muendlein A, Vonbank A, Rein P, Geiger K, Malin C, Drexel H. High plasma omentin predicts cardiovascular events independently from the presence and extent of angiographically determined atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2016; 244:38-43
221. Narumi T, Watanabe T, Kadowaki S, Kinoshita D, Yokoyama M, Honda Y, Otaki Y, Nishiyama S, Takahashi H, Arimoto T, Shishido T, Miyamoto T, Kubota I. Impact of serum omentin-1 levels on cardiac prognosis in patients with heart failure. *Cardiovasc Diabetol* 2014; 13:84
222. Menzel J, di Giuseppe R, Biemann R, Wittenbecher C, Aleksandrova K, Eichelmann F, Fritsche A, Schulze MB, Boeing H, Isermann B, Weikert C. Association between chemerin, omentin-1 and risk of heart failure in the population-based EPIC-Potsdam study. *Sci Rep* 2017; 7:14171
223. Yamawaki H, Tsubaki N, Mukohda M, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393:668-672
224. Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, Izumiya Y, Rokutanda T, Araki S, Kataoka Y, Ohashi K, Daida H, Kihara S, Ogawa H, Murohara T, Ouchi N. Fat-derived omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2012; 287:408-417
225. Yamawaki H, Kuramoto J, Kameshima S, Usui T, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 408:339-343
226. Zhong X, Li X, Liu F, Tan H, Shang D. Omentin inhibits TNF- α -induced expression of adhesion molecules in endothelial cells via ERK/NF- κ B pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425:401-406
227. Kazama K, Usui T, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Omentin plays an anti-inflammatory role through inhibition of TNF- α -induced superoxide production in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 2012; 686:116-123
228. Ouchi N, Ohashi K, Shibata R, Murohara T. Protective roles of adipocytokines and myokines in cardiovascular disease. *Circ J* 2016; 80:2073-2080

229. Kataoka Y, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Enomoto T, Uemura Y, Ogura Y, Yuasa D, Matsuo K, Nagata T, Oba T, Yasukawa H, Numaguchi Y, Sone T, Murohara T, Ouchi N. Omentin prevents myocardial ischemic injury through AMP-activated protein kinase- and Akt-dependent mechanisms. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63:2722-2733
230. Matsuo K, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Uemura Y, Hiramatsu-Ito M, Enomoto T, Yuasa D, Joki Y, Ito M, Hayakawa S, Ogawa H, Kihara S, Murohara T, Ouchi N. Omentin functions to attenuate cardiac hypertrophic response. *J Mol Cell Cardiol* 2015; 79:195-202
231. Hiramatsu-Ito M, Shibata R, Ohashi K, Uemura Y, Kanemura N, Kambara T, Enomoto T, Yuasa D, Matsuo K, Ito M, Hayakawa S, Ogawa H, Otaka N, Kihara S, Murohara T, Ouchi N. Omentin attenuates atherosclerotic lesion formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Cardiovasc Res* 2016; 110:107-117
232. Laxy M, Knoll G, Schunk M, Meisinger C, Huth C, Holle R. Quality of diabetes care in Germany improved from 2000 to 2007 to 2014, but improvements diminished since 2007. Evidence from the population-based KORA studies. *PLoS One* 2016; 11:e0164704
233. Holle R, Happich M, Löwel H, Wichmann HE; MONICA/KORA Study Group. KORA--a research platform for population based health research. *Gesundheitswesen* 2005; 67:S19-S25
234. ESTHER. <http://esther.dkfz.org/esther/> [aufgerufen am 01.09.2019]
235. Schöttker B, Haug U, Schomburg L, Köhrle J, Perna L, Müller H, Holleczeck B, Brenner H. Strong associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with all-cause, cardiovascular, cancer, and respiratory disease mortality in a large cohort study. *Am J Clin Nutr* 2013; 97:782-793
236. Raum E, Rothenbacher D, Löw M, Stegmaier C, Ziegler H, Brenner H. Changes of cardiovascular risk factors and their implications in subsequent birth cohorts of older adults in Germany: a life course approach. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14:809-814
237. Lehnert H. Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel. 16.5 Häufig eingesetzte Bestimmungsmethoden. Thieme 2010; 469-471
238. Mulisch M. Verfahren der Immunlokalisation. Ein Überblick. Springer Spektrum 2014; <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-658-03829-8.pdf> [aufgerufen am 10.11.2019]
239. Luttmann W., Bratke K., Küpper M., Myrtek D. Der Experimentator: Immunologie. 4.3 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Springer Verlag 2014; 4. Auflage S.112-113
240. Assarsson E, Lundberg M, Holmquist G, Björkesten J, Thorsen SB, Ekman D, Eriksson A, Rennel Dickens E, Ohlsson S, Edfeldt G, Andersson AC, Lindstedt P, Stenvang J, Gullberg M, Fredriksson S. Homogenous 96-plex PEA immunoassay exhibiting high sensitivity, specificity, and excellent scalability. *PLoS One* 2014; 9:e95192
241. Olink Proteomics. Inflammation panel. <https://www.olink.com/products/inflammation/> [aufgerufen am 10.11.2019]
242. Uniprot. UniProtKB – P01500 (CCL2_HUMAN) <https://www.uniprot.org/uniprot/P13500> [aufgerufen am 10.11.2019]

