

# **UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG EPPENDORF**

Aus der 3. Medizinischen Klinik

Direktor: Prof. Dr. med. R. A. K. Stahl

des Zentrums für Innere Medizin

des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf

## **Auswirkung genetischer Varianten in den Genen *INSIG2* und *ADRB3* auf den Body Mass Index und Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels**

### **Dissertation**

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Britta Böckmann

aus Bad Soden am Taunus

Hamburg 2010

**Angenommen von der**

**Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 24.02.2011**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der**

**Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

**Prüfungsausschuss der/ die Vorsitzende:**

**Prof. Dr. F. U. Beil**

**Prüfungsausschuss: zweite/ r Gutachter/ in:**

**PD Dr. C. Herborn**

**Prüfungsausschuss: dritte/ r Gutachter/ in:**

**PD Dr. O. Mann**

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis.....</b>	<b>III</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>VII</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>VIII</b>
<b>1 Arbeitshypothese und Fragestellung.....</b>	<b>10</b>
<b>2 Einleitung.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 Adipositas.....</b>	<b>11</b>
2.1.1 Definition und Klassifikation.....	11
2.1.2 Epidemiologie.....	12
2.1.3 Ätiologie.....	14
2.1.4 Komorbiditäten der Adipositas.....	15
2.1.4.1 Arterieller Hypertonus.....	15
2.1.4.2 Diabetes mellitus Typ 2.....	15
2.1.4.3 Metabolisches Syndrom.....	16
2.1.4.4 Kardiovaskuläre Erkrankungen.....	16
2.1.4.5 Krebserkrankungen.....	16
<b>2.2 Kandidatengene.....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Insulin-Induced Gene 2 (INSIG2).....	17
2.2.1.1 Funktion.....	17
2.2.1.2 Lokalisation.....	18
2.2.2 $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Gen (ADRB3).....	18
2.2.2.1 Funktion.....	18
2.2.2.2 Lokalisation.....	20
<b>3 Material und Methoden.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Das Patientenkollektiv.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Die Datenbank.....</b>	<b>21</b>

<b>3.3</b>	<b>Labormethoden.....</b>	<b>22</b>
3.3.1	Fettstoffwechsel .....	22
3.3.1.1	Gesamtcholesterin.....	22
3.3.1.2	High Density Lipoprotein (HDL) .....	22
3.3.1.3	Low Density Lipoprotein (LDL) .....	22
3.3.1.4	Triglyceride.....	23
3.3.2	Kohlenhydratstoffwechsel.....	23
3.3.2.1	Glukose .....	23
3.3.2.2	HbA1c .....	23
<b>3.4</b>	<b>Detektion der Genmutationen .....</b>	<b>24</b>
3.4.1	Isolation der DNA aus Vollblut .....	24
3.4.2	Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) .....	25
3.4.2.1	Anwendung bei der Detektion von Mutationen im INSIG2-Gen.....	25
3.4.2.2	Anwendung bei der Detektion von Mutationen im ADRB3-Gen .....	26
3.4.3	Die Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse.....	27
3.4.3.1	Anwendung bei der Detektion von Mutationen im INSIG2-Gen.....	28
3.4.3.2	Anwendung bei der Detektion von Mutationen im ADRB3-Gen .....	28
<b>3.5</b>	<b>Statistik.....</b>	<b>29</b>
3.5.1	Statistische Maßzahlen.....	29
3.5.1.1	Mittelwert.....	29
3.5.1.2	Median (Zentralwert) .....	29
3.5.1.3	Varianz.....	30
3.5.1.4	Standardabweichung .....	30
3.5.2	Statistische Tests .....	30
3.5.2.1	T-Test für unabhängige Stichproben.....	30
3.5.3	P-Wert und Signifikanz .....	30

<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>31</b>
<b>4.1</b>	<b>Das Gesamtkollektiv</b>	<b>31</b>
<b>4.2</b>	<b>Insulin Induced Gene 2</b>	<b>32</b>
4.2.1	Polymorphismusprävalenz	32
4.2.2	Vergleich der Genotypen	33
4.2.2.1	Body Mass Index	33
4.2.2.2	Fettstoffwechsel	35
4.2.2.3	Kohlenhydratstoffwechsel	37
<b>4.3</b>	<b><math>\beta_3</math>-Adrenorezeptor-Gen</b>	<b>39</b>
4.3.1	Polymorphismusprävalenz	39
4.3.2	Vergleich der Genotypen	40
4.3.2.1	Body Mass Index	40
4.3.2.2	Fettstoffwechsel	42
4.3.2.3	Kohlenhydratstoffwechsel	45
<b>4.4</b>	<b>Gen-Gen Interaktion Insulin Induced Gene 2 und <math>\beta_3</math>-Adrenorezeptor-Gen</b>	<b>47</b>
4.4.1	Polymorphismusprävalenz	47
4.4.2	Vergleich der Genotypen	49
4.4.2.1	Body Mass Index	49
4.4.2.2	Fettstoffwechsel	50
4.4.2.3	Kohlenhydratstoffwechsel	56
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>59</b>
<b>5.1</b>	<b>Insulin Induced Gene 2</b>	<b>59</b>
5.1.1	Bedeutung und bisherige Studienergebnisse	59
5.1.2	Untersuchungsergebnisse	61
5.1.2.1	Polymorphismushäufigkeit	61
5.1.2.2	Body Mass Index	61

5.1.2.3	Fettstoffwechsel .....	62
5.1.2.4	Kohlenhydratstoffwechsel .....	63
<b>5.2</b>	<b><math>\beta_3</math>-Adrenorezeptor-Gen.....</b>	<b>63</b>
5.2.1	Bedeutung und bisherige Studienergebnisse .....	63
5.2.2	Untersuchungsergebnisse .....	66
5.2.2.1	Polymorphismushäufigkeit .....	66
5.2.2.2	Body Mass Index .....	66
5.2.2.3	Fettstoffwechsel .....	67
5.2.2.4	Kohlenhydratstoffwechsel .....	69
<b>5.3</b>	<b>Gen-Gen Interaktion Insulin Induced Gene 2 und <math>\beta_3</math>-Adrenorezeptor-Gen.....</b>	<b>70</b>
5.3.1	Untersuchungsergebnisse .....	70
5.3.1.1	Polymorphismushäufigkeit .....	70
5.3.1.2	Body Mass Index .....	70
5.3.1.3	Fettstoffwechsel .....	71
5.3.1.4	Kohlenhydratstoffwechsel .....	72
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Schlussfolgerung.....</b>	<b>74</b>
<b>Literaturverzeichnis.....</b>		<b>LXXV</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>		<b>LXXXI</b>
<b>Danksagung.....</b>		<b>LXXXIV</b>
<b>Lebenslauf.....</b>		<b>LXXXV</b>
<b>Erklärung.....</b>		<b>LXXXVI</b>

---

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Abdominaler und gluteo-femorale Fettverteilungstyp [5] .....	12
Abbildung 2: INSIG2-Genotypenhäufigkeit .....	33
Abbildung 3: Body Mass Index - aufgeteilt nach Genotypen (INSIG2).....	34
Abbildung 4: ADRB3-Genotypenhäufigkeit .....	40
Abbildung 5: Body Mass Index - aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3) .....	41
Abbildung 6: Gesamtcholesterin (Frauen) - aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3).....	43
Abbildung 7: LDL-Cholesterin (Frauen) – aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3) .....	43
Abbildung 8: Glukose-Wert (Frauen) - aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3).....	46
Abbildung 9: Glukose-Wert (Männer) - aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3).....	47
Abbildung 10: Kombination INSIG2/ADRB3-Genotypenhäufigkeit.....	48
Abbildung 11: Body Mass Index - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3) .....	50
Abbildung 12: Gesamtcholesterin (Gesamtkollektiv) - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3) .....	53
Abbildung 13: LDL-Cholesterin (Gesamtkollektiv) - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3).....	54
Abbildung 14: Gesamtcholesterin (Frauen) - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3).....	55
Abbildung 15: -Cholesterin (Frauen) - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3).....	55

---

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifizierung des Body-Mass-Index [3] .....	12
Tabelle 2: BMI nach WHO-Klassen (in %); telefonischer Gesundheitssurvey 2003 (GSTel03) [6] .....	13
Tabelle 3: PCR-Mix (INSIG-2 Gen) .....	26
Tabelle 4: PCR-Zyklen (INSIG-2 Gen) .....	26
Tabelle 5: PCR-Mix (ADRB3 Gen) .....	27
Tabelle 6: PCR-Zyklen (ADRB3 Gen) .....	27
Tabelle 7: Durchschnittliches Alter und durchschnittlicher BMI des Gesamtkollektivs .....	31
Tabelle 8: Parameter des Fettstoffwechsels im Gesamtkollektiv .....	32
Tabelle 9: Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels im Gesamtkollektiv .....	32
Tabelle 10: Prävalenz der INSIG2-Genotypen .....	33
Tabelle 11: INSIG2-Genotypen: Vergleich von Alter und BMI .....	35
Tabelle 12: INSIG2-Genotypen: Vergleich von Parametern des Fettstoffwechsels getrennt nach Geschlecht .....	36
Tabelle 13: INSIG2-Genotypen: Vergleich von Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels getrennt nach Geschlecht .....	38
Tabelle 14: Prävalenz der ADRB3-Genotypen .....	39
Tabelle 15: ADRB3-Genotypen: Vergleich von Alter und BMI .....	42
Tabelle 16: ADRB3-Genotypen: Vergleich von Parametern des Fettstoffwechsels getrennt nach Geschlecht .....	44
Tabelle 17: ADRB3-Genotypen: Vergleich von Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels geteilt nach Geschlecht .....	45
Tabelle 18: Prävalenz der kombinierten INSIG2/ADRB3-Genotypen .....	48
Tabelle 19: Kombination INSIG2-/ADRB3-Genotypen: Vergleich von Alter und BMI .....	49
Tabelle 20: INSIG2-/ADRB3-Genotypen: Vergleich von Parametern des Fettstoffwechsels getrennt nach Geschlecht .....	51

Tabelle 21: INSIG2-/ADRB3-Genotypen: Vergleich von Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels geteilt nach Geschlecht..... 57

## 1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Adipositas stellt sowohl für die Betroffenen als auch für die Gesellschaft ein wichtiges und zugleich zunehmendes Problem dar. Nachweislich hat die Entwicklung von Adipositas eine starke genetische Komponente. Über die Rolle einzelner Genorte ist bisher aber wenig bekannt.

Eine Reihe von Vorbefunden deuten darauf hin, dass sowohl das INSIG2-Gen (Insulin Induced Gene 2) als auch das ADRB3-Gen ( $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Gen), deren Genprodukte funktionell in den Fettstoffwechsel eingebunden sind, potentielle Kandidatengene für die Entstehung der humanen Adipositas darstellen. Zusätzlich zeigt sich, dass die Adipositasentstehung aufgrund genetischer Anomalien bis auf wenige Ausnahmen auf einem polygenen Mutationsgeschehen beruht.

Im Rahmen der vorliegenden Studie soll deshalb an einem adipösen Patientenkollektiv untersucht werden, ob eine Assoziation zwischen einem erhöhten Body Mass Index, laborchemisch erhöhten Werten des Fett- sowie Glukosestoffwechsels und der alleinigen sowie kombinierten Mutation im INSIG2- und ADRB3-Gen besteht.

## 2 Einleitung

### 2.1 Adipositas

#### 2.1.1 Definition und Klassifikation

Adipositas ist definiert als eine Erhöhung des Körpergewichts durch eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfettanteils.[1] Zur Klassifikation der Adipositas gibt es verschiedene Messmethoden. Lange Zeit wurde der vom Franzosen Paul Broca (1824-1880) durch den Satz „Der Mensch sollte etwa soviel Kilogramm Körpergewicht auf die Waage bringen wie er Zentimeter über einen Meter groß ist“ [2] geprägte Broca-Index verwendet. Er errechnet sich nach der Formel:

$$\text{Normalgewicht (in kg)} = \text{Körperlänge (in cm)} \text{ minus } 100.$$

Der Broca-Index ist heutzutage weniger gebräuchlich, da kleine Menschen, Männer und Ältere zu streng, die Jüngeren, Frauen und lange Personen dagegen etwas zu günstig behandelt werden. Stattdessen hat sich der vom Belgier Lambert Adolphe Jaques Quetelet (1796-1874) beschriebene Body-Mass-Index (BMI) international etabliert. Er wird mit unten stehender Formel berechnet:

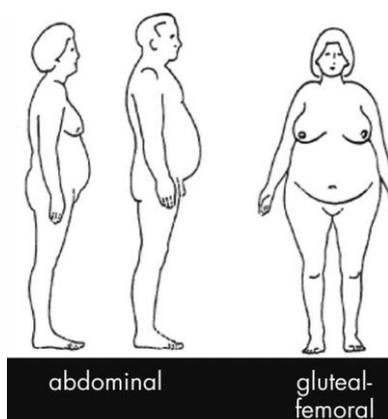
$$BMI = \frac{\text{Gewicht (in kg)}}{\text{Körperlänge (in m)}^2}$$

Der BMI korreliert mit der Fettmasse zu 95% und gilt als das beste indirekte Maß für die Körperfettmasse. Ein Problem des BMI ist allerdings, dass er auch durch die Muskelmasse beeinflusst wird und somit Personen mit einer großen Muskelmasse (z.B. Bodybuilder) fälschlicherweise als übergewichtig eingeschätzt werden könnten. Basierend auf dem errechneten BMI hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO = World Health Organisation) 1998 eine Klassifikation von Adipositas und Übergewicht eingeführt. Unter einem Wert von 18,5 kg/m<sup>2</sup> spricht man von Untergewicht. Ein Wert zwischen 25 kg/m<sup>2</sup> und 29,9 kg/m<sup>2</sup> wird als Übergewicht bezeichnet. Die Adipositas beginnt ab einem Wert von 30 kg/m<sup>2</sup> und ist noch einmal in drei Grade unterteilt. (Tabelle 1) [1][2]

**Tabelle 1: Klassifizierung des Body-Mass-Index [3]**

Bezeichnung	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
Normalgewicht	18,5 – 24,9
Übergewicht	25,0 – 29,9
Adipositas Grad I	30,0 – 34,9
Adipositas Grad II	35,0 – 39,9
Adipositas Grad III	>40

Generell werden zwei Fettverteilungsmuster unterschieden, denen ein unterschiedlich hohes Risiko für Begleit- und Folgeerkrankungen zugeschrieben wird: Der androide (abdominale) Typ, der wegen seines Verteilungsmusters auch als „Apfelform“ bezeichnet wird, hat eine ungünstigere Prognose in Bezug auf Folgeerkrankungen als der gynoide (gluteo-femorale) Typ, der wegen seines Verteilungsmusters auch als „Birnenform“ bezeichnet wird. (Abbildung 1) Die Definition einer abdominalen (androiden) Adipositas ist in der Literatur nicht einheitlich. Die International Diabetes Federation (IDF) spricht ab einem Taillenumfang von >80 cm bei Frauen und >94 cm bei Männern von abdominaler Adipositas, während die WHO (World Human Organisation) einen Taillenumfang von >88 cm bei Frauen und >102 cm bei Männern für die Definition der abdominalen Adipositas fordert. [4] Auch ein Taillen-Hüft-Verhältnis (Waist-hip ratio: WHR) von >1 bei Männern und >0,85 bei Frauen wird als abdominale Adipositas bezeichnet.