-
243. Lundberg M, Eriksson A, Tran B, Assarsson E, Fredriksson S. Homogeneous antibody-based proximity extension assays provide sensitive and specific detection of low-abundant proteins in human blood. *Nucleic Acids Res* 2011; 39:e102
244. Holzapfel B, Wickert L. Die quantitative Real-Time-PCR (qRT-PCR). *Methoden und Anwendungsgebiete. Biologie in unserer Zeit* 2007; 37:120-126
245. Olink Proteomics. White papers from olink. Data normalization and standardization. https://www.olink.com/content/uploads/2018/05/Data-normalization-and-standardization_v1.0.pdf [aufgerufen am 10.11.2019]
246. Olink Proteomics. Document download center. Validation data documents. Inflammation. Article number: 95302. www.olink.com/downloads <https://www.olink.com/content/uploads/2019/04/Olink-Inflammation-Validation-Data-v3.0.pdf> [aufgerufen am 10.11.2019]
247. Thomas S, Bonchev D. A survey of current software for network analysis in molecular biology. *Hum Genomics* 2010; 4:353-360
248. Ingenuity Upstream Regulator Analysis in IPA®. Whitepaper. http://pages.ingenuity.com/rs/ingenuity/images/0812%20upstream_regulator_analysis_whitepaper.pdf [aufgerufen am 11.10.2019]
249. Nguyen U, Squaglia N, Boge A, Fung PA. The Simple Western™: a gel-free, blot-free, hands-free Western blotting reinvention. *Nature Methods* 2011; 8:982
250. Chen JQ, Heldman MR, Herrmann MA, Keddi N, Woo W, Blumberg PM, Goldsmith PK. Absolute quantification of endogenous proteins with precision and accuracy using a capillary Western system. *Anal Biochem* 2013; 442:97-103
251. Luttmann W., Bratke K., Küpper M., Myrtek D. *Der Experimentator: Immunologie*. Springer Verlag 2014; 4. Auflage S.83, 145, 285
252. Liu SB, Sardia S, Sonom B, Zocco D, McSweeney R, Fraser AD, Halleck AE, Li H, Smejkal GB, Munevar S, Gang Jin J, Kawai T, Ghiran I, McGrath JP, Whitman M, Ng SW, Kuo WP. The application of a novel nanovolume capillary electrophoresis-based protein analysis system in personalized & translational medicine research. *J Bioanal Biomed* 2013; S3:004
253. Beekman C, Janson AA, Baghat A, van Deutekom JC, Datson NA. Use of capillary Western immunoassay (Wes) for quantification of dystrophin levels in skeletal muscle of healthy controls and individuals with Becker and Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One* 2018; 13:e0195850
254. Mittal RD. Tandem mass spectroscopy in diagnosis and clinical research. *Indian J Clin Biochem* 2015; 30:121-123
255. Wiśniewski JR, Zougman A, Nagaraj N, Mann M. Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nat Methods* 2009; 6:359-362
256. Jialal I, Devaraj S, Kaur H, Adams-Huet B, Bremer AA. Increased chemerin and decreased omentin-1 in both adipose tissue and plasma in nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98:E514-E517

-
257. Kuperman DA, Lewis CC, Woodruff PG, Rodriguez MW, Yang YH, Dolganov GM, Fahy JV, Erle DJ. Dissecting asthma using focused transgenic modeling and functional genomics. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:305-311
258. Pickup JC, Chusney GD, Thomas SM, Burt D. Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sci* 2000; 67:291-300
259. Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Klein J, Paschke R. Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301:1045-1050
260. Kralisch S, Klein J, Lossner U, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Interleukin-6 is a negative regulator of visfatin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289:E586-E590
261. Simons PJ, van den Pangaart PS, van Roomen CP, Aerts JM, Boon L. Cytokine-mediated modulation of leptin and adiponectin secretion during in vitro adipogenesis: evidence that tumor necrosis factor-alpha- and interleukin-1beta-treated human preadipocytes are potent leptin producers. *Cytokine* 2005; 32:94-103
262. Carstensen M, Herder C, Kivimäki M, Jokela M, Roden M, Shipley MJ, Witte DR, Brunner EJ, Tabák AG. Accelerated increase in serum interleukin-1 receptor antagonist starts 6 years before diagnosis of type 2 diabetes: Whitehall II prospective cohort study. *Diabetes* 2010; 59:1222-1227
263. Herder C, Carstensen M, Ouwens DM. Anti-inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2013; 15:39-50
264. Herder C, Brunner EJ, Rathmann W, Strassburger K, Tabák AG, Schloot NC, Witte DR. Elevated levels of the anti-inflammatory interleukin-1 receptor antagonist precede the onset of type 2 diabetes: the Whitehall II study. *Diabetes Care* 2009 32:421-423
265. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, Ehres JA, Seifert B, Mandrup-Poulsen T, Donath MY. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2007; 356:1517-1526
266. Sauter NS, Schulthess FT, Galasso R, Castellani LW, Maedler K. The antiinflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist protects from high-fat diet-induced hyperglycemia. *Endocrinology* 2008; 149:2208-2218
267. Dinarello CA. The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med* 2000; 343:732-734
268. Donath MY, Schumann DM, Faulenbach M, Ellingsgaard H, Perren A, Ehres JA. Islet inflammation in type 2 diabetes: from metabolic stress to therapy. *Diabetes Care* 2008; 31:S161-S164
269. Herder C, Zierer A, Koenig W, Roden M, Meisinger C, Thorand B. Transforming growth factor-beta1 and incident type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA case-cohort study, 1984-2002. *Diabetes Care* 2009; 32:1921-1923
270. Herder C, Schöttker B, Rothenbacher D, Roden M, Kolb H, Müller H, Brenner H. Interleukin-6 in the prediction of primary cardiovascular events in diabetes patients: results from the ESTHER study. *Atherosclerosis* 2011; 216:244-247