**Abbildung 1: Abdominaler und gluteo-femoraler Fettverteilungstyp [5]**

### 2.1.2 Epidemiologie

In den letzten Jahren hat die Prävalenz von Übergewicht und Adipositas weltweit stark zugenommen. Deutschland bildet dabei keine Ausnahme. [6]

Etwa eine Milliarde Menschen sind weltweit übergewichtig, etwa 300 Millionen Menschen adipös. Der Anteil von übergewichtigen bzw. adipösen Menschen ist heute weltweit größer als der Anteil untergewichtiger Menschen. Seit 1985 ist die Anzahl adipöser Menschen in Deutschland um ca. 6% angestiegen, wobei sich die Anzahl der Menschen mit einer Adipositas Grad III mehr als verdoppelt hat. Es leben schätzungsweise ca. eine Millionen Menschen mit einem Körpergewicht von mehr als 120 kg in Deutschland. [7]

Derzeit sind in der Bundesrepublik etwa 60% der erwachsenen Bevölkerung übergewichtig oder adipös. Davon sind etwa 70% Männer und 50% Frauen. [6]

Tabelle 2 stellt die BMI-Verteilung im Jahre 2003 unterteilt nach Geschlecht und Alter dar. Danach sind etwa 17% der Männer und 20% der Frauen adipös. Fast die Hälfte der männlichen und ein Drittel der weiblichen Bevölkerung hat Übergewicht. Dabei nimmt das durchschnittliche Körpergewicht laut Daten des telefonischen Gesundheitssurveys von 2003 (GSTel03) mit steigendem Alter deutlich zu, im hohen Alter wird es dann wieder geringer. Etwa 5% der 18 – 29 jährigen Frauen haben einen BMI unter 18,5 kg/m<sup>2</sup> und gelten somit als untergewichtig.[1][7]

**Tabelle 2: BMI nach WHO-Klassen (in %); telefonischer Gesundheitssurvey 2003 (GSTel03) [6]**

Alter in Jahren	Untergewicht <18,5 kg/m <sup>2</sup>	Normalgewicht 18,5 - <25 kg/m <sup>2</sup>	Übergewicht 25 - <30 kg/m <sup>2</sup>	Adipositas >30 kg/m <sup>2</sup>
<i>Männer</i>				
18 - 29	0,8	66,6	28,9	3,7
30 - 44	0,1	36,5	48,0	15,5
45 - 64	0,2	20,4	55,6	23,9
>65	0,0	17,0	60,5	22,5
<i>Gesamt</i>	0,2	33,3	49,2	17,3
<i>Frauen</i>				
18 - 29	4,6	75,2	16,2	4,0
30 - 44	0,4	60,1	28,2	11,3
45 - 64	0,3	33,1	40,1	26,5
>65	0,4	20,8	47,0	31,8
<i>Gesamt</i>	1,1	44,9	34,4	19,7

Laut den Daten der Untersuchungs- bzw. Gesundheitssurveys in der Zeit von 1984 bis 2003 hat die Prävalenz für Adipositas in den vergangenen 20 Jahren sukzessive zugenommen. Im Jahre 1984 waren etwa 15,5% der männlichen Bevölkerung adipös, während es im Jahre 2003 fast 18% waren. Bei den Frauen stieg der durchschnittliche Anteil von Adipösen in der Gesellschaft von 17% auf 17,5% an.

Auch die Prävalenz für Übergewicht hat zugenommen. Während im Jahre 1984 etwa die Hälfte der westdeutschen Bürger übergewichtig war, waren es 2003 52%. Bei den Frauen stieg die Prävalenz von Übergewicht von etwa 32% im Jahr 1984 auf etwa 34% im Jahr 2003.

### **2.1.3 Ätiologie**

In der heutigen Zeit ist die Verfügbarkeit für fettreiche und hochkalorische Nahrungsmittel deutlich höher als noch vor 100 Jahren. Viele Nahrungsmittel wie z.B. Fertiggerichte, das sogenannte „Fast Food“ und auch Getränke wie zuckerhaltige Softdrinks oder Alkohol enthalten pro Gewichtseinheit einen hohen Energiegehalt, was bei übermäßigem Konsum zu Übergewicht oder Adipositas führen kann. Das Sättigungsgefühl wird allerdings nicht durch den Energiegehalt eines Nahrungsmittels bestimmt, sondern durch die aufgenommene Nahrungsmenge, was zu einer Diskrepanz zwischen Energieaufnahme und Sättigungsgrad führen und so in einer übermäßigen Energieaufnahme mit den Folgen von Übergewicht enden kann.

Ein weiterer Grund für die alimentäre Adipositas ist der verminderte Energieverbrauch. Der Gesamtenergieverbrauch des Menschen setzt sich aus drei Komponenten zusammen: dem Grundumsatz, der Thermogenese und der körperlichen Aktivität. Der Anteil des Grundumsatzes am Gesamtenergieverbrauch beträgt etwa 55-70%. Er ist vom Alter, Geschlecht, der fettfreien Körpermasse (Muskulatur) und genetischen Voraussetzungen abhängig. Der Grundumsatz ist vorwiegend genetisch und über die Muskelmasse determiniert. Er lässt sich also nur in sehr engen Grenzen bewusst verändern, so zum Beispiel über die Zunahme von Muskelmasse. Unter Thermogenese wird der Verbrauch an Energie durch wärmeproduzierende Stimuli verstanden.[8] Ihr Anteil am Gesamtenergieverbrauch beträgt etwa 10% und lässt sich kaum beeinflussen. Die dritte Komponente des Gesamtenergieverbrauchs, die körperliche Aktivität, unterliegt, im Gegensatz zu den anderen beiden, einer großen Variationsbreite.[8]

Eine weitere Ursache für Übergewicht ist in der genetischen Prädisposition zu sehen. Der erbliche Anteil an Körpergewicht und Fettmasse wird auf etwa 64-80% geschätzt. In Zwillings- und Adoptionsstudien wurde gezeigt, dass der BMI der Kinder und der leiblichen Eltern stärker miteinander korrelierte als der BMI der Kinder und der Adoptiveltern.[9] Eine Zwillingsstudie ergab, dass bei Überernährung die Varianz der Zunahme an Körperfett zwischen den Paaren etwa 3 mal größer war als innerhalb der Zwillingspaare.

Man kann zwischen einem monogenen und einem polygenen Erbgang unterscheiden: Monogene Formen der Adipositas sind selten und gehen häufig mit anderen Komorbiditäten einher. Die Defekte liegen häufig in den Genen, deren Produkte in den Leptin-Melanokortin-Stoffwechsel eingebunden sind. Weitaus häufiger als der monogene ist allerdings der polygene Erbgang. In den letzten Jahren wurden viele sogenannte Kandidatengene, wie zum Beispiel das  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Gen (ADRB3) und das Insulinaktivierende Gen 2 (INSIG2), identifiziert, denen in Kombination mit anderen Faktoren adipositasbegünstigende Wirkungen zugeschrieben werden.[9]

#### **2.1.4 Komorbiditäten der Adipositas**

Das Risiko, Folge- und Begleiterkrankungen zu entwickeln, steigt mit zunehmendem BMI.[1] Dabei spielt besonders das Fettverteilungsmuster eine entscheidende Rolle. Vor Allem beim androgenen (stammbezogenen) Fettverteilungsmuster ist das Risiko für die Manifestation von Herz-Kreislauf-Erkrankungen erhöht, bei Frauen ist es gehäuft mit einer koronaren Herzkrankheit und einem Typ 2-Diabetes assoziiert. [4]

##### **2.1.4.1 Arterieller Hypertonus**

Arterielle Hypertonie ist definiert als ein wiederholt zu verschiedenen Zeiten gemessener systolischer Druck über 140 mmHg und/ oder ein diastolischer Druck über 90 mmHg. Optimal sind ein systolischer Druck unter 120 mmHg und ein diastolischer Druck unter 80 mmHg. [10]

Die arterielle Hypertonie ist die häufigste Begleiterkrankung von Adipositas, wobei mit zunehmendem Körpergewicht der systolische und diastolische Blutdruck ansteigen.[4]

##### **2.1.4.2 Diabetes mellitus Typ 2**

Etwa 5 – 7 Millionen Menschen leiden in Deutschland an einem Diabetes mellitus Typ 2. Die Diagnose ist zu stellen, wenn mehrfach ein Nüchternblutzuckerwert von  $>126$  mg/dl oder ein

Wert von  $>200$  mg/dl zwei Stunden nach einem oralen Glucose-Toleranz-Test (OGTT) gemessen werden. [10]

Das Risiko an einem Typ 2 Diabetes zu erkranken erhöht sich schon ab einem BMI von  $23,0 - 24,9$  kg/m<sup>2</sup>. Ab einem BMI von  $30$  kg/m<sup>2</sup> ist das Risiko mindestens um das 30-fache erhöht. Das Risiko ist bei androider Fettverteilung höher als bei gynoider und nimmt mit der Dauer der bestehenden Adipositas zu. [1]

#### **2.1.4.3 Metabolisches Syndrom**

Das metabolische Syndrom ist ein Symptomkomplex von kardiovaskulären Risikofaktoren bestehend aus androidem Fettverteilungsmuster, Bluthochdruck, Hypertriglyceridämie und Glukoseintoleranz. Es bewirkt sowohl bei Frauen als auch bei Männern ein etwa 3-fach erhöhtes Risiko für eine Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit und eines Typ 2-Diabetes.[1],[4]

#### **2.1.4.4 Kardiovaskuläre Erkrankungen**

Adipöse haben ein erhöhtes Risiko einen Herzinfarkt zu erleiden, dabei steigt das Risiko mit zunehmendem BMI. Bei einem BMI von  $25 - 28,9$  kg/m<sup>2</sup> verdoppelt es sich gegenüber einem Normalgewichtigen, bei einem BMI über  $29$  kg/m<sup>2</sup> verdreifacht es sich. In Kombination mit anderen Begleiterkrankungen wie erhöhten Blutfettwerten, Bluthochdruck und Diabetes mellitus potenziert sich das Risiko an einer koronaren Herzerkrankung (KHK) zu erkranken.

Das Risiko einen Schlaganfall zu erleiden ist bei Frauen mit einem BMI  $>27$  kg/m<sup>2</sup> um 75% und bei einem BMI  $>32$  kg/m<sup>2</sup> um 137% höher als bei einem BMI  $<21$  kg/m<sup>2</sup>. [1]

#### **2.1.4.5 Krebserkrankungen**

Adipositas geht mit einem erhöhten Krebsrisiko einher. Das Risiko für bösartige Neubildungen von Ösophagus, Kolon, Rektum, Gallenblase, Pankreas und Nieren ist geschlechtsneutral und unabhängig vom Raucherstatus erhöht. Bei Männern ist zusätzlich das Risiko für ein Magen- und Prostatakarzinom, bei Frauen das Risiko von Mamma-(postmenopausal), Uterus- und Ovarial-Karzinomen erhöht.

Das erhöhte Risiko wird vor Allem bei einer abdominalen Adipositas beobachtet. Bei Männern mit einem BMI  $>30$  kg/m<sup>2</sup> ist das Risiko ein Kolonkarzinom zu entwickeln 80% höher als bei einem Normalgewichtigen.

Das relative Risiko an einem Karzinom zu sterben ist bei adipösen Frauen um ca. 55% und bei adipösen Männern um ca. 35% erhöht. Es wird geschätzt, dass in den USA Übergewicht und Adipositas bei Männern für 14% und bei Frauen für 20% der Todesfälle an Krebs verantwortlich sind. [1][4]

## **2.2 Kandidatengene**

### **2.2.1 Insulin-Induced Gene 2 (INSIG2)**

#### **2.2.1.1 Funktion**

Das INSIG2-Gen kodiert für ein Protein, das an der Regulation des Fettstoffwechsels beteiligt ist. Das Protein blockiert insulin- und cholesterinabhängig die Synthese von Fettsäuren und Cholesterin.[9],[11],[12],[13]

Die Cholesterinkonzentration in der Zelle wird über einen Feedback-Mechanismus streng reguliert. Diese Steuerung ist durch das Zusammenspiel verschiedener Faktoren gekennzeichnet und wird über die Regulation der Transkription von Genen realisiert, die in die Cholesterinsynthese und -aufnahme involviert sind. Das entscheidende Enzym der Cholesterinbiosynthese ist die HMG-CoA-Reduktase (3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoenzymA-Reduktase). Dieses Enzym wird vor allem auf der Ebene der Transkription reguliert. Im Gen der HMG-CoA-Reduktase befinden sich in der Promotorregion sogenannte Sterol-responsive Elemente (SRE's). An diese SRE's binden bei Cholesterinmangel oder auch bei Nahrungskarenz SRE-Bindungsproteine (SREBP's), die dadurch die Transkription dieser Gene aktivieren. SREBP's sind Membranproteine des endoplasmatischen Retikulums, die in Anwesenheit hoher Konzentrationen von Cholesterin dort festgehalten werden und in dessen Abwesenheit in den Golgi-Apparat diffundieren, um von dort aus in den Zellkern zu translozieren, wo sie wie oben beschrieben als Transkriptionsfaktoren wirken.[14]

An das SREBP ist im endoplasmatischen Retikulum das SCAP (SREBP cleavage-activating protein) gebunden. In Anwesenheit hoher Cholesterin-Konzentrationen bindet Cholesterin an den SREBP-SCAP-Komplex und es kommt zu einer Konformationsänderung, in deren Folge die Affinität des SCAP zu den ebenfalls membrangebundenen insulin induced genes-1 und -2 (INSIG1 bzw. 2) zunimmt und eine Translokation in den Zellkern durch die INSIG-Bindung verhindert wird. Dadurch werden die Transkriptionsfaktoren (SREBP's) im endoplasmatischen Retikulum gehalten und somit die Cholesterinbiosynthese verlangsamt.

INSIG1 und INSIG2 sind zu 59% identisch. INSIG1 wird vor allem in der Leber produziert, wo hingegen INSIG2 extrahepatisch und speziell im Fettgewebe in einer höheren Konzentration als INSIG1 produziert wird. INSIG1 kann im Gegensatz zu INSIG2 auch ohne die Anwesenheit von Sterolen den SREBP-SCAP-Komplex im endoplasmatischen Retikulum zurückhalten. [15][11]

Die beiden INSIG-Genprodukte reduzierten in einer Studie an Ratten bei Überexpression die Lipogenese in der Leber der Tiere. Die Überexpression reduzierte signifikant das Vorhandensein einer Fettleber und einer Hypertriglyceridämie bei den Versuchstieren. [16]

Eine Reduktion der INSIG2-Konzentration im Fettgewebe, wie sie durch eine Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens ausgelöst werden könnte, könnte zu einer erhöhten Konzentration von in den Zellkern translozierenden SREBP-SCAP-Komplexen führen, eine steigende Transkription von in den Fettstoffwechsel eingebundenen Genen bewirken und somit die Entstehung einer Adipositas begünstigen. [11]

### **2.2.1.2 Lokalisation**

Die in dieser Doktorarbeit untersuchte Mutation (rs7566605) liegt auf dem Chromosom 2q14 etwa 10 kB (Kilobasen) oberhalb des Transkriptionsstarts des ersten Exons, das für das Insulininduzierende Gen 2 (INSIG2) kodiert. Es handelt sich um eine Punktmutation, einem Austausch der Base Guanin gegen Cytosin. Der betreffende SNP (single nucleotide polymorphism) liegt also vor dem eigentlichen Gen. INSIG2 ist ein etwa 21,5 kB langes Gen, dass funktionell in den Fettstoffwechsel eingebunden ist.[9],[11], [12],[13]

Der Wildtyp, also auf beiden Allelen die Purinbase Guanin, liegt bei etwa 45,5% der Bevölkerung vor. Etwa 44,4% der Bevölkerung haben auf einem Allel eine Mutation, sie weisen also einen heterozygoten Genotyp (GC) auf. Bei etwa 10,1% der Bevölkerung ist auf beiden Chromosomen die Purinbase Guanin gegen die Pyrimidinbase Cytosin ausgetauscht. [17]

## **2.2.2 $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Gen (ADRB3)**

### **2.2.2.1 Funktion**

Die  $\beta$ -Rezeptoren wurden im Jahr 1967 nach ihrem Effekt auf Adrenalin und Noradrenalin in verschiedenen Geweben in  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Rezeptoren unterteilt. In einigen Geweben wie zum Beispiel dem weißen und braunen Fettgewebe sowie dem Verdauungstrakt konnten Effekte

wie die Lipolyse, Sauerstoffverbrauch und Relaxation der glatten Muskulatur nicht mit der alleinigen Aktivierung von  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Adrenorezeptoren erklärt werden. Die Hypothese, dass es einen dritten unter anderem für die Thermogenese im braunen Fettgewebe zuständigen  $\beta$ -Adrenorezeptor geben müsse, konnte im Jahr 1989 durch die Klonierung des  $\beta_3$ -Adrenorezeptors bewiesen werden.

Die Aminosäuresequenz des  $\beta_3$ -Rezeptors ist zu 51% mit dem  $\beta_1$ - und zu 46% mit dem  $\beta_2$ -Adrenorezeptor identisch.  $\beta_3$ -Adrenorezeptoren gehören wie die anderen Typen der  $\beta$ -Rezeptoren zu der Familie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Sie haben 7 Transmembrandomänen mit jeweils 22-28 Aminosäuren, drei intra- und drei extrazelluläre Schleifen. Der N-Terminus des Rezeptors liegt extrazellulär und ist glykosyliert. Der intrazellulär liegende C-Terminus weist im Gegensatz zum  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Rezeptor keine Domäne zur Phosphorylierung durch die Proteinkinase A oder die  $\beta$ -Adrenorezeptor Kinase auf. [18] Bindung von Adrenalin oder Noradrenalin an den  $\beta_3$ -Rezeptor führt zu einer Dissoziation des an den Rezeptor gekoppelten G-Proteins in eine  $\alpha$ - und eine  $\beta\gamma$ -Untereinheit. Die  $\alpha$ -Untereinheit bindet dabei GTP (Guanosintriphosphat) und aktiviert dadurch eine Adenylylcyclase, die aus ATP (Adenosintriphosphat) cAMP (cyclisches Adenosinmonophosphat) bildet. cAMP wiederum aktiviert eine Proteinkinase vom Typ A, die durch Phosphorylierung die eigentlichen Hormonwirkungen in der Zelle auslöst. Die Reaktion wird durch Hydrolyse des GTP zu GDP (Guanosindiphosphat), Spaltung des cAMP durch eine Phosphodiesterase und Dephosphorylierung durch Phosphatasen unterbrochen. [19]

Die verschiedenen  $\beta$ -Rezeptoren kommen in den verschiedenen Geweben des menschlichen Körpers mit einer unterschiedlichen Häufigkeit vor.  $\beta_1$ -Rezeptoren sind vorrangig im Herzen zu finden,  $\beta_2$ -Rezeptoren in der Lunge und  $\beta_3$ -Rezeptoren im Fettgewebe und dort vor Allem im visceralen Fettgewebe.

In Myozyten führt die Aktivierung von  $\beta_3$ -Adrenorezeptoren zur Lipolyse (Spaltung der Triglyceride in Glycerol und freie Fettsäuren) und Thermogenese.  $\beta_3$ -Adrenorezeptoren kommen aber auch in vielen anderen Geweben vor. Sie hemmen die Darmbewegung von Ileum und Colon, induzieren die Relaxation der glatten Muskulatur der Atemwege, führen vor Allem in der Haut und dem Fettgewebe zu einer peripheren Vasodilatation, wirken am Herzmuskel negativ inotrop und fördern den Calcium-Einstrom durch L-Typ Calcium-Kanäle in Vorhofmyokardzellen.

$\beta_3$ -Adrenorezeptoren können im Gegensatz zu den anderen Familienmitgliedern bei Stimulation durch Aktivierung von NO-Synthasen (Nitrat Oxid-Synthasen) im Herzmuskel NO produzieren und somit eine Vasodilatation auslösen. [18]

Aufgrund der Tatsache, dass eine Stimulation der  $\beta_3$ -Adrenorezeptoren zu einer Lipolyse führt, wurde die Hypothese formuliert, dass eine Mutation, die die Funktion des Rezeptors beeinflusst, diese lipolytische Wirkung herabsetzen und zu einer Entwicklung von Adipositas führen könnte.

#### **2.2.2.2 Lokalisation**

Die zweite in dieser Doktorarbeit untersuchte Mutation liegt im ersten Exon des Gens, das für den  $\beta_3$ -Adrenorezeptor (ADRB3) kodiert. Das ADRB3-Gen liegt auf dem kurzen Arm des Chromosoms 8 (8p12-p11.2). Die Mutation liegt im Codon 64. Der Austausch der Pyrimidinbase Thymin gegen die Pyrimidinbase Cytosin führt zu einem Austausch der Aminosäure Tryptophan (Trp) gegen Arginin (Arg) an Position 64 der 408 Aminosäuren langen Sequenz.[20], [21],[22] Das ADRB3-Gen hat im Gegensatz zu den Genen für den die anderen 2  $\beta$ -Adrenorezeptoren ( $\beta_1$  und  $\beta_2$ ) 2 Introns.[18]

Die Prävalenz der Mutation ist populationsabhängig. Die höchste Mutationsrate findet sich bei kanadischen Oji-Cree (40%) und Eskimos aus Alaska (40%), gefolgt von Pima Indianern (31%), Japanern (17%), Chinesen (16,7%), Mexikanern (13%), Afroamerikanern (12%) und weißen Amerikanern/ Europäern (8-10%). [22],[23]

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Das Patientenkollektiv**

Retrospektiv wurden Patienten, die die Adipositas-Sprechstunde des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) in der Zeit vom September 2003 bis zum Oktober 2008 besucht haben, in diese Studie eingeschlossen. Die Patientenakten werden alle im Archiv der medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf archiviert. Die Daten wurden den ambulanten sowie stationären Krankenakten der Patienten entnommen.

Bei jedem Patienten, der die Adipositas-Sprechstunde besuchte, wurde routinemäßig Blut abgenommen und standardmäßig folgende Werte bestimmt: Blutbild, Elektrolyte, Leber- und Nierenwerte, Glucose, HbA1c, C-Peptid, TSH, CRP, Gerinnung, Cholesterin, HDL, LDL, Triglyceride, Lp(a), ApoA, ApoB. Jeder Patient wurde gemessen und gewogen, um so den Body Mass Index (BMI) zu errechnen. Jeder Patient wurde gebeten einen Fragebogen zu Vorerkrankungen, Familienanamnese und Essgewohnheiten auszufüllen. Danach wurde jeder Patient über die Möglichkeiten der Gewichtsreduktion aufgeklärt (diätetische, medikamentöse, endoskopische oder chirurgische Verfahren). Eine endokrinologische (sekundäre) Ursache der Adipositas wurde mittels Blutuntersuchung ausgeschlossen.

### **3.2 Die Datenbank**

Alle Patienten wurden über die Gendiagnostik aufgeklärt, waren damit einverstanden und dokumentierten dies mittels einer schriftlichen Einverständniserklärung ("informed consent").

Die Patientendaten wurden für die Erfassung in der Datenbank pseudonymisiert. In die statistische Erfassung im Rahmen einer Datenbank flossen das Geburtsdatum (Alter), das Geschlecht, die Größe und das Gewicht (der BMI) der Patienten sowie Informationen zu Vorerkrankungen (Hyperlipidämie, koronare Herzerkrankung, kardio-vaskuläre Erkrankungen, arterielle Verschlusskrankheit, arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus, Adipositas), Familienanamnese (Adipositas, Diabetes) und die Ergebnisse der Laboruntersuchungen (Fibrinogen, TSH, Harnsäure, Glucose, Insulin, C-Peptid, HbA1c, Gesamtcholesterin, Triglyceride, LDL, HDL, Lp(a), ApoA, ApoB, Kreatinin, GOT, GPT,  $\gamma$ GT, CK), die geplante Behandlung sowie die Ergebnisse der genetischen Untersuchung (APO E, APO B, ADRB3, INSIG2) ein.

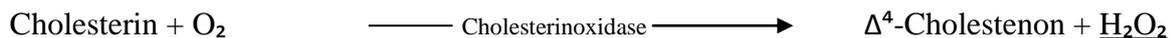
### 3.3 Labormethoden

#### 3.3.1 Fettstoffwechsel

Die Marker des Fettstoffwechsels können aus Serum oder Plasma bestimmt werden. Der Patient sollte einige Tage vor der Untersuchung sein gewohntes Essverhalten beibehalten und 12 Stunden vor der Blutentnahme nüchtern bleiben, da sonst vor Allem der Triglycerid-Wert fälschlicherweise zu hoch gemessen werden kann.

##### 3.3.1.1 Gesamtcholesterin

Die Bestimmung des Cholesterinwertes erfolgt mittels einer Indikatorreaktion. Im ersten Reaktionsschritt erfolgt eine Verseifung der Cholesterinester; daran schließen sich Mess- und Indikatorreaktionen an:



Der Farbstoff wird photometrisch gemessen und so die Konzentration des Cholesterins bestimmt.

##### 3.3.1.2 High Density Lipoprotein (HDL)

Zur Bestimmung werden zunächst mittels Polyanionen und zweiwertigen Kationen die Apo-B haltigen Lipoproteine gefällt und aus dem Überstand, in dem dann größtenteils nur noch das HDL-Cholesterin vorhanden ist, die Cholesterinkonzentration wie oben bestimmt.

##### 3.3.1.3 Low Density Lipoprotein (LDL)

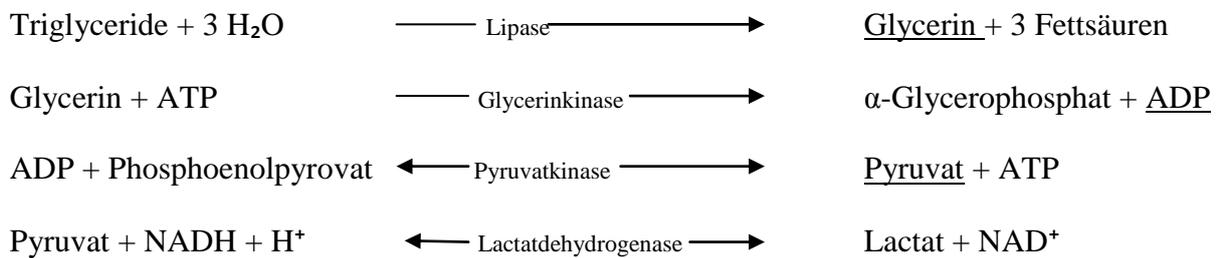
Die Bestimmung erfolgt mathematisch mithilfe der anderen Indikatoren des Fettstoffwechsels mittels der Friedewald-Formel:

$$\text{LDL-Cholesterin} = \text{Gesamtcholesterin} - \left( \text{HDL-Cholesterin} + \frac{\text{Triglyceride}}{5} \right)$$

Die Triglycerid-Konzentration darf bei dieser Bestimmungsmethode nicht größer als 400 mg/dl (4,5 mmol/l) sein. Diese Formel darf außer bei einer Triglycerid-Konzentration über 400 mg/dl auch bei einer Chylomikronämie und einer Hyperlipoproteinämie Typ III nicht angewendet werden.

### 3.3.1.4 Triglyceride

Die Triglyceridbestimmung läuft nach folgendem Testprinzip:



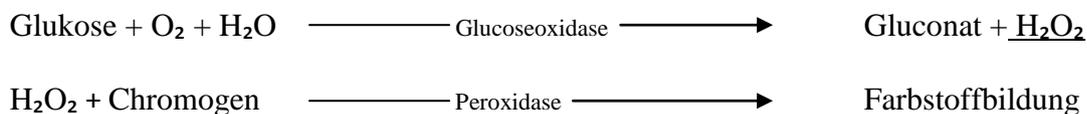
Die Extinktionsabnahme durch den NADH-Verbrauch wird photometrisch gemessen.[24]

### 3.3.2 Kohlenhydratstoffwechsel

Die Marker des Kohlenhydratstoffwechsels werden entweder aus arterialisiertem Kapillar(voll)blut, dass eventuell mit Glykolysehemmern versetzt wurde, oder aus venösem Blut (Serum oder Plasma) bestimmt.

#### 3.3.2.1 Glukose

Zur quantitativen Bestimmung der Blutglucose aus venösem Blut sind zahlreiche enzymatische Verfahren wie zum Beispiel die Glukoseoxidase-(GOD-)Methode im Einsatz:



Der Farbstoff wird photometrisch gemessen und so die Konzentration der Glukose bestimmt.

#### 3.3.2.2 HbA1c

HbA1c entsteht durch Anlagerung von Glukose an das N-terminale Ende der  $\beta$ -Kette im HbA1. Durch die Glykierung ergeben sich eine Strukturänderung des Hämoglobin-Moleküls und eine Verschiebung des isoelektrischen Punktes. Beim Gesunden sind etwa 3-5% des Gesamt-Hämoglobins auf diese Weise glykiert. Der HbA1c-Wert gibt über die Blutzuckereinstellung der letzten acht Wochen Auskunft.

Die Bestimmung erfolgt auf der Grundlage von Ionenaustauschchromatographie, Affinitätschromatographie oder Verfahren mit immunologischer Reaktion. Als Referenzmethode gilt die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).[24]

## 3.4 Detektion der Genmutationen

### 3.4.1 Isolation der DNA aus Vollblut

Die DNA wurde mithilfe des QIAamp® DNA Blood Mini Kit der Firma QIAGEN aus dem Patientenblut isoliert. Diese Isolation wird nach der Lyse der im Blut enthaltenen Zellen in drei Schritten erreicht:

- Adsorption der Nukleinsäuren an die QIAamp Membran,
- Entfernen verbliebener Kontaminationen,
- Elution reiner Nukleinsäuren.

Für die Lyse der im Blut enthaltenen Zellen wurden zuerst 20 µl der QIAGEN Protease-Stammlösung auf den Boden eines 1,5 ml Reaktionsgefäßes pipettiert. Dazu wurden 200 µl Blut und 200 µl Buffer AL in das Reaktionsgefäß gegeben und der Ansatz sofort nach Zugabe des Buffer AL für 15 s auf dem Vortex Mixer durchmischt. Danach wurde der gut durchmischte Ansatz für 10 min bei 56 °C inkubiert und danach kurz zentrifugiert, um die Probenflüssigkeit vom Deckelinneren zu entfernen und so Kreuzkontaminationen durch verspritzte Proben zu vermeiden. Danach wurden 200 µl Ethanol (96-100 %) zur Probe gegeben, der Ansatz 15 s auf dem Vortex Mixer durchmischt und wieder kurz zentrifugiert um Verspritzen der Probe und Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

Als nächstes wurde der Ansatz auf die QIAamp Spinsäule gegeben, der Deckel geschlossen und für eine Minute bei 10000 rpm (rounds per minute) mit der Biofuge pico Zentrifuge der Firma Heraeus Instruments zentrifugiert und so die DNA an die Säule adsorbiert.