271. Looker HC, Colombo M, Agakov F, Zeller T, Groop L, Thorand B, Palmer CN, Hamsten A, de Faire U, Nogoceke E, Livingstone SJ, Salomaa V, Leander K, Barbarini N, Bellazzi R, van Zuydam N, McKeigue PM, Colhoun HM; SUMMIT Investigators. Protein biomarkers for the prediction of cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2015; 58:1363-1371
272. Herder C, Kannenberg JM, Carstensen-Kirberg M, Huth C, Meisinger C, Koenig W, Peters A, Rathmann W, Roden M, Thorand B. Serum levels of interleukin-22, cardiometabolic risk factors and incident type 2 diabetes: KORA F4/FF4 study. *Cardiovasc Diabetol* 2017; 16:17
273. Kizer JR. Adiponectin, cardiovascular disease, and mortality: parsing the dual prognostic implications of a complex adipokine. *Metabolism* 2014; 63:1079-1083
274. Herder C, Dalmás E, Böni-Schnetzler M, Donath MY. The IL-1 pathway in type 2 diabetes and cardiovascular complications. *Trends Endocrinol Metab* 2015; 26:551-563
275. Herder C, Donath MY. Interleukin-1 receptor antagonist: friend or foe to the heart? *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015; 3:228-229
276. Herder C, de Las Heras Gala T, Carstensen-Kirberg M, Huth C, Zierer A, Wahl S, Sudduth-Klinger J, Kuulasmaa K, Peretz D, Ligthart S, Bongaerts BWC, Dehghan A, Ikram MA, Jula A, Kee F, Pietilä A, Saarela O, Zeller T, Blankenberg S, Meisinger C, Peters A, Roden M, Salomaa V, Koenig W, Thorand B. Circulating levels of interleukin 1-receptor antagonist and risk of cardiovascular disease: meta-analysis of six population-based cohorts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017; 37:1222-1227
277. Wollert KC, Kempf T, Wallentin L. Growth differentiation factor 15 as a biomarker in cardiovascular disease. *Clin Chem* 2017; 63:140-151
278. Fatkhullina AR, Peshkova IO, Dzutsev A, Aghayev T, McCulloch JA, Thovarai V, Badger JH, Vats R, Sundd P, Tang HY, Kossenkov AV, Hazen SL, Trinchieri G, Grivennikov SI, Koltsova EK. An interleukin-23-interleukin-22 axis regulates intestinal microbial homeostasis to protect from diet-induced atherosclerosis. *Immunity* 2018; 49:943-957
279. Zagotta I, Dimova EY, Debatin KM, Wabitsch M, Kietzmann T, Fischer-Posovszky P. Obesity and inflammation: reduced cytokine expression due to resveratrol in a human in vitro model of inflamed adipose tissue. *Front Pharmacol* 2015; 6:79
280. Tanaka T, Itoh H, Doi K, Fukunaga Y, Hosoda K, Shintani M, Yamashita J, Chun TH, Inoue M, Masatsugu K, Sawada N, Saito T, Inoue G, Nishimura H, Yoshimasa Y, Nakao K. Down regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ expression by inflammatory cytokines and its reversal by thiazolidinediones. *Diabetologia* 1999; 42:702-710
281. Greenberg AS, Nordan RP, McIntosh J, Calvo JC, Scow RO, Jablons D. Interleukin 6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin 6 in cancer cachexia. *Cancer Res* 1992; 52:4113-4116
282. Lagathu C, Bastard JP, Auclair M, Maachi M, Capeau J, Caron M. Chronic interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: prevention by rosiglitazone. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311:372-379
283. Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100:7265-7270
284. Qi D, Tang X, He J, Wang D, Zhao Y, Deng W, Deng X, Zhou G, Xia J, Zhong X, Pu S. Omentin protects against LPS-induced ARDS through suppressing pulmonary inflammation

and promoting endothelial barrier via an Akt/eNOS-dependent mechanism. *Cell Death Dis* 2016; 7:e2360

285. Song J, Zhang H, Sun Y, Guo R, Zhong D, Xu R, Song M. Omentin-1 protects renal function of mice with type 2 diabetic nephropathy via regulating miR-27a-Nrf2/Keap1 axis. *Biomed Pharmacother* 2018; 107:440-446

286. Rao SS, Hu Y, Xie PL, Cao J, Wang ZX, Liu JH, Yin H, Huang J, Tan YJ, Luo J, Luo MJ, Tang SY, Chen TH, Yuan LQ, Liao EY, Xu R, Liu ZZ, Chen CY, Xie H. Omentin-1 prevents inflammation-induced osteoporosis by downregulating the pro-inflammatory cytokines. *Bone Res* 2018; 6:9

287. Fernández-Trasancos Á, Agra RM, García-Acuña JM, Fernández ÁL, González-Juanatey JR, Eiras S. Omentin treatment of epicardial fat improves its anti-inflammatory activity and paracrine benefit on smooth muscle cells. *Obesity* 2017; 25:1042-1049