Um die verbliebenen Kontaminationen zu entfernen, wurde die QIAamp Spinsäule zunächst in ein sauberes 2 ml Collection Tube als Auffanggefäß gesetzt und das benutzte Gefäß mitsamt Filtrat verworfen. Die QIAamp Spinsäule wurde geöffnet und 500 µl Buffer AW1 hinzu gegeben. Anschließend wurde der Deckel verschlossen und der Ansatz bei 10000 rpm eine Minute lang zentrifugiert. Danach wurde die QIAamp Spinsäule wieder in ein sauberes 2 ml Collection Tube als Auffanggefäß gesetzt und das benutzte Gefäß mitsamt Filtrat verworfen. Die QIAamp Spinsäule wurde wieder geöffnet und 500 µl Buffer AW2 hinzu gegeben. Danach wurde das Gefäß wieder verschlossen und bei 13000 rpm drei Minuten lang zentrifugiert.

Um die Nukleinsäuren zu eluieren, wurde anschließend die QIAamp Spinsäule in ein 1,5 ml Collection Tube als Auffanggefäß gesetzt und das 2 ml Gefäß mitsamt Inhalt verworfen. Die

QIAamp Spinsäule wurde geöffnet und 100 µl Buffer AE auf die Säule gegeben und der Ansatz für eine Minute bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend für eine Minute bei 10000 rpm zentrifugiert. Im 1,5 ml Collection Tube befand sich nun die gewaschene DNA, die im nächsten Schritt, der PCR, amplifiziert werden sollte.

### 3.4.2 Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR, engl. polymerase chain reaction) ist eine Methode zur in vitro-Amplifizierung von Nucleinsäure-Fragmenten.

Ein Reaktionszyklus beinhaltet drei Reaktionsschritte:

- *Denaturierung*: Die Lösung, in der die DNA enthalten ist, wird auf etwa 90°C erhitzt. Dadurch trennen sich die beiden DNA-Stränge voneinander.
- *Anheftung der Oligonukleotide (Annealing)*: Nach dem Denaturieren wird die Lösung auf etwa 50°C abgekühlt. Dabei heften sich der Lösung hinzugefügte Oligonukleotide (Primer) mit einer Länge von etwas 15-20 Basen an die DNA-Einzelstränge an. Die Oligonukleotide sind so gewählt, dass ihre Sequenz zum 5'-Ende komplementär ist.
- *Extension zu neuen Doppelsträngen (Elongation)*: Durch ebenfalls der Lösung hinzugefügte Desoxyribonukleotide und einer thermostabilen DNA-Polymerase werden nun die beiden Einzelstränge wieder zu Doppelsträngen komplementiert.

Werden diese drei Reaktionsschritte nun mehrfach wiederholt, ergibt sich daraus ein exponentielles Wachstum des bekannten DNA-Fragmentes.[25][26]

#### 3.4.2.1 Anwendung bei der Detektion von Mutationen im INSIG2-Gen

Die aus dem Blut extrahierte DNA wurde mithilfe der PCR amplifiziert. Dazu wurden Oligonukleotide der Firma Eurofins MWG GmbH mit der folgenden Basenfolge verwendet: 5'-CCC TCC AAT ACC CCA TCG GA-3' und 5'-GGG AAT CGA GAG CTA AGG AT-3'.

Es wurden für jeden PCR-Ansatz 2 µl DNA, 0,6 µl von jedem Primer, 0,8 µl dNTPs, 4 µl 10x-Puffer, 31,8 µl Wasser und 0,2 µl Taq DNA-Polymerase gemischt. (Tabelle 3)

**Tabelle 3: PCR-Mix (INSIG-2 Gen)**

Reagenzien (Konzentration)	Volumen je Reaktion ( $\mu\text{l}$ )	Konzentration je Probe	Hersteller
DNA (0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	2	5 ng/ $\mu\text{l}$	
Primer (100 pm/ $\mu\text{l}$ )	je 0,6	je 15 pm/ $\mu\text{l}$	Roche
dNTPs (10 mM each) <sup>1</sup>	0,8	0,2 mM	Roche
Puffer 10x	4		Roche
H <sub>2</sub> O	31,8		
Taq-DNA-Polymerase (5 U/ $\mu\text{l}$ )	0,2	0,025 U/ $\mu\text{l}$	Roche

<sup>1</sup>dNTPs: Desoxy-Nucleotidtriphosphate

Initial wurde das Gemisch mit dem T 3000 Thermocycler der Firma Biometra für 15 Minuten auf 95°C erhitzt und so die DNA-Doppelstränge denaturiert. Es folgten 40 Reaktionszyklen in denen das Gemisch für 20 Sekunden auf 95°C erhitzt, dann zum Anheften der Primer 30 Sekunden auf 52°C abgekühlt und schließlich 1 Minute zur Synthese der Doppelstränge wieder auf 72°C erhitzt wurde. Nach diesen 40 Zyklen wurde das Gemisch noch einmal final für 3 Minuten auf 72°C erhitzt. (Tabelle 4)

**Tabelle 4: PCR-Zyklen (INSIG-2 Gen)**

Anzahl der Zyklen	Vorgehen	Temperatur	Dauer
1	Denaturierung	95°C	15 Min
40	Denaturierung	95°C	20 Sek
	Annealing	52°C	30 Sek
	Elongation	72°C	1 Min
1	Elongation	72°C	3 Min

Durch die PCR wurden 182 Basenpaare (bp) lange DNA-Fragmente gewonnen.

### 3.4.2.2 Anwendung bei der Detektion von Mutationen im ADRB3-Gen

Die aus dem Blut extrahierte DNA wurde mithilfe der PCR amplifiziert. Dazu wurden Oligonukleotide der Firma Eurofins MWG GmbH mit der folgenden Basenfolge verwendet: 5'-CAA TAC CGC CAA CAC CAG TGG G-3' und 5'-GGT CAT GGT CTG GAG TCT CG-3'.

Es wurden für jeden PCR-Ansatz 2  $\mu\text{l}$  DNA, 0,6  $\mu\text{l}$  von jedem Primer, 0,8  $\mu\text{l}$  dNTPs, 4  $\mu\text{l}$  10x-Puffer, 31,8  $\mu\text{l}$  Wasser und 0,2  $\mu\text{l}$  Taq DNA-Polymerase gemischt. (Tabelle 5)

**Tabelle 5: PCR-Mix (ADRB3 Gen)**

Reagenzien (Konzentration)	Volumen je Reaktion ( $\mu\text{l}$ )	Konzentration je Probe	Hersteller
DNA (0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	2	5 ng/ $\mu\text{l}$	
Primer (100 pm/ $\mu\text{l}$ )	je 0,6	je 15 pm/ $\mu\text{l}$	Roche
dNTPs (10 mM each) <sup>1</sup>	0,8	0,2 mM	Roche
Reaktionspuffer 10x	4		Roche
H <sub>2</sub> O	31,8		
Taq DNA-Polymerase (5 U/ $\mu\text{l}$ )	0,2	0,025 U/ $\mu\text{l}$	Roche

<sup>1</sup>dNTPs: Desoxy-Nucleotidtriphosphate

Initial wurde das Gemisch mit dem T 3000 Thermocycler der Firma Biometra für 10 Minuten auf 94°C erhitzt und so die DNA-Doppelstränge denaturiert. Es folgten 35 Reaktionszyklen in denen das Gemisch für 30 Sekunden auf 94°C erhitzt, dann zum Anheften der Primer 45 Sekunden auf 64°C abgekühlt und schließlich 45 Sekunden zur Synthese der Doppelstränge wieder auf 72°C erhitzt wurde. Nach diesen 35 Zyklen wurde das Gemisch noch einmal final für 7 Minuten auf 72°C erhitzt. (Tabelle 6)

**Tabelle 6: PCR-Zyklen (ADRB3 Gen)**

Anzahl der Zyklen	Vorgehen	Temperatur	Dauer
1	Denaturierung	94°C	10 Min
35	Denaturierung	94°C	30 Sek
	Annealing	64°C	45 Sek
	Elongation	72°C	45 Sek
1	Elongation	72°C	7 Min

Durch die PCR wurden 153 Basenpaare (bp) lange DNA-Fragmente gewonnen, die dem nächsten Schritt, der RFLP-Analyse, zugeführt wurden.

### 3.4.3 Die Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse

Die Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse ist ein etabliertes Verfahren zur Detektion von bekannten Genmutationen. Bei diesem Verfahren wird ein durch PCR amplifiziertes DNA-Stück mithilfe eines bestimmten Restriktionsenzym verdaut. Restriktionsenzyme sind Bakterien-Enzyme, welche DNA an bestimmten Positionen schneiden können.

Die Restriktionsenzyme werden so gewählt, dass sie in der zu untersuchenden Stelle der DNA angreifen. Entweder spalten sie den Wildtyp und tun dies nach einer Mutation nicht mehr oder die Restriktionsenzyme spalten die DNA-Stücke nach einer Mutation und der Wildtyp wird nicht angegriffen.

Nach dem Verdau durch die Restriktionsenzyme werden die entstandenen Abbauprodukte auf Agarosegel gegeben und eine Auftrennung der verschieden großen Fragmente mittels Gelelektrophorese durchgeführt. Danach werden die verschieden großen Banden mit Ethidiumbromid gefärbt und somit sichtbar gemacht.[25][26]

#### **3.4.3.1 Anwendung bei der Detektion von Mutationen im INSIG2-Gen**

Die aus dem Blut extrahierte und durch die PCR amplifizierte DNA wurde nun mithilfe des Restriktionsenzym MboI, das von der Firma New England BioLabs bezogen wurde, verdaut.

Es wurden 10 µl PCR-Produkt und 2 µl MboI, das vorher im Verhältnis 1:10 mit Wasser verdünnt wurde, gemischt.

Die Lösung wurde bei 37°C 3 Stunden stehen gelassen. Dies sollte gewährleisten, dass die DNA-Fragmente vollständig verdaut wurden.

Die verdauten DNA-Fragmente wurden mittels Agarosegel-Elektrophorese (3%) ihrer Größe nach aufgetrennt und mit Ethidiumbromid gefärbt.

Bei einem GG Genotyp wurde das DNA-Fragment von der Restriktionsendonuklease nicht gespalten. Bei der Elektrophorese erhielt man also eine homogene Bande mit 182 Basenpaaren (bp). Bei einem CC Genotyp wurde das DNA-Fragment durch das Restriktionsenzym in zwei Fragmente mit 115 bp und 67 bp Länge gespalten. Nach der Elektrophorese waren also zwei Banden zu sehen. Bei einem GC Genotyp erhielt man nach der Elektrophorese also 3 Banden mit 182 bp, 115 bp und 67 bp.

#### **3.4.3.2 Anwendung bei der Detektion von Mutationen im ADRB3-Gen**

Die aus dem Blut extrahierte und durch die PCR amplifizierte DNA wurde nun mithilfe des Restriktionsenzym MspI, das von der Firma New England BioLabs bezogen wurde, verdaut.

Es wurden 10 µl PCR-Produkt und 2 µl MspI, das vorher im Verhältnis 1:10 mit Wasser verdünnt wurde, gemischt.

Die Lösung wurde bei 37°C 3 Stunden stehen gelassen. Dies sollte gewährleisten, dass die DNA-Fragmente vollständig verdaut wurden.

Die verdauten DNA-Fragmente wurden mittels Agarosegel-Elektrophorese (3,5%) ihrer Größe nach aufgetrennt und mit Ethidiumbromid gefärbt.

Bei einem Wildtyp Genotyp wurde das DNA-Fragment von der Restriktionsendonuklease in zwei Fragmente mit 99 Basenpaaren (bp) und 54 bp gespalten. Bei der Elektrophorese erhielt man also zwei Banden. Bei einer Mutation im ADRB3-Gen wurde das DNA-Fragment durch das Restriktionsenzym ebenfalls in zwei Fragmente mit 70 bp und 54 bp Länge gespalten. Nach der Elektrophorese waren also ebenfalls zwei Banden zu sehen, diese aber in einer anderen Position. Bei einem heterogenen Genotyp erhielt man nach der Elektrophorese also 3 Banden mit 99 bp, 70 bp und 54 bp.

### 3.5 Statistik

Die Daten aus der Datenbank wurden mit dem Programm PASW® Statistics 18.0 für Windows von der Firma SPSS ausgewertet.

#### 3.5.1 Statistische Maßzahlen

##### 3.5.1.1 Mittelwert

Der Mittelwert beschreibt den statistischen Durchschnittswert. Für den Mittelwert addiert man alle Werte eines Datensatzes und teilt die Summe durch die Anzahl aller Werte.

$$\bar{x}_{\text{arithm}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

Ziel des Mittelwertes ist es, die wesentliche Information in einer längeren Reihe von z.B. Messdaten in wenigen Daten zu konzentrieren.[27], [28],[29]

##### 3.5.1.2 Median (Zentralwert)

Der Median (oder Zentralwert) teilt eine Stichprobe entsprechend ihrer Größe in zwei Hälften. In der Statistik halbiert der Median eine Verteilung. Gegenüber dem arithmetischen Mittel, auch Durchschnitt genannt, hat der Median den Vorteil, robuster gegenüber Ausreißern (extrem abweichenden Werten) zu sein.[28],[27],[29]

$$\tilde{x} = \begin{cases} x_{\frac{n+1}{2}} & n \text{ ungerade} \\ \frac{1}{2} (x_{\frac{n}{2}} + x_{\frac{n}{2}+1}) & n \text{ gerade.} \end{cases}$$

### 3.5.1.3 Varianz

Die Varianz ist ein Maß, das beschreibt wie stark eine Messgröße (genauer eine Zufallsgröße) streut. Sie ist das durchschnittliche Abstandsquadrat der Stichprobenwerte vom Mittelwert und wird berechnet, indem man die Abstände der Messwerte vom Mittelwert quadriert, addiert und durch die Anzahl der Messwerte teilt. [28],[27],[30]

$$s_X^{*2} := \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2$$

### 3.5.1.4 Standardabweichung

Da die Varianz wegen der quadratischen Dimension schwer zu interpretieren ist, verwendet man stattdessen die Quadratwurzel der Varianz, die Standardabweichung genannt wird. Sie ist ein Maß für die Streuung der Werte einer Zufallsvariablen um ihren Mittelwert.[28],[27],[30]

$$s_X^* := \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

## 3.5.2 Statistische Tests

### 3.5.2.1 T-Test für unabhängige Stichproben

Der t-Test überprüft, ob sich die Differenz der beiden Mittelwerte signifikant von Null unterscheidet. Der Test setzt eine Normalverteilung der Stichprobe und die Gleichheit der Varianzen voraus. Er wird bei zwei unverbundenen Stichproben verschiedener Individuen angewendet, wenn die maßgebliche Variable intervallskaliert ist.[28],[27]

### 3.5.3 P-Wert und Signifikanz

Der p-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit an, fälschlich einen Unterschied anzunehmen, wenn es ihn in Wirklichkeit nicht gibt, d.h. man akzeptiert die experimentelle Hypothese und verwirft die Nullhypothese. In dieser Arbeit wird, wie international üblich, ein p-Wert  $< 0,05$  als signifikant angegeben.[28],[27]

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Das Gesamtkollektiv

Insgesamt wurden 556 Patienten, 402 Frauen und 154 Männer, in die Studie eingeschlossen. Der Altersdurchschnitt lag bei  $42,3 \pm 13,1$  Jahren und zeigte zwischen Frauen ( $41,3 \pm 12,9$ ) und Männern ( $44,6 \pm 13,2$ ) einen signifikanten Unterschied ( $p=0,010$ ). Der Body Mass Index betrug bei den Studienteilnehmern durchschnittlich  $43,4 \pm 9,3$  kg/m<sup>2</sup> und war ebenfalls zwischen Männern ( $45,4 \pm 8,9$  kg/m<sup>2</sup>) und Frauen ( $42,6 \pm 9,3$  kg/m<sup>2</sup>) signifikant unterschiedlich ( $p=0,003$ ). (Tabelle 7)