288. Hata K, Andoh A, Shimada M, Fujino S, Bamba S, Araki Y, Okuno T, Fujiyama Y, Bamba T. IL-17 stimulates inflammatory responses via NF-kappaB and MAP kinase pathways in human colonic myofibroblasts. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282:G1035-G1044

289. Stienstra R, Tack CJ, Kanneganti TD, Joosten LA, Netea MG. The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell Metab* 2012; 15:10-18

290. Sabio G, Davis RJ. TNF and MAP kinase signalling pathways. *Semin Immunol* 2014; 26:237-245

291. Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF-κB signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013; 12:86

292. Kim JY, Jung HH, Ahn S, Bae S, Lee SK, Kim SW, Lee JE, Nam SJ, Ahn JS, Im YH, Park YH. The relationship between nuclear factor (NF)-κB family gene expression and prognosis in triple-negative breast cancer (TNBC) patients receiving adjuvant doxorubicin treatment. *Sci Rep* 2016; 6:31804

293. Huang B, Yang XD, Lamb A, Chen LF. Posttranslational modifications of NF-kappaB: another layer of regulation for NF-kappaB signaling pathway. *Cell Signal* 2010; 22:1282-1290

294. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF-κB signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther* 2017; 2:17023

295. Fain JN, Madan AK. Regulation of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) release by explants of human visceral adipose tissue. *Int J Obes* 2005; 29:1299-1307

296. Lappas M, Yee K, Permezel M, Rice GE. Sulfasalazine and BAY 11-7082 interfere with the nuclear factor-kappa B and I kappa B kinase pathway to regulate the release of proinflammatory cytokines from human adipose tissue and skeletal muscle in vitro. *Endocrinology* 2005; 146:1491-1497

297. Krinninger P, Brunner C, Ruiz PA, Schneider E, Marx N, Foryst-Ludwig A, Kintscher U, Haller D, Laumen H, Hauner H. Role of the adipocyte-specific NF-κB activity in the regulation of IP-10 and T cell migration. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 300:E304-E311

298. Moens U, Kostenko S, Sveinbjörnsson B. The role of mitogen-activated protein kinase-activated protein kinases (MAPKAPKs) in inflammation. *Genes* 2013; 4:101-133

-
299. Cargnello M, Roux PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev* 2011; 75:50-83
300. Bachstetter AD, Van Eldik LJ. The p38 MAP kinase family as regulators of pro-inflammatory cytokine production in degenerative disease of the CNS. *Aging Dis* 2010; 1:199-211
301. Day AJ, Milner CM. TSG-6: A multifunctional protein with anti-inflammatory and tissue-protective properties. *Matrix Biol* 2019; 78-79:60-83
302. Herder C, Baumert J, Thorand B, Koenig W, de Jager W, Meisinger C, Illig T, Martin S, Kolb H. Chemokines as risk factors for type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg study, 1984-2002. *Diabetologia* 2006; 49:921-929
303. Liu C, Feng X, Li Q, Wang Y, Li Q, Hua M. Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine* 2016; 86:100-109
304. Shore AC, Colhoun HM, Natali A, Palombo C, Khan F, Östling G, Aizawa K, Kennbäck C, Casanova F, Persson M, Gooding K, Gates PE, Looker H, Dove F, Belch J, Pinnola S, Venturi E, Kozakova M, Goncalves I, Kravic J, Björkbacka H, Nilsson J; SUMMIT Consortium. Use of vascular assessments and novel biomarkers to predict cardiovascular events in type 2 diabetes: The SUMMIT VIP Study. *Diabetes Care* 2018; 41:2212-2219
305. Sjaarda J, Gerstein H, Chong M, Yusuf S, Meyre D, Anand SS, Hess S, Paré G. Blood CSF1 and CXCL12 as causal mediators of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2018; 72:300-310
306. Tateya S, Tamori Y, Kawaguchi T, Kanda H, Kasuga M. An increase in the circulating concentration of monocyte chemoattractant protein-1 elicits systemic insulin resistance irrespective of adipose tissue inflammation in mice. *Endocrinology* 2010; 151:971-979
307. Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K, Charo I, Leibel RL, Ferrante AW Jr. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest* 2006; 116:115-124
308. Huber J, Kiefer FW, Zeyda M, Ludvik B, Silberhumer GR, Prager G, Zlabinger GJ, Stulnig TM. CC chemokines and CC chemokine receptor profiles in visceral and subcutaneous adipose tissue are altered in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:3215-3221
309. Sajadi SM, Khoramdelazad H, Hassanshahi G, Rafatpanah H, Hosseini J, Mahmoodi M, Arababadi MK, Derakhshan R, Hasheminasabzavareh R, Hosseini-Zijoud SM, Ahmadi Z. Plasma levels of CXCL1 (GRO- α) and CXCL10 (IP-10) are elevated in type 2 diabetic patients: evidence for the involvement of inflammation and angiogenesis/angiostasis in this disease state. *Clin Lab* 2013; 59:133-137
310. Nunemaker CS, Chung HG, Verrilli GM, Corbin KL, Upadhye A, Sharma PR. Increased serum CXCL1 and CXCL5 are linked to obesity, hyperglycemia, and impaired islet function. *J Endocrinol* 2014; 222:267-276
311. Chavey C, Lazennec G, Lagarrigue S, Clapé C, Irena Iankova I, Teyssier J, Annicotte JS, Schmidt J, Matakí C, Yamamoto H, Sanches R, Guma A, Stich V, Vitkova M, Jardin-Watelet B, Renard E, Strieter R, Tuthill A, Hotamisligil GS, Vidal-Puig T, Zorzano A, Langin D, Fajas L. CXCL5 is an adipose tissue derived factor that links obesity to insulin resistance. *Cell Metab* 2009; 9:339-349