**Tabelle 7: Durchschnittliches Alter und durchschnittlicher BMI des Gesamtkollektivs**

	Alter (Jahre)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Anzahl
Frauen	$41,3 \pm 12,9$ (N=402)	$42,6 \pm 9,3$ (N=345)	402
Männer	$44,6 \pm 13,2$ (N=154)	$45,4 \pm 8,9$ (N=135)	154
Gesamtkollektiv	$42,3 \pm 13,1$ (N=556)	$43,4 \pm 9,3$ (N=480)	556

Die Bestimmungen laborchemischer Parameter des Fettstoffwechsels ergaben einen durchschnittlichen Gesamtcholesterinwert von  $201,5 \pm 41,9$  mg/dl, einen LDL-Cholesterinwert von  $112,1 \pm 37,5$  mg/dl, einen HDL-Cholesterinwert von  $50,8 \pm 14,1$  mg/dl, einen Triglyceridwert von  $197,1 \pm 143,7$  mg/dl sowie einen Lipoprotein (a)-Wert von  $24,6 \pm 33,5$  mg/dl, wobei die HDL-Cholesterinwerte bei Männern ( $44,1 \pm 10,1$  mg/dl) signifikant niedriger als bei Frauen ( $53,5 \pm 14,5$  mg/dl) waren ( $p<0,001$ ). Die Triglyceridwerte waren bei Männern ( $240,8 \pm 173,1$  mg/dl) signifikant höher als bei Frauen ( $179,9 \pm 126,5$  mg/dl) ( $p<0,001$ ). Die Lipoprotein (a)-Werte zeigten sich bei den Frauen ( $27,1 \pm 36,5$  mg/dl) signifikant höher als bei den Männern ( $17,2 \pm 21,6$  mg/dl) des Studienkollektivs ( $p=0,007$ ). (Tabelle 8)

**Tabelle 8: Parameter des Fettstoffwechsels im Gesamtkollektiv**

	Gesamtcholesterin (mg/dl)	LDL- Cholesterin (mg/dl)	HDL- Cholesterin (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Lipoprotein (a) (mg/dl)
Frauen	201,7 ± 39,3 (N=383)	112,7 ± 36,7 (N=369)	53,5 ± 14,5 (N=380)	179,9 ± 126,5 (N=381)	27,1 ± 36,5 (N=199)
Männer	201 ± 47,9 (N=150)	110,5 ± 39,8 (N=140)	44,1 ± 10,1 (N=149)	240,8 ± 173,1 (N=150)	17,2 ± 21,63 (N=69)
Gesamt- kollektiv	201,5 ± 41,9 (N=533)	112,1 ± 37,5 (N=509)	50,8 ± 14,1 (N=529)	197,1 ± 143,7 (N=531)	24,6 ± 33,5 (N=268)

Die Bestimmungen laborchemischer Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels ergaben einen durchschnittlichen Glukosewert von  $105,7 \pm 40,4$  mg/dl sowie einen durchschnittlichen HbA1c-Wert von  $5,9 \pm 1,0$  %, wobei auch hier ein signifikanter Unterschied zwischen den Glukosewerten ( $p < 0,001$ ) und den HbA1c-Werten ( $p = 0,003$ ) bei Männern und Frauen bestand. Bei den Frauen (Glukose:  $100,6 \pm 33,5$  mg/dl, HbA1c:  $5,8 \pm 0,8$  %) zeigten sich signifikant niedrigere Glukose- und HbA1c-Werte als bei den Männern (Glukose:  $118,1 \pm 51,9$  mg/dl, HbA1c:  $6,2 \pm 1,4$  %). (Tabelle 9)

**Tabelle 9: Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels im Gesamtkollektiv**

	Glukose- Wert (mg/dl)	HbA1c (in %)
Frauen	100,6 ± 33,5 (N=335)	5,8 ± 0,8 (N=367)
Männer	118,1 ± 51,9 (N=137)	6,2 ± 1,4 (N=143)
Gesamtkollektiv	105,7 ± 40,4 (N=472)	5,9 ± 1,0 (N=510)

## 4.2 Insulin Induced Gene 2

### 4.2.1 Polymorphismusprävalenz

Bei 532 Studienteilnehmern (150 Männern und 382 Frauen) konnte eine Analyse des INSIG2-Gens erfolgen (Tabelle 10), dabei wiesen 233 Teilnehmer (70 Männer und 163 Frauen) den Wildtyp (Guanin/Guanin) des INSIG2-Gens auf (43,8%). Bei 242 Personen (67 Männern und 175 Frauen) zeigte sich eine heterozygote Mutation (Guanin/Cytosin) (45,5%) und bei 57

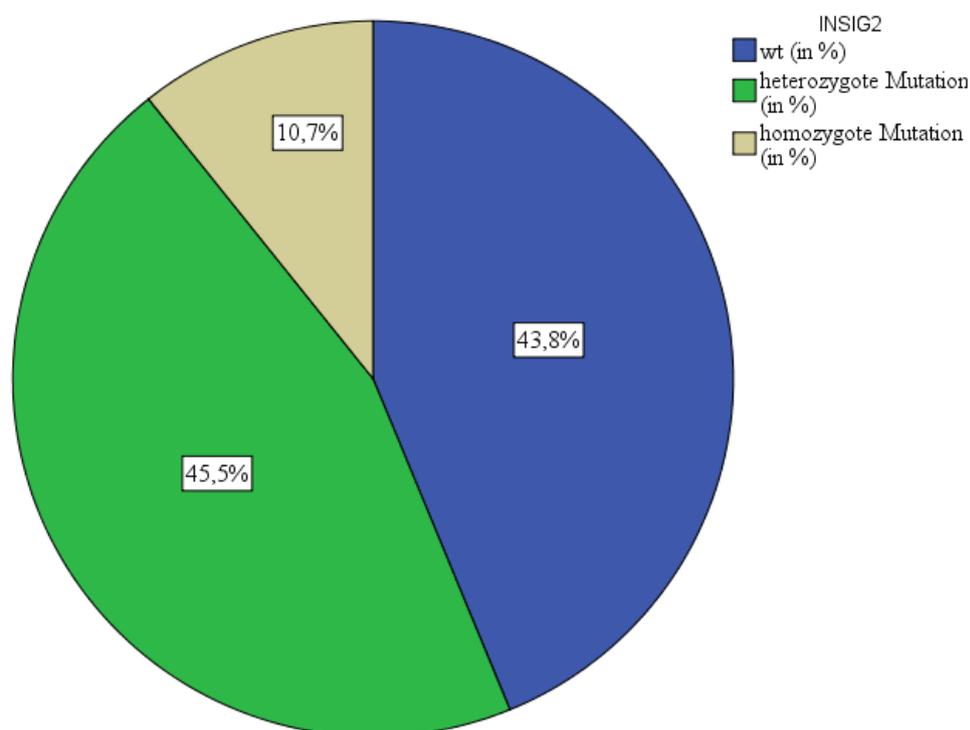
Studienteilnehmern (13 Männern und 44 Frauen) konnte eine homozygote Mutation (Cytosin/Cytosin) detektiert werden (10,7%). (Abbildung 2)

**Tabelle 10: Prävalenz der INSIG2-Genotypen**

	G/G	G/C	C/C	C-Allelfrequenz
Frauen	163 (42,7%)	175 (45,8%)	44 (11,5%)	34,4%
Männer	70 (46,7%)	67 (44,7%)	13 (8,7%)	31%
Gesamtkollektiv	233 (43,8%)	242 (45,5%)	57 (10,7%)	33,5%

(G=Guanin, C=Cytosin)

Anhand der berechneten Allelfrequenzen wurde geprüft, ob die beobachtete Genotypverteilung im Gleichgewicht nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz ist. Die Unterschiede von beobachteter und erwarteter Verteilung ergaben ein Chi-Quadrat von 0,538. Daraus folgt, dass die Genotypverteilung in Übereinstimmung mit dem Hardy-Weinberg-Gesetz ist.



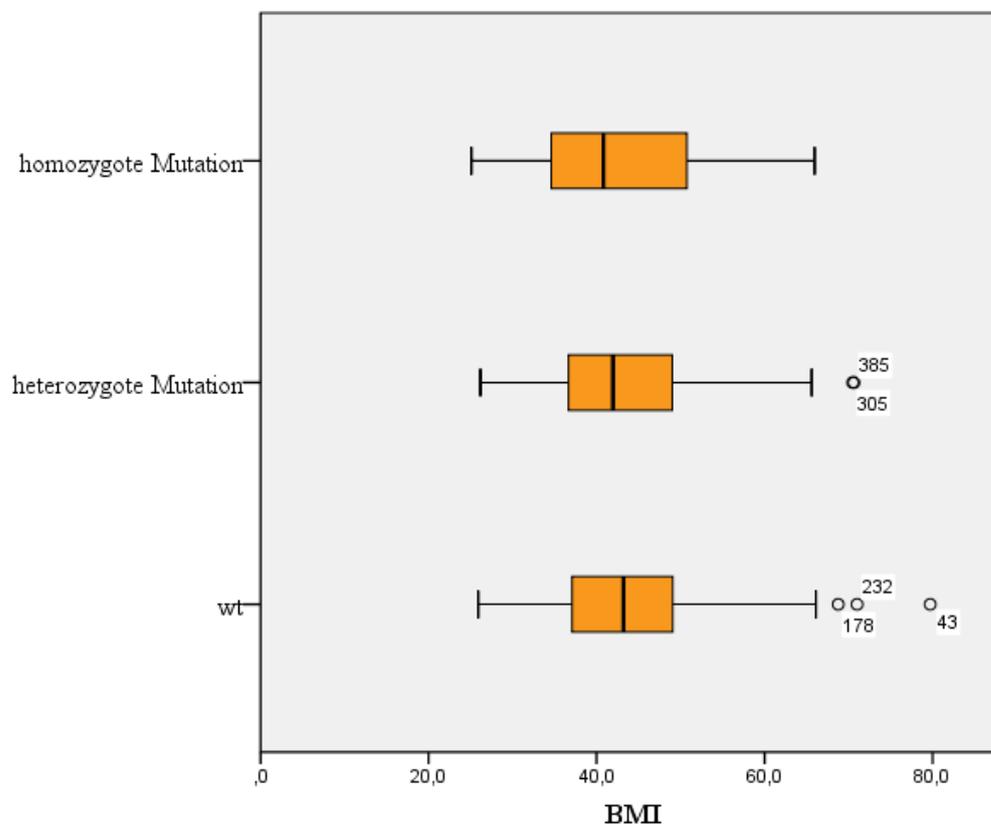
**Abbildung 2: INSIG2-Genotypenhäufigkeit**

## 4.2.2 Vergleich der Genotypen

### 4.2.2.1 Body Mass Index

Die Träger einer heterozygoten Mutation (G/C) sowie die Träger einer homozygoten Mutation (C/C) wurden den Studienteilnehmern ohne Mutation (G/G) gegenübergestellt. Die

Gruppe der Patienten ohne Mutation umfasste 233 Personen, die Gruppe der Patienten mit einer hetero- bzw. homozygoten Mutation beinhaltete 242 bzw. 57 Patienten (Tabelle 10).



**Abbildung 3: Body Mass Index - aufgeteilt nach Genotypen (INSIG2)**

Studienteilnehmer ohne die untersuchte Mutation im INSIG2-Gen waren im Durchschnitt  $41,8 \pm 12,3$  Jahre alt und hatten einen durchschnittlichen BMI von  $43,8 \pm 9,2$  kg/m<sup>2</sup>.

Patienten mit einer heterozygoten Mutation waren durchschnittlich  $42,4 \pm 13,8$  Jahre alt und hatten einen mittleren BMI von  $43,2 \pm 9,2$  kg/m<sup>2</sup>.

Teilnehmer der Studie mit einer homozygoten Mutation waren im Durchschnitt  $43,0 \pm 13,7$  Jahre alt und wiesen einen mittleren BMI von  $42,8 \pm 10,3$  kg/m<sup>2</sup> auf. (Tabelle 11)

Alter und Body Mass Index (Abbildung 3) der drei Gruppen unterschieden sich statistisch nicht ( $p > 0,050$ ).

**Tabelle 11: INSIG2-Genotypen: Vergleich von Alter und BMI**

	Alter (Jahre)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
G/G	41,8 ± 12,3 (N=233)	43,8 ± 9,2 (N=203)
G/C	42,4 ± 13,8 (N=242)	43,2 ± 9,2 (N=202)
C/C	43,0 ± 13,7 (N=57)	42,8 ± 10,3 (N=53)
Gesamtkollektiv	42,2 ± 13,1 (N=532)	43,4 ± 9,3 (N=458)

#### 4.2.2.2 Fettstoffwechsel

Studienteilnehmer ohne die untersuchte Mutation hatten einen mittleren Gesamtcholesterinwert von  $198,9 \pm 39,3$  mg/dl, einen mittleren LDL-Cholesterinwert von  $110,7 \pm 35,9$  mg/dl, einen mittleren HDL-Cholesterinwert von  $50,2 \pm 13,5$  mg/dl, einen mittleren Triglyceridwert von  $201,3 \pm 164,2$  mg/dl und einen mittleren Lipoprotein (a)-Wert von  $29,1 \pm 37,6$  mg/dl.

Patienten mit einer heterozygoten Mutation wiesen einen mittleren Gesamtcholesterinwert von  $203,1 \pm 43,9$  mg/dl, einen mittleren LDL-Cholesterinwert von  $112,8 \pm 38,0$  mg/dl, einen mittleren HDL-Cholesterinwert von  $50,2 \pm 13,5$  mg/dl, einen mittleren Triglyceridwert von  $187,42 \pm 123,0$  mg/dl und einen mittleren Lipoprotein (a)-Wert von  $21,3 \pm 30,5$  mg/dl auf.

Teilnehmer der Studie mit einer homozygoten Mutation hatten im Durchschnitt einen Gesamtcholesterinwert von  $208,3 \pm 39,5$  mg/dl, einen LDL-Cholesterinwert von  $115,1 \pm 39,9$  mg/dl, einen HDL-Cholesterinwert von  $48,3 \pm 14,2$  mg/dl, einen Triglyceridwert von  $231,7 \pm 156,5$  mg/dl und einen Lipoprotein (a)-Wert von  $24,6 \pm 35,7$  mg/dl.

Der Vergleich von laborchemischen Parametern des Fettstoffwechsels zwischen Studienteilnehmern ohne Mutation und mit einer hetero- bzw. homozygoten Mutation ergab weder im Gesamtkollektiv noch nach Aufteilung in ein weibliches- und ein männliches Kollektiv signifikante Unterschiede in der Prävalenz von Dyslipoproteinämien. (Tabelle 12)

Tabelle 12: INSIG2-Genotypen: Vergleich von Parametern des Fettstoffwechsels getrennt nach Geschlecht

Gesamt-kollektiv	Gesamt-cholesterin (mg/dl)	LDL-Cholesterin (mg/dl)	HDL-Cholesterin (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Lipoprotein (a) (mg/dl)
G/G	198,9 ± 39,3 (N=203)	110,7 ± 35,9 (N=207)	50,2 ± 13,5 (N=217)	201,3 ± 164,2 (N=217)	29,1 ± 37,6 (N=95)
G/C	203,1 ± 43,9 (N=202)	112,8 ± 38,0 (N=229)	52,4 ± 14,8 (N=235)	187,42 ± 123,0 (N=236)	21,3 ± 30,5 (N=120)
p-Wert	0,282	0,560	0,100	0,307	0,103
C/C	208,3 ± 39,5 (N=56)	115,1 ± 39,9 (N=52)	48,3 ± 14,2 (N=56)	231,7 ± 156,5 (N=56)	24,6 ± 35,7 (N=35)
p-Wert	0,113	0,437	0,348	0,213	0,546
Insgesamt	201,9 ± 41,6 (N=511)	112,1 ± 37,2 (N=488)	51,0 ± 14,2 (N=508)	198,2 ± 145,9 (N=509)	24,7 ± 34,1 (N=250)

Frauen	Gesamt-cholesterin (mg/dl)	LDL-Cholesterin (mg/dl)	HDL-Cholesterin (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Lipoprotein (a) (mg/dl)
G/G	198,2 ± 38,0 (N=151)	111,7 ± 36,5 (N=145)	52,8 ± 14,1 (N=149)	177,1 ± 130,7 (N=149)	32,8 ± 41,8 (N=64)
G/C	203,7 ± 40,6 (N=170)	112,8 ± 36,4 (N=166)	55,4 ± 15,0 (N=170)	174,8 ± 125,6 (N=170)	24,1 ± 33,6 (N=90)
p-Wert	0,215	0,800	0,122	0,875	0,172
C/C	207,6 ± 38,8 (N=43)	114,5 ± 39,6 (N=40)	50,6 ± 14,7 (N=43)	212,9 ± 132,6 (N=43)	27,1 ± 38,3 (N=28)
p-Wert	0,157	0,686	0,366	0,116	0,543
Insgesamt	201,9 ± 39,4 (N=326)	112,6 ± 36,7 (N=351)	53,8 ± 14,7 (N=362)	180,3 ± 128,8 (N=362)	27,6 ± 37,4 (N=182)

Männer	Gesamt- cholesterin (mg/dl)	LDL- Cholesterin (mg/dl)	HDL- Cholesterin (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Lipoprotein (a) (mg/dl)
G/G	200,5 ± 42,3 (N=68)	108,2 ± 34,5 (N=62)	44,4 ± 9,7 (N=68)	254,5 ± 212,1 (N=68)	21,5 ± 25,8 (N=31)
G/C	201,8 ± 51,8 (N=66)	112,7 ± 42,2 (N=63)	44,6 ± 10,7 (N=65)	220,0 ± 110,5 (N=66)	12,8 ± 16,1 (N=30)
p-Wert	0,879	0,521	0,922	0,242	0,122
C/C	210,7 ± 43,1 (N=13)	117,4 ± 42,5 (N=12)	40,6 ± 9,2 (N=13)	294,0 ± 212,6 (N=13)	14,7 ± 21,7 (N=7)
p-Wert	0,431	0,418	0,195	0,540	0,527
Insgesamt	202,0 ± 46,6 (N=147)	111,1 ± 38,8 (N=137)	44,16 ± 10,1 (N=146)	242,5 ± 174,2 (N=147)	17,0 ± 21,7 (N=68)

#### 4.2.2.3 Kohlenhydratstoffwechsel

Studienteilnehmer mit den Wildtyp-Allelen des untersuchten INSIG2-Gens wiesen einen mittleren Glukosewert von  $107,4 \pm 40,9$  mg/dl und einen mittleren HbA1c-Wert von  $6,0 \pm 1,1$  % auf.

Patienten mit einer heterozygoten Mutation hatten im Durchschnitt einen Glukosewert von  $101,8 \pm 36,0$  mg/dl und einen HbA1c-Wert von  $5,8 \pm 0,9$  %.

Bei Teilnehmern der Studie mit einer homozygoten Mutation konnte ein durchschnittlicher Glukosewert von  $116,3 \pm 56,4$  mg/dl sowie ein durchschnittlicher HbA1c-Wert von  $5,9 \pm 0,9$  % bestimmt werden.

Der Vergleich von mittlerem Glukose- und HbA1c-Wert zwischen Trägern einer hetero- bzw. homozygoten Mutation im INSIG2-Gen und Trägern der Wildtyp-Allele zeigte weder im Gesamtkollektiv noch nach Aufteilung in ein weibliches und ein männliches Kollektiv signifikante Unterschiede in der Prävalenz von Hyper- bzw. Hypoglykämien oder einem Anstieg bzw. Abfall des HbA1c-Wertes. (Tabelle 13)

**Tabelle 13: INSIG2-Genotypen: Vergleich von Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels getrennt nach Geschlecht**

<b>Gesamt-kollektiv</b>	<b>Glukose-Wert (mg/dl)</b>	<b>HbA1c (in %)</b>
G/G	107,4 ± 40,9 (N=202)	6,0 ± 1,1 (N=211)
G/C	101,8 ± 36,0 (N=204)	5,8 ± 0,9 (N=223)
p-Wert	0,146	0,071
C/C	116,3 ± 56,4 (N=50)	5,9 ± 0,9 (N=56)
p-Wert	0,297	0,518
Insgesamt	105,8 ± 41,0 (N=456)	5,9 ± 1,0 (N=490)

<b>Frauen</b>	<b>Glukose-Wert (mg/dl)</b>	<b>HbA1c (in %)</b>
G/G	100,6 ± 26,6 (N=138)	5,9 ± 0,8 (N=144)
G/C	98,4 ± 33,5 (N=147)	5,7 ± 0,7 (N=163)
p-Wert	0,552	0,149
C/C	110,1 ± 54,4 (N=37)	5,9 ± 1,0 (N=43)
p-Wert	0,137	0,894
Insgesamt	100,7 ± 34,0 (N=322)	5,8 ± 0,8 (N=350)

Männer	Glukose-Wert (mg/dl)	HbA1c (in %)
G/G	122,0 ± 59,0 (N=64)	6,3 ± 1,5 (N=67)
G/C	110,5 ± 41,0 (N=57)	6,1 ± 1,4 (N=60)
p-Wert	0,219	0,361
C/C	134,0 ± 60,5 (N=13)	6,0 ± 0,8 (N=13)
p-Wert	0,509	0,419
Insgesamt	118,28 ± 52,4 (N=134)	6,2 ± 1,4 (N=140)

### 4.3 $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Gen

#### 4.3.1 Polymorphismusprävalenz

Bei 533 Studienteilnehmern (149 Männern und 384 Frauen) konnte eine Analyse des ADRB3-Gens erfolgen (Abbildung 4), dabei wiesen 439 Teilnehmer (121 Männer und 318 Frauen) den Wildtyp (Tryptophan/Tryptophan) des ADRB3-Gens auf (82,4%). Bei 88 Personen (26 Männern und 62 Frauen) zeigte sich eine heterozygote Mutation (Tryptophan/Arginin) (16,5%) und bei 6 Studienteilnehmern (2 Männern und 4 Frauen) konnte eine homozygote Mutation (Arginin/Arginin) detektiert werden (1,1%). (Tabelle 14)

**Tabelle 14: Prävalenz der ADRB3-Genotypen**

	Trp/Trp	Trp/Arg	Arg/Arg	Arg-Allelfrequenz
Frauen	318 (82,8%)	62 (16,1%)	4 (1,0%)	9,1%
Männer	121 (81,2%)	26 (17,4%)	2 (1,3%)	10,1%
Gesamtkollektiv	439 (82,4%)	88 (16,5%)	6 (1,1%)	9,4%

(Trp= Tryptophan, Arg= Arginin)

Anhand der berechneten Allelfrequenzen wurde geprüft, ob die beobachtete Genotypverteilung im Gleichgewicht nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz ist. Die Unterschiede von beobachteter und erwarteter Verteilung ergaben ein Chi-Quadrat von 0,891. Daraus folgt, dass die Genotypverteilung in Übereinstimmung mit dem Hardy-Weinberg-Gesetz ist.

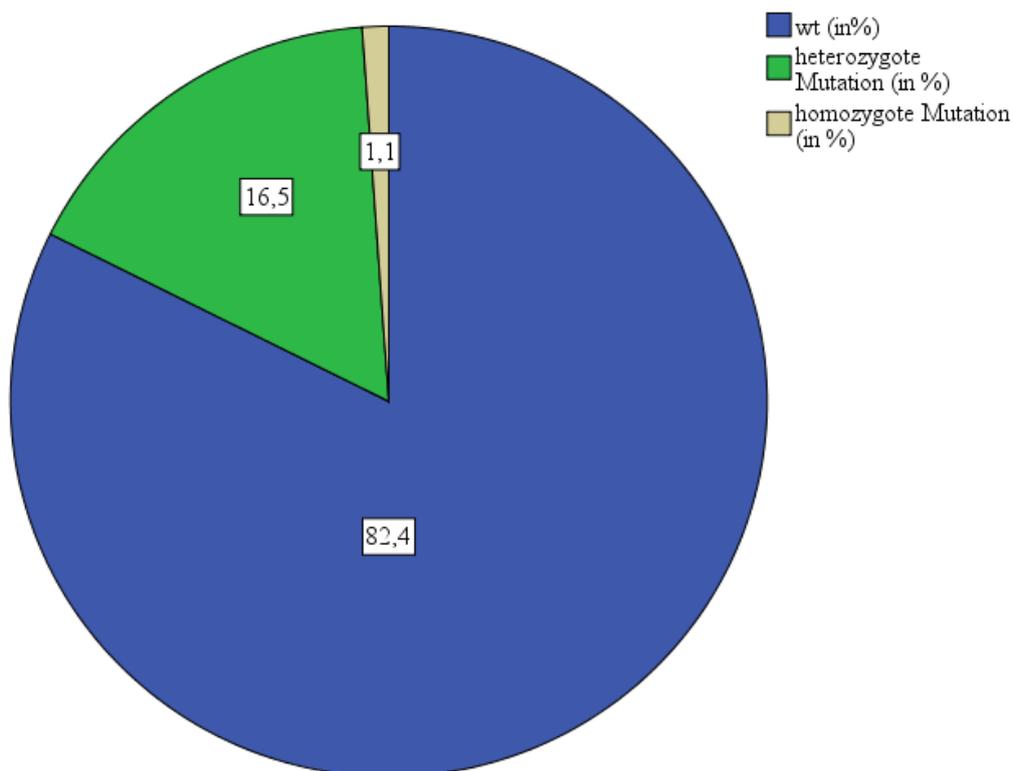
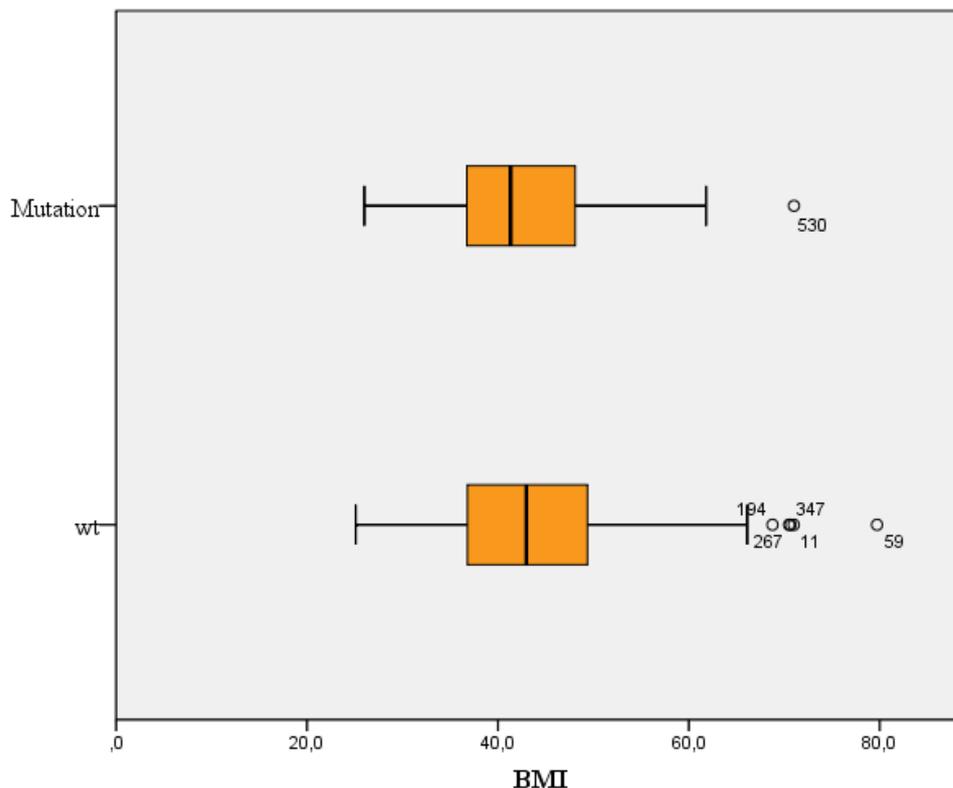


Abbildung 4: ADRB3-Genotypenhäufigkeit

## 4.3.2 Vergleich der Genotypen

### 4.3.2.1 Body Mass Index

Die Träger einer heterozygoten Mutation (Trp/Arg) sowie die Träger einer homozygoten Mutation (Arg/Arg) wurden den Studienteilnehmern ohne Mutation (Trp/Trp) gegenüber gestellt. Die Gruppe der Patienten ohne Mutation umfasste 439 Personen, die Gruppe der Patienten mit einer hetero- bzw. homozygoten Mutation beinhaltete 88 bzw. 6 Patienten (Tabelle 14). Aufgrund der geringen Anzahl an Personen, die eine homozygote Mutation trugen, wurden alle Studienteilnehmer, bei denen eine Mutation (sowohl hetero- als auch homozygot) im ADRB3-Gen gefunden wurde, in einer Gruppe zusammengefasst.



**Abbildung 5: Body Mass Index - aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3)**

Studienteilnehmer ohne die untersuchte Mutation im ADRB3-Gen waren im Durchschnitt  $42,6 \pm 12,7$  Jahre alt und hatten einen durchschnittlichen BMI von  $43,7 \pm 9,4$  kg/m<sup>2</sup>.

Patienten mit einer heterozygoten Mutation waren durchschnittlich  $42,3 \pm 13,8$  Jahre alt und hatten einen mittleren BMI von  $42,3 \pm 8,4$  kg/m<sup>2</sup>.

Teilnehmer der Studie mit einer homozygoten Mutation waren im Durchschnitt  $42,2 \pm 18,5$  Jahre alt und wiesen einen mittleren BMI von  $47,3 \pm 14,4$  kg/m<sup>2</sup> auf. (Tabelle 15)

Alter und Body Mass Index (Abbildung 5) zeigten bei statistischer Analyse der verschiedenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede ( $p > 0,05$ ). (Tabelle 15)

**Tabelle 15: ADRB3-Genotypen: Vergleich von Alter und BMI**

	Alter (Jahre)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
Trp/Trp	42,6 ± 12,7 (N=439)	43,7 ± 9,4 (N=378)
Trp/Arg	42,3 ± 13,8 (N=88)	42,3 ± 8,4 (N=75)
Arg/Arg	42,2 ± 18,5 (N=6)	47,3 ± 14,4 (N=6)
Gesamtkollektiv	42,6 ± 12,9 (N=533)	43,5 ± 9,3 (N=459)

#### 4.3.2.2 Fettstoffwechsel

Studienteilnehmer ohne die untersuchte Mutation hatten einen mittleren Gesamtcholesterinwert von  $203,7 \pm 41,9$  mg/dl, einen mittleren LDL-Cholesterinwert von  $114,2 \pm 38,2$  mg/dl, einen mittleren HDL-Cholesterinwert von  $50,8 \pm 13,9$  mg/dl, einen mittleren Triglyceridwert von  $199,8 \pm 144,1$  mg/dl und einen mittleren Lipoprotein (a)-Wert von  $22,9 \pm 30,7$  mg/dl.