-
312. Mahdi T, Hänzelmann S, Salehi A, Muhammed SJ, Reinbothe TM, Tang Y, Axelsson AS, Zhou Y, Jing X, Almgren P, Krus U, Taneera J, Blom AM, Lyssenko V, Esguerra JL, Hansson O, Eliasson L, Derry J, Zhang E, Wollheim CB, Groop L, Renström E, Rosengren AH. Secreted frizzled-related protein 4 reduces insulin secretion and is overexpressed in type 2 diabetes. *Cell Metab* 2012; 16:625-633
313. Shai I, Pischon T, Hu FB, Ascherio A, Rifai N, Rimm EB. Soluble intercellular adhesion molecules, soluble vascular cell adhesion molecules, and risk of coronary heart disease. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14:2099-2106
314. Newby AC. Matrix metalloproteinase inhibition therapy for vascular diseases. *Vascul Pharmacol* 2012; 56:232-244
315. Sapienza P, Borrelli V, di Marzo L, Cavallaro A. MMP and TIMP alterations in asymptomatic and symptomatic severe recurrent carotid artery stenosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2009; 37:525-530
316. Pelisek J, Rudelius M, Zepper P, Poppert H, Reeps C, Schuster T, Eckstein HH. Multiple biological predictors for vulnerable carotid lesions. *Cerebrovasc Dis* 2009; 601-610
317. Marton MJ, Vazquez de Aldana CR, Qiu H, Chakraborty K, Hinnebusch AG. Evidence that GCN1 and GCN20, translational regulators of GCN4, function on elongating ribosomes in activation of eIF2alpha kinase GCN2. *Mol Cell Biol* 1997; 17:4474-4489
318. Lee AS, Kranzusch PJ, Doudna JA, Cate JH. eIF3d is an mRNA cap-binding protein that is required for specialized translation initiation. *Nature* 2016; 536:96-99
319. Zhou X, Liao WJ, Liao JM, Liao P, Lu H. Ribosomal proteins: functions beyond the ribosome. *J Mol Cell Biol* 2015; 7:92-104
320. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calton M, Sadri N, Yun C, Popko B, Paules R, Stojdl DF, Bell JC, Hettmann T, Leiden JM, Ron D. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell* 2003; 11:619-633
321. Pakos-Zebrucka K, Koryga I, Mnich K, Ljubic M, Samali A, Gorman AM. The integrated stress response. *EMBO Rep* 2016; 17:1374-1395
322. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:448-454
323. Gruys E, Toussaint MJ, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B* 2005; 6:1045-1056
324. Vlaicu SI, Tatomir A, Boodhoo D, Vesa S, Mircea PA, Rus H. The role of complement system in adipose tissue-related inflammation. *Immunol Res* 2016; 64:653-664
325. Moreno-Navarrete JM, Fernández-Real JM. The complement system is dysfunctional in metabolic disease: Evidences in plasma and adipose tissue from obese and insulin resistant subjects. *Semin Cell Dev Biol* 2019; 85:164-172
326. Chen J, Chen ZJ. Regulation of NF- κ B by ubiquitination. *Curr Opin Immunol* 2013; 25:4-12

-
327. Nissinen L, Kähäri VM. Matrix metalloproteinases in inflammation. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840:2571-2780
328. Kralisch S, Klein J, Lossner U, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Proinflammatory adipocytokines induce TIMP-1 expression in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2005; 579:6417-6422
329. Weise S, Kralisch S, Sommer G, Lossner U, Bluher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 mRNA production and protein secretion are induced by interleukin-1 beta in 3T3-L1 adipocytes. *J Endocrinol* 2008; 198:169-174
330. Lefere S, Van de Velde F, Devisscher L, Bekaert M, Raevens S, Verhelst X, Van Nieuwenhove Y, Praet M, Hoorens A, Van Steenkiste C, Van Vlierberghe H, Lapauw B, Geerts A. Serum vascular cell adhesion molecule-1 predicts significant liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Obes* 2017; 41:1207-1213
331. Benedicto A, Romayor I, Arteta B. Role of liver ICAM-1 in metastasis. *Oncol Lett* 2017; 14:3883-3892
332. Xu H, Cao H, Xiao G. Signaling via PINCH: Functions, binding partners and implications in human diseases. *Gene* 2016; 594:10-15
333. Dyer DP, Salanga CL, Johns SC, Valdambrini E, Fuster MM, Milner CM, Day AJ, Handel TM. The anti-inflammatory protein TSG-6 regulates chemokine function by inhibiting chemokine/glycosaminoglycan interactions. *J Biol Chem* 2016; 291:12627-12640
334. Schmitz S. *Der Experimentator: Zellkultur*. Spektrum, Akademischer Verlag 3. Auflage 2011; S73