Patienten mit einer hetero- oder homozygoten Mutation wiesen einen mittleren Gesamtcholesterinwert von  $191,5 \pm 36,7$  mg/dl, einen mittleren LDL-Cholesterinwert von  $104,9 \pm 33,7$  mg/dl, einen mittleren HDL-Cholesterinwert von  $51,6 \pm 15,2$  mg/dl, einen mittleren Triglyceridwert von  $188,4 \pm 148,2$  mg/dl und einen mittleren Lipoprotein (a)-Wert von  $35,6 \pm 47,2$  mg/dl auf.

Der Vergleich von laborchemischen Parametern des Fettstoffwechsels ergab für das Gesamtcholesterin ( $p=0,011$ ) und für das LDL-Cholesterin ( $p=0,040$ ) signifikant niedrigere Werte bei den Mutationsträgern als bei den Studienteilnehmern ohne Mutation im ADRB3-Gen. Nach Geschlecht aufgeteilt ließ sich dieser signifikante Unterschied nur bei den Frauen (Gesamtcholesterin  $205,3 \pm 40,8$  mg/dl vs.  $158,5 \pm 26,9$  mg/dl  $p<0,001$ ; LDL-Cholesterin  $115,8 \pm 38,2$  mg/dl vs.  $100,3 \pm 25,0$  mg/dl  $p<0,001$ ) nachweisen (Abbildung 6; Abbildung 7).

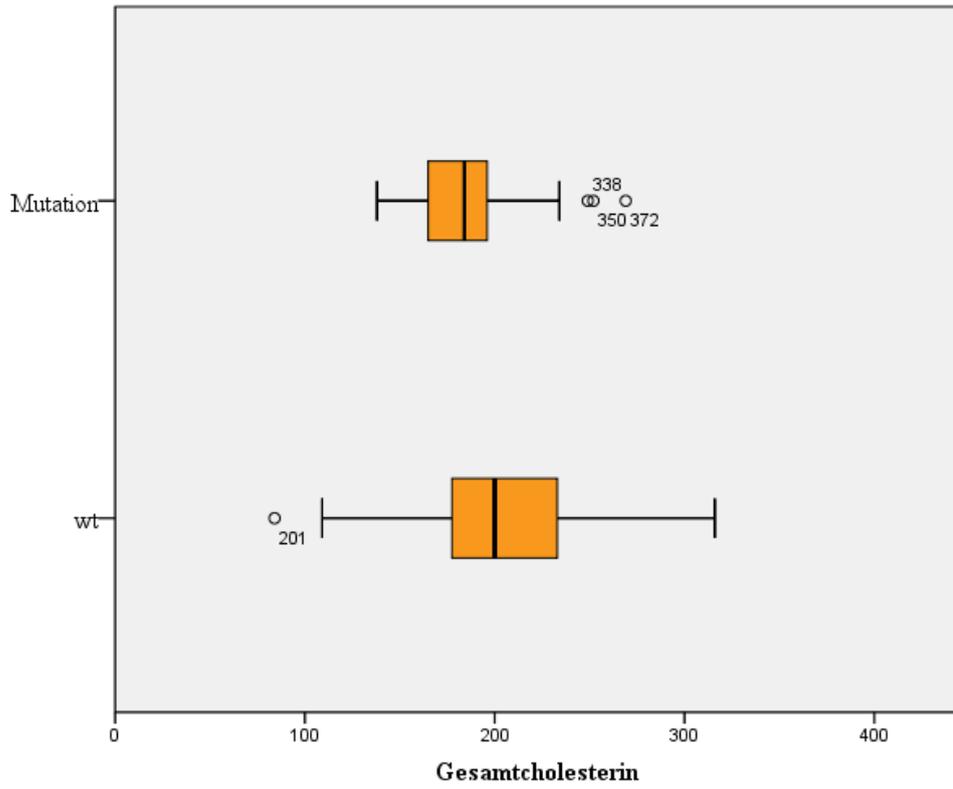


Abbildung 6: Gesamtcholesterin (Frauen) - aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3)

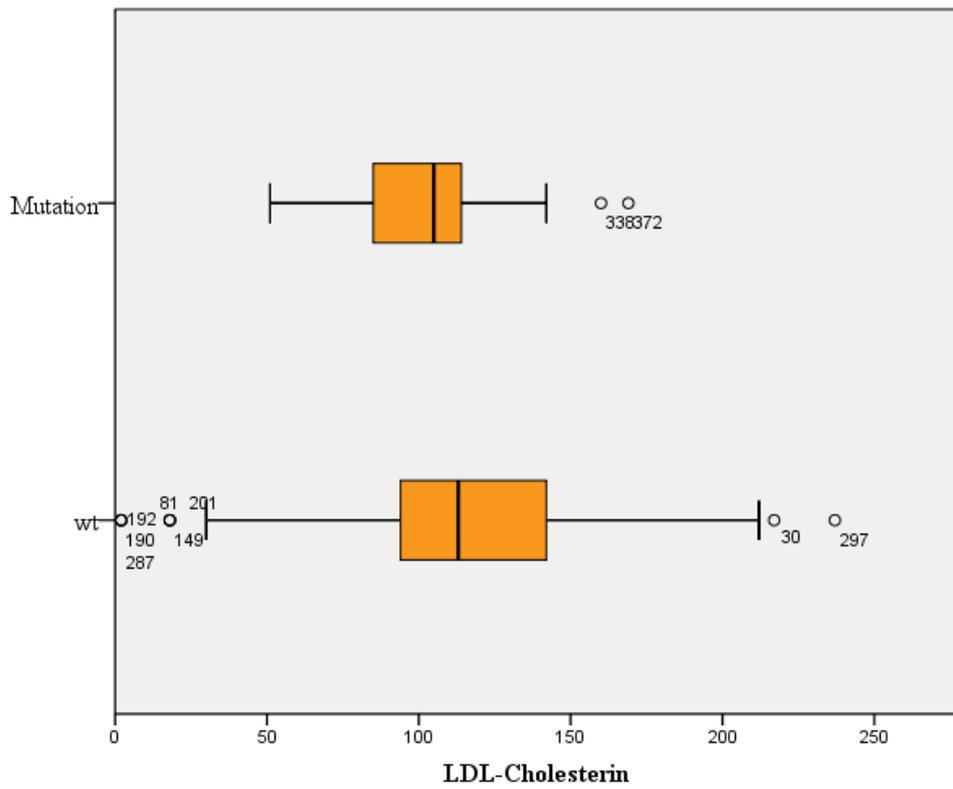


Abbildung 7: LDL-Cholesterin (Frauen) – aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3)

Bei den Männern mit einer Mutation im ADRB3-Gen ließ sich kein solcher Unterschied feststellen. Die Analyse der restlichen Parameter des Fettstoffwechsels konnten keine weiteren signifikanten Unterschiede zeigen. (Tabelle 16)

**Tabelle 16: ADRB3-Genotypen: Vergleich von Parametern des Fettstoffwechsels getrennt nach Geschlecht**

<b>Gesamt-kollektiv</b>	<b>Gesamt-cholesterin (mg/dl)</b>	<b>LDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>HDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>Triglyceride (mg/dl)</b>	<b>Lipoprotein (a) (mg/dl)</b>
Trp/Trp	203,7 ± 41,9 (N=422)	114,2 ± 38,2 (N=405)	50,8 ± 13,9 (N=419)	199,8 ± 144,1 (N=420)	22,9 ± 30,7 (N=208)
Trp/Arg und Arg/Arg	191,5 ± 36,7 (N=89)	104,9 ± 33,7 (N=84)	51,6 ± 15,2 (N=89)	188,4 ± 148,2 (N=89)	35,6 ± 47,2 (N=41)
p-Wert	<b>0,011</b>	<b>0,040</b>	0,615	0,499	0,106
Insgesamt	201,6 ± 41,3 (N=511)	112,6 ± 37,6 (N=489)	50,9 ± 14,2 (N=508)	197,8 ± 144,8 (N=509)	25,0 ± 34,2 (N=249)

<b>Frauen</b>	<b>Gesamt-cholesterin (mg/dl)</b>	<b>LDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>HDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>Triglyceride (mg/dl)</b>	<b>Lipoprotein (a) (mg/dl)</b>
Trp/Trp	205,3 ± 40,8 (N=304)	115,8 ± 38,2 (N=294)	53,3 ± 14,2 (N=301)	182,9 ± 125,8 (N=302)	25,4 ± 33,3 (N=156)
Trp/Arg und Arg/Arg	158,5 ± 26,9 (N=62)	100,3 ± 25,0 (N=59)	54,8 ± 16,6 (N=62)	165,5 ± 130,0 (N=62)	42,1 ± 54,4 (N=27)
p-Wert	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,468	0,325	0,135
Insgesamt	201,9 ± 39,5 (N=366)	113,2 ± 36,7 (N=353)	53,6 ± 14,6 (N=363)	180,0 ± 126,5 (N=364)	27,9 ± 37,4 (N=183)

<b>Männer</b>	<b>Gesamt-cholesterin (mg/dl)</b>	<b>LDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>HDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>Triglyceride (mg/dl)</b>	<b>Lipoprotein (a) (mg/dl)</b>
Trp/Trp	199,61 ± 44,5 (N=118)	109,8 ± 38,1 (N=111)	44,2 ± 10,8 (N=118)	243,1 ± 176,3 (N=118)	15,4 ± 19,7 (N=52)
Trp/Arg und Arg/Arg	205,4 ± 50,8 (N=27)	115,76 ± 47,5 (N=25)	44,2 ± 7,3 (N=27)	240,9 ± 174,9 (N=27)	23,1 ± 26,1 (N=14)
p-Wert	0,553	0,501	0,996	0,954	0,230
Insgesamt	200,7 ± 45,6 (N=145)	110,9 ± 39,8 (N=136)	44,2 ± 10,2 (N=145)	242,7 ± 175,4 (N=145)	17,0 ± 21,3 (N=66)

Es zeigte sich eine nicht signifikante Tendenz zu erhöhten Lipoprotein (a)-Werten bei Studienteilnehmern mit einer Mutation im ADRB3-Gen im Gegensatz zu Patienten ohne eine solche Mutation.

#### 4.3.2.3 Kohlenhydratstoffwechsel

Studienteilnehmer mit den Wildtyp-Allelen des untersuchten ADRB3-Gens wiesen einen mittleren Glukosewert von  $104,6 \pm 38,3$  mg/dl und einen mittleren HbA1c-Wert von  $5,9 \pm 1,0$  % auf.

Patienten mit einer hetero- oder homozygoten Mutation hatten im Durchschnitt einen Glukosewert von  $111,3 \pm 48,7$  mg/dl und einen HbA1c-Wert von  $5,9 \pm 1,1$  %. (Tabelle 17)

**Tabelle 17: ADRB3-Genotypen: Vergleich von Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels geteilt nach Geschlecht**

Gesamt-kollektiv	Glukose-Wert (mg/dl)	HbA1c (in %)
Trp/Trp	$104,6 \pm 38,3$ (N=374)	$5,9 \pm 1,0$ (N=403)
Trp/Arg und Arg/Arg	$111,3 \pm 48,7$ (N=82)	$5,9 \pm 1,1$ (N=85)
p-Wert	0,176	0,743
Insgesamt	$105,8 \pm 40,4$ (N=456)	$5,9 \pm 1,0$ (N=488)

Frauen	Glukose-Wert (mg/dl)	HbA1c (in %)
Trp/Trp	$99,6 \pm 30,3$ (N=266)	$5,8 \pm 0,7$ (N=291)
Trp/Arg und Arg/Arg	$108,5 \pm 46,3$ (N=58)	$5,9 \pm 1,0$ (N=58)
p-Wert	0,166	0,535
Insgesamt	$101,2 \pm 33,8$ (N=324)	$5,8 \pm 0,8$ (N=349)

Männer	Glukose-Wert (mg/dl)	HbA1c (in %)
Trp/Trp	117,1 ± 51,0 (N=108)	6,2 ± 1,4 (N=112)
Trp/Arg und Arg/Arg	118,1 ± 54,6 (N=24)	6,1 ± 1,3 (N=27)
p-Wert	0,930	0,707
Insgesamt	117,3 ± 51,5 (N=132)	6,2 ± 1,4 (N=139)

Der Vergleich von laborchemischen Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels zwischen Trägern einer hetero- bzw. homozygoten Mutation im ADRB3-Gen und Trägern der Wildtyp-Allele zeigte weder im Gesamtkollektiv noch nach Aufteilung in ein männliches (Abbildung 9) und ein weibliches (Abbildung 8) Kollektiv signifikante Unterschiede in der Prävalenz von Diabetes mellitus Typ 2. (Tabelle 17)

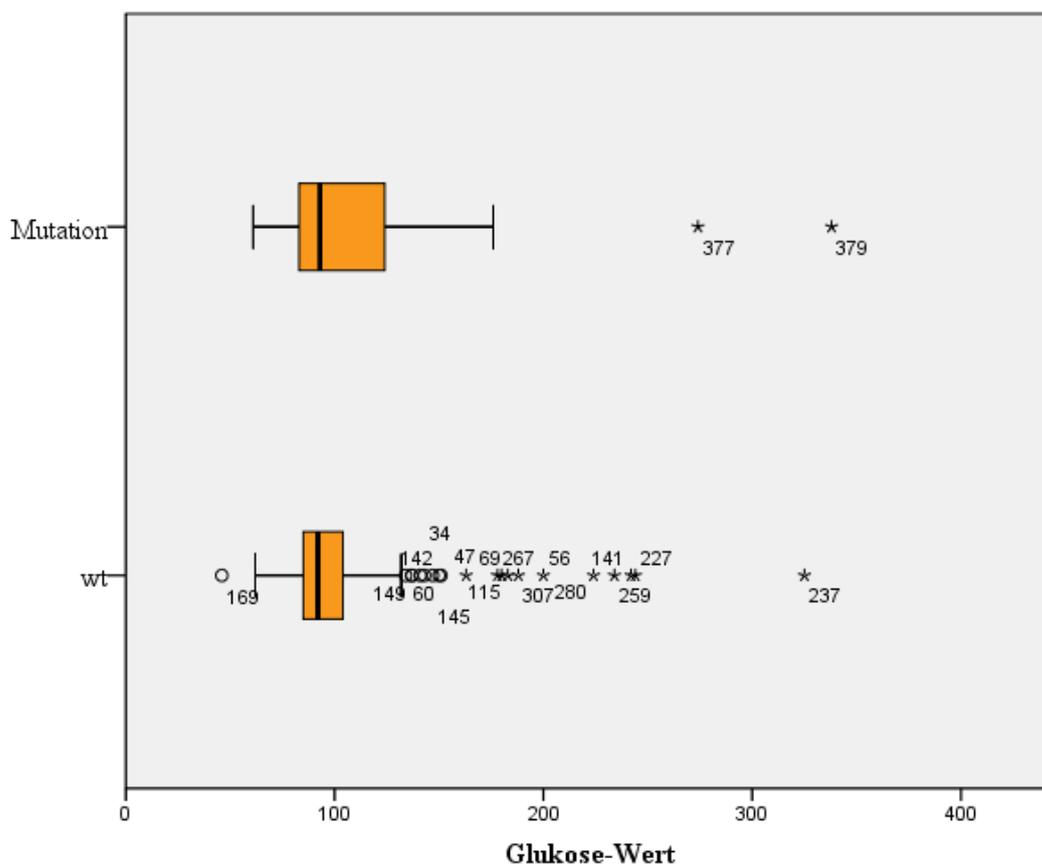


Abbildung 8: Glukose-Wert (Frauen) - aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3)