8. PUBLIKATIONEN IM RAHMEN DER KUMULATIVEN DISSERTATION

- P1:** Herder C, Kannenberg JM, **Niersmann C**, Huth C, Carstensen-Kirberg M, Wittenbecher C, Schulze M, Blüher M, Rathmann W, Peters A, Roden M, Meisinger C, Thorand B. Independent and opposite associations of serum levels of omentin-1 and adiponectin with increases of glycaemia and incident type 2 diabetes in an older population: KORA F4/FF4 study. *Eur J Endocrinol* 2017; 177:277-286
- P2:** **Niersmann C**, Carstensen-Kirberg M, Maalmi H, Holleczeck B, Roden M, Brenner H, Herder C, Schöttker B. Higher circulating omentin is associated with increased risk of primary cardiovascular events in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2020; 63:410-418
- P3:** **Niersmann C**, Röhrig K, Blüher M, Roden M, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Increased release of proinflammatory proteins in primary human adipocytes and activation of the inflammatory NFκB, p38 and ERK pathways upon omentin treatment. *Obes Facts* 2020; 13:221-236
- P4:** **Niersmann C**, Hauck SM, Kannenberg JM, Röhrig K, von Toerne C, Roden M, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Omentin-regulated proteins combine a pro-inflammatory phenotype with an anti-inflammatory counterregulation in human adipocytes: a proteomics analysis. *Diabetes Metab Res Rev* 2019; 35:e3074

PUBLIKATIONEN

Original-Artikel (Erstautorschaft):

Niersmann C, Hauck SM, Kannenberg JM, Röhrig K, von Toerne C, Roden M, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Omentin-regulated proteins combine a pro-inflammatory phenotype with an anti-inflammatory counterregulation in human adipocytes: a proteomics analysis. *Diabetes Metab Res Rev* 2019; 35:e3074

Niersmann C, Carstensen-Kirberg M, Maalmi H, Holleczeck B, Roden M, Brenner H, Herder C, Schöttker B. Higher circulating omentin is associated with increased risk of primary cardiovascular events in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2020; 63:410-418

Niersmann C, Röhrig K, Blüher M, Roden M, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Increased release of proinflammatory proteins in primary human adipocytes and activation of the inflammatory NFκB, p38 and ERK pathways upon omentin treatment. *Obes Facts* 2020; 13:221-236

Übersichtsartikel

Niersmann C, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Omentin und kardiometabolisches Risiko. *Diabetologe* 2019; 15:305-310

Original-Artikel (Koautorschaft):

Herder C, Kannenberg JM, **Niersmann C**, Huth C, Carstensen-Kirberg M, Wittenbecher C, Schulze M, Blüher M, Rathmann W, Peters A, Roden M, Meisinger C, Thorand B. Independent and opposite associations of serum levels of omentin-1 and adiponectin with increases of glycaemia and incident type 2 diabetes in an older population: KORA F4/FF4 study. *Eur J Endocrinol* 2017; 177:277-286

Carstensen-Kirberg M, Röhrig K, **Niersmann C**, Ouwens DM, Belgardt BF, Roden M, Herder C. Sfrp5 increases glucose-stimulated insulin secretion in the rat pancreatic beta cell line INS-1E. *PLoS One* 2019; 14:e0213650

KONGRESSBEITRÄGE UND EINGELADENE VORTRÄGE

2017

Niersmann C, Röhrig K, Blüher M, Roden M, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Proinflammatory action of omentin through activation of the inflammatory pathways NFκB, p38 and ERK in primary human adipocytes [Abstract]. Diabetologie und Stoffwechsel 2017; 12:222. 52. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG), Hamburg; 24. – 27. Mai 2017.

Poster

Niersmann C, Röhrig K, Blüher M, Roden M, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Proinflammatory action of omentin through activation of the inflammatory pathways NFκB, p38 and ERK in primary human adipocytes [Abstract]. Diabetologia 2017; 60:S290-S291.

53. Jahrestagung der European Association for the Study of Diabetes (EASD), Lissabon (Portugal); 11. – 15. September 2017. **Poster**

2018

Niersmann C, Hauck SM, Kannenberg JM, Röhrig K, von Toerne C, Roden M, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Omentin-induzierte Sekretion von Proteinen aus humanen Adipozyten und Stimulation der angeborenen Immunantwort [Abstract]. Diabetologie und Stoffwechsel 2018; 13:S4.

53. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG), Berlin; 09. – 12. Mai 2018.

Vortrag

Niersmann C. Pro-inflammatory phenotype of omentin through activation of inflammatory pathways in primary human adipocytes.

8. Joint Diabetes and Metabolism Research Symposium, Maastricht-Düsseldorf-Lille, Maastricht; 28. - 29. Mai 2018. **Vortrag**

Niersmann C, Hauck SM, Kannenberg JM, Röhrig K, von Toerne C, Roden M, Herder C, Carstensen-Kirberg M. Omentin-induced secretion of proteins by primary human adipocytes and stimulation of the innate immune system [Abstract]. Diabetologia 2018; 61:S254-S255.

54. Jahrestagung der European Association for the Study of Diabetes (EASD), Berlin; 01. – 05. Oktober 2018. **Poster**

2019

Niersmann C, Herder C. Omentin, inflammation and cardiometabolic risk. CRC 1052 Colloquium an der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig, Leipzig; 26. April 2019.

Eingeladener Vortrag

Niersmann C, Carstensen-Kirberg M, Maalmi H, Holleczeck B, Roden M, Brenner H, Herder C, Schöttker B. Higher circulating levels of omentin are associated with a higher risk of primary cardiovascular events in patients with type 2 diabetes: ESTHER study [Abstract]. Diabetologie und Stoffwechsel 2019; 14:S63-S64.

54. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG), Berlin; 29. Mai – 01. Juni 2019.

Poster

Niersmann C, Carstensen-Kirberg M, Maalmi H, Holleczeck B, Roden M, Brenner H, Herder C, Schöttker B. Higher circulating levels of omentin are associated with a higher risk of primary cardiovascular events in patients with type 2 diabetes: ESTHER study [Abstract]. Diabetologia 2019; 62:S64-65.

55. Jahrestagung der European Association for the Study of Diabetes (EASD), Barcelona (Spanien); 16. – 20. September 2019. **Vortrag**

STIPENDIEN

REISESTIPENDIEN

- 2017: Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) (Hamburg) gefördert durch die DDG
- Jahrestagung der Europäischen Diabetes Gesellschaft (EASD) (Lissabon) gefördert die EASD und das Deutsche Zentrum für Diabetesforschung (DZD)
- 2018: Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft (Berlin) gefördert durch die DDG
- Jahrestagung der Europäischen Diabetes Gesellschaft (Berlin) gefördert durch die EASD und das DZD
- 2019: Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft (Berlin) gefördert durch die DDG
- Jahrestagung der Europäischen Diabetes Gesellschaft (Barcelona) gefördert durch die EASD und das DZD

DRITTMITTEL

- 2017: Projektförderung Dr. Eickelberg-Stiftung (3.500 Euro)
Thema des Projektes: *„Neutralisation of the pro-inflammatory action and detrimental effects of omentin on adipocytes and endothelial function by upregulation of its negative regulator TNFAIP-6”*

DANKSAGUNG

Abschließend möchte ich mich zunächst bei Herrn Universitätsprofessor Dr. Michael Roden und Herrn Professor Dr. Christian Herder für die Möglichkeit bedanken, dass ich im Institut für Klinische Diabetologie in der Arbeitsgruppe „Inflammation“ am Deutschen Diabetes-Zentrum meine Doktorarbeit erstellen durfte.

Mein besonderer Dank gilt natürlich meinem Chef Herrn Professor Dr. Christian Herder. Zunächst möchte ich mich für die Themenauswahl meiner Doktorarbeit, welche es mir ermöglichte, an einem ausgesprochen interessanten Forschungsfeld zu arbeiten, bedanken. Darüber hinaus bedanke ich mich insbesondere für die intensive und hervorragende Betreuung und Unterstützung während meiner gesamten Promotionszeit. Seine ständige Bereitschaft einschließlich der hilfreichen wissenschaftlichen Diskussionen, sein Vertrauen und somit die angemessene Freiheit in der Bearbeitung des Forschungsthemas ermöglichten erst die Anfertigung dieser Arbeit. Außerdem bin ich dankbar, dass er mir die Teilnahme an hochrangigen nationalen sowie internationalen Kongressen, durch welche sowohl mein wissenschaftlicher Horizont erweitert wurde als auch neue Anregungen für das eigene Forschungsprojekt gewonnen werden konnten, ermöglicht hat.

Herrn Universitätsprofessor Dr. Eckhard Lammert danke ich für das Interesse und die Übernahme des Koreferats meiner Doktorarbeit.

Zudem möchte ich die ausgezeichnete Mitbetreuung und wertvollen Ratschläge von Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg besonders hervorheben. An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich dafür bedanken, dass sie mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand. Auch für die freundliche, lustige und konstruktive Zusammenarbeit im Labor, die hilfreiche Unterstützung auf den Kongressen sowie die kritische Durchsicht meiner Dissertation bedanke ich mich. Diese Mitbetreuung trug ebenfalls zum erfolgreichen Abschluss meiner Doktorarbeit bei.

Mein großer Dank richtet sich auch an meine Kolleginnen Frau Karin Röhrig, Frau Ulrike Partke und Frau Dr. Dr. Haifa Maalmi der Arbeitsgruppe „Inflammation“ für die Hilfsbereitschaft, die tolle Zusammenarbeit und die angenehme Arbeitsatmosphäre einschließlich der netten Gespräche. Frau Karin Röhrig und Frau Ulrike Partke danke ich zudem dafür, dass sie immer ein offenes Ohr hatten. Ferner weiß ich die ausgezeichnete Einarbeitung von Frau Karin Röhrig sowie die Durchführung der statistischen Analysen von Frau Dr. Dr. Haifa Maalmi sehr zu schätzen. Insbesondere bin ich Frau Dr. Dr. Haifa Maalmi für die ausgezeichneten statistischen Auswertungen der ESTHER-Daten, die die Erstellung des zweiten Manuskriptes erst ermöglichten, dankbar.

Für die geselligen und lustigen Mittagspausen möchte ich mich ebenfalls bei den jeweiligen Mitarbeitern des Deutschen Diabetes-Zentrums einschließlich bei Herrn Privatdozent Dr. Volker Burkart, Frau Waltraud Fingberg und Frau Corinna Wessel bedanken.

Außerdem bedanke ich mich bei den Koautoren Frau Julia M. Kannenberg, Frau Dr. Cornelia Huth, Herrn Dr. Clemens Wittenbecher, Herrn Prof. Dr. Matthias Schulze, Herrn Prof. Dr. Matthias Blüher, Herrn Prof. Dr. Wolfgang Rathmann, Frau Prof. Dr. Annette Peters, Frau Prof. Dr. Christina Meisinger, Frau Prof. Dr. Barbara Thorand, Herrn Dr. Bernd Holleczek, Herrn Prof. Dr. Hermann Brenner, Herrn Privatdozent Dr. Ben Schöttker, Frau Dr. Stefanie Hauck und Frau Dr. Christine von Törne für die erfolgreiche Zusammenarbeit einschließlich der wissenschaftlichen Diskussionen.

Die Forschungsplattform KORA (Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg) wurde initiiert und finanziert vom Helmholtz Zentrum München – Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, das vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) sowie vom Freistaat Bayern gefördert wird.

Die ESTHER-Studie wurde vom saarländischen Ministerium für Soziales, Gesundheit, Frauen und Familie (Saarbrücken), dem Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst des Landes Baden-Württemberg (Stuttgart), dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (Berlin) und dem Bundesministerium für Familie, Senioren, Frauen und Jugend (Berlin) finanziert.

Der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG), der Europäischen Diabetes Gesellschaft (EASD) sowie dem Deutschen Zentrum für Diabetesforschung (DZD) möchte ich meinen Dank für die Gewährung von Reisestipendien und die damit verbundenen Teilnahmen an hochrangigen Kongressen und Nachwuchsförderprogrammen aussprechen. Ferner danke ich der Dr. Eickelberg Stiftung für den Erhalt einer Projektförderung.

Abschließend danke ich von ganzem Herzen meinen Eltern, Gisela und Gregor Niersmann, meinem Bruder, Boris Niersmann, sowie meinem Lebenspartner, Julian Heisig, die mich immer unterstützen, an mich glauben und für mich da sind.

EIGENER ANTEIL AN DEN ORIGINAL VERÖFFENTLICHUNGEN

Die vier Manuskripte der vorliegenden Dissertation wurden in Zusammenarbeit mit Kollegen und Kooperationspartnern der Arbeitsgruppe „Inflammation“ (Arbeitsgruppen-Leiter: Herr Prof. Dr. Christian Herder) des Deutschen Diabetes-Zentrums erbracht. Die nachfolgenden Ausführungen fassen meine Beiträge für die jeweiligen Veröffentlichungen zusammen.

Manuskript 1:

- Interpretation der Daten zusammen mit Herrn Prof. Dr. Christian Herder, Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg, Herrn Dr. Clemens Wittenbecher, Herrn Prof. Dr. Matthias Schulze, Herrn Prof. Dr. Matthias Blüher und Herrn Prof. Dr. Michael Roden
- Überarbeitung des Manuskriptes und Überprüfung der finalen Version des Manuskriptes mit allen weiteren Autoren

Manuskript 2:

- Entwurf der Studie zusammen mit Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg, Herrn Prof. Dr. Christian Herder und Herrn Priv.-Doz. Dr. Ben Schöttker
- Messung der Serumkonzentrationen von Omentin mittels ELISA
- Mitarbeit am Analyseplan mit Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg, Herrn Prof. Dr. Christian Herder und Frau Dr. Dr. Haifa Maalmi
- Erstellung des Manuskriptes zusammen mit Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg und Herrn Prof. Dr. Christian Herder
- Überarbeitung des Manuskriptes und Überprüfung der finalen Version des Manuskriptes zusammen mit allen weiteren Autoren

Manuskript 3:

- Entwurf der Studie zusammen mit Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg, Herrn Prof. Dr. Christian Herder und Herrn Dr. Matthias Blüher
- Kultivierung von primären humanen Adipozyten unter verschiedenen Bedingungen zur Gewinnung von Überständen und Zelllysaten
- Durchführung von Western-Blot Analysen zur Identifizierung der Signaltransduktionswege, über die Omentin seine Wirkungen vermittelt
- Statistische Auswertung der Western-Blot Analysen sowie der Olink Proteomics Daten zusammen mit Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg
- Durchführung von bioinformatischen Analysemethoden (*Ingenuity® Pathway Analyse*) zur Interpretation der Olink Proteomics-Daten, um den Wirkmechanismus von Omentin zu entschlüsseln
- Erstellung der Abbildungen für das Manuskript und Entwurf des Manuskriptes

- Überarbeitung des Manuskriptes und Überprüfung der finalen Version des Manuskriptes zusammen mit allen weiteren Autoren

Manuskript 4:

- Entwurf der Studie zusammen mit Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg und Herrn Prof. Dr. Christian Herder
- Zelluläre Arbeiten mit primären humanen Adipozyten zur Gewinnung von Zellkulturüberständen und Zelllysaten
- Durchführung von bioinformatischen Analysemethoden (*Ingenuity® Pathway Analyse*) zur Interpretation der Daten der Proteomanalyse, um den Sekretionsmechanismus von Omentin zu charakterisieren zusammen mit Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg
- Entwurf des Manuskriptes zusammen mit Frau Dr. Maren Carstensen-Kirberg
- Überarbeitung des Manuskriptes und Überprüfung der finalen Version des Manuskriptes zusammen mit allen weiteren Autoren

EIDESSTÄTTLICHE VERSICHERUNG

Niersmann, Corinna

(Name, Vorname)

(Matr.-Nr.)

Ich versichere hiermit an Eides Statt, dass die vorliegende Dissertation mit dem Titel „Zusammenhang zwischen Omentin, Inflammation und kardiometabolischem Risiko“ von mir selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt. Die Dissertation hat in gleicher oder ähnlicher Form noch bei keiner Prüfungsbehörde vorgelegen. Ich habe bisher keine erfolglosen Promotionsversuche vorgenommen.

Düsseldorf, 27.11.2019

(Ort, Datum)

(Corinna Niersmann)