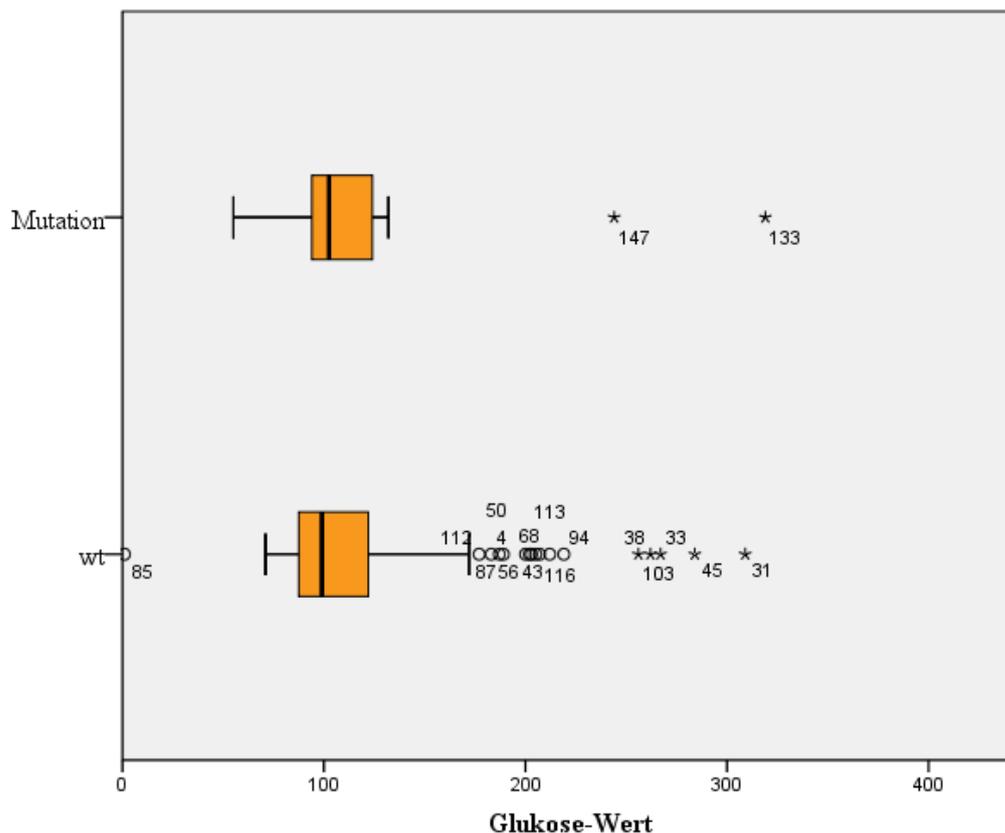
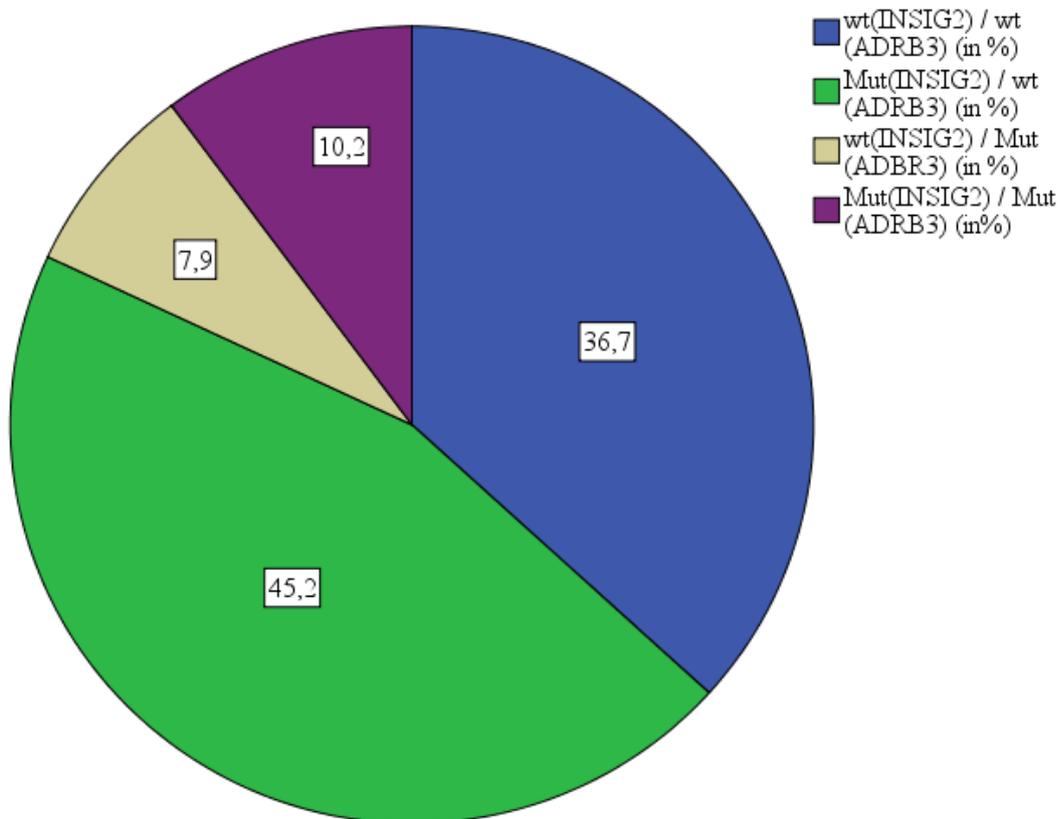


Abbildung 9: Glukose-Wert (Männer) - aufgeteilt nach Genotypen (ADRB3)

## 4.4 Gen-Gen Interaktion Insulin Induced Gene 2 und $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Gen

### 4.4.1 Polymorphismusprävalenz

Bei 509 Studienteilnehmern (145 Männern und 364 Frauen) konnte eine kombinierte Analyse des INSIG2- und ADRB3-Gens erfolgen (Abbildung 10).



**Abbildung 10: Kombination INSIG2/ADRB3-Genotypenhäufigkeit**

Aufgrund der geringen Prävalenz von homozygoten Mutationen im ADRB3-Gen wurden die Patienten mit homozygoter und heterozygoter Mutation im ADRB3- bzw. im INSIG2-Gen zu jeweils einer gemeinsamen Gruppe zusammengefasst.

**Tabelle 18: Prävalenz der kombinierten INSIG2/ADRB3-Genotypen**

	wt(INSIG2) / wt (ADRB3)	Mut(INSIG2) / wt(ADRB3)	wt(INSIG2) / Mut(ADRB3)	Mut(INSIG2) / Mut(ADRB3)
Frauen	132 (36,3%)	167 (45,9%)	26 (7,1%)	39 (10,7%)
Männer	55 (37,9%)	63 (43,3%)	14 (9,7%)	13 (9,0%)
Gesamtkollektiv	187 (36,7%)	230 (45,2%)	40 (7,9%)	52 (10,2%)

Dabei wiesen 187 Teilnehmer (55 Männer und 132 Frauen) in beiden Genen den Wildtyp (wt) auf (36,7%). 230 Patienten (63 Männer und 167 Frauen) wiesen eine Mutation (Mut) im INSIG2- und den Wildtyp im ADRB3-Gen auf (45,2%), bei 40 Studienteilnehmern (14 Männern und 26 Frauen) konnte eine Mutation im ADRB3-Gen sowie der Wildtyp im

INSIG2-Gen detektiert werden (7,9%) und bei 52 Personen (13 Männern und 39 Frauen) fiel eine kombinierte Mutation im INSIG2- und ADRB3-Gen auf (10,2%). (Tabelle 18)

#### 4.4.2 Vergleich der Genotypen

##### 4.4.2.1 Body Mass Index

Aufgrund der geringen Anzahl an Studienteilnehmern mit einer homozygoten Mutation im ADRB3-Gen wurden die Patienten mit einer hetero- und homozygoten Mutation im INSIG2- bzw. ADRB3-Gen jeweils in einer Gruppe zusammengefasst und in Kombination den Studienteilnehmern, die keine Mutation in den o.g. Genen aufwiesen, gegenübergestellt. Im Gesamtkollektiv wiesen 187 Studienteilnehmer keine Mutationen auf (wt(INSIG2) / wt(ADRB3)), bei 230 Patienten zeigte sich allein im INSIG2-Gen eine Mutation (Mut(INSIG2) / wt(ADRB3)), bei 40 Personen konnte eine alleinige Mutation im ADRB3-Gen (wt(INSIG2) / Mut(ADRB3)) detektiert werden und bei 52 Studienteilnehmern wurde in beiden Genen eine Mutation beobachtet (Mut(INSIG2) / Mut(ADRB3)).

**Tabelle 19: Kombination INSIG2-/ADRB3-Genotypen: Vergleich von Alter und BMI**

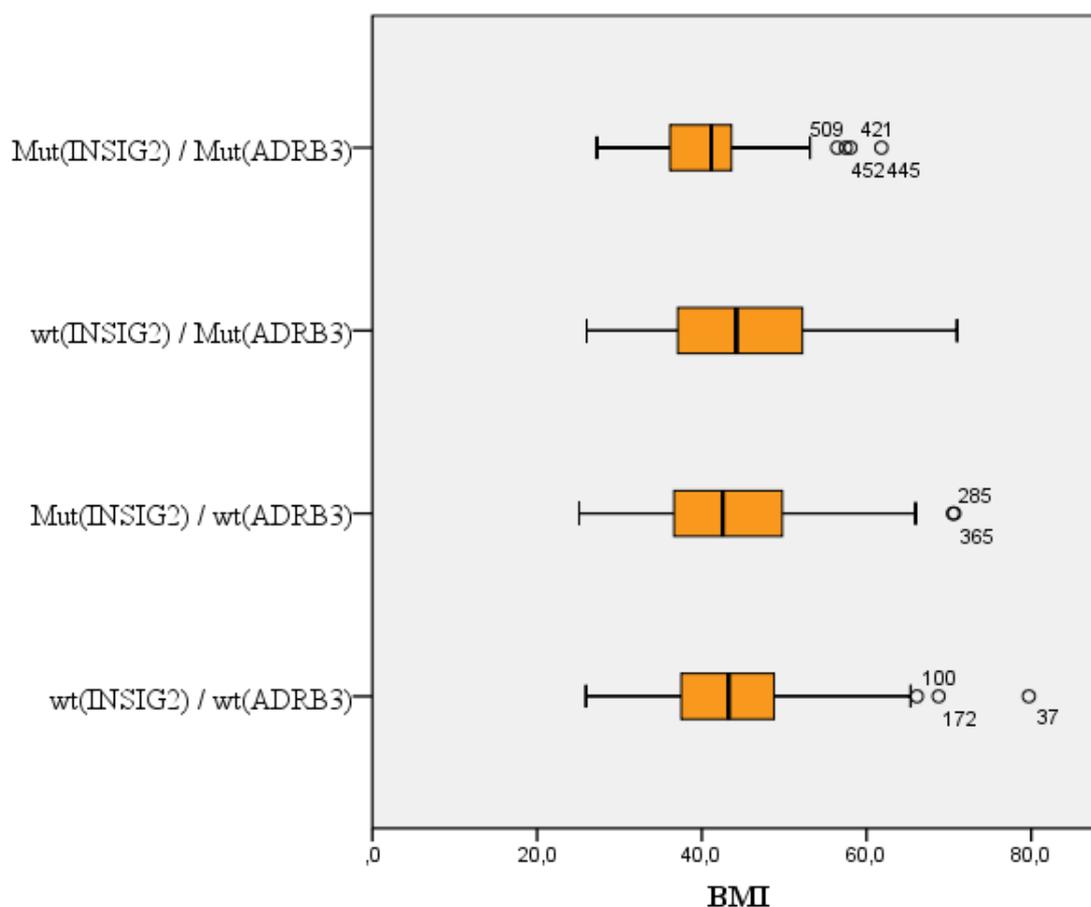
	Alter (Jahre)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
wt(INSIG2)/ wt (ADRB3)	41,9 ± 12,6 (N=187)	43,8 ± 8,9 (N=167)
Mut(INSIG2)/ wt(ADRB3)	43,0 ± 12,9 (N=230)	43,6 ± 9,8 (N=191)
wt(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	41,8 ± 10,8 (N=40)	44,6 ± 10,5 (N=30)
Mut(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	42,8 ± 16,3 (N=52)	41,4 ± 7,6 (N=49)
Gesamtkollektiv	42,5 ± 13,0 (N=509)	43,5 ± 9,3 (N=437)

Studienteilnehmer ohne Mutation im INSIG2- oder ADRB3-Gen waren im Durchschnitt 41,9 ± 12,6 Jahre alt und hatten einen durchschnittlichen BMI von 43,8 ± 8,9 kg/m<sup>2</sup>.

Patienten mit einer Mutation im INSIG2-Gen und den Wildtyp-Allelen im ADRB3-Gen waren durchschnittlich 43,0 ± 12,9 Jahre alt und hatten einen durchschnittlichen BMI von 43,6 ± 9,8 kg/m<sup>2</sup>.

Teilnehmer der Studie mit einer Mutation im ADRB3-Gen und den Wildtyp-Allelen im INSIG2-Gen wiesen ein durchschnittliches Alter von  $41,8 \pm 10,8$  Jahren und einen durchschnittlichen BMI von  $44,6 \pm 10,5$  kg/m<sup>2</sup> auf.

Patienten mit einer kombinierten Mutation in beiden untersuchten Genen waren im Mittel  $42,8 \pm 16,3$  Jahre alt und hatten einen mittleren BMI von  $41,4 \pm 7,6$  kg/m<sup>2</sup>. (Tabelle 19)



**Abbildung 11: Body Mass Index - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3)**

Alter und Body Mass Index (Abbildung 11) zeigten bei statistischer Analyse der vier verschiedenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede ( $p > 0,05$ ).

#### 4.4.2.2 Fettstoffwechsel

Studienteilnehmer ohne eine Mutation in den in dieser Studie untersuchten Genen hatten einen mittleren Gesamtcholesterinwert von  $202,2 \pm 39,0$  mg/dl, einen mittleren LDL-Cholesterinwert von  $113,2 \pm 36,4$  mg/dl, einen mittleren HDL-Cholesterinwert von  $51,0 \pm 13,7$  mg/dl, einen mittleren Triglyceridwert von  $201,4 \pm 168,1$  mg/dl und einen mittleren Lipoprotein (a)-Wert von  $27,1 \pm 35,3$  mg/dl.

Patienten mit einer Mutation im INSIG2-Gen und den Wildtyp-Allelen im ADRB3-Gen wiesen einen mittleren Gesamtcholesterinwert von  $206,0 \pm 43,3$  mg/dl, einen mittleren LDL-Cholesterinwert von  $115,3 \pm 38,9$  mg/dl, einen mittleren HDL-Cholesterinwert von  $51,1 \pm 14,5$  mg/dl, einen mittleren Triglyceridwert von  $200,8 \pm 128,7$  mg/dl und einen mittleren Lipoprotein (a)-Wert von  $20,2 \pm 28,3$  mg/dl auf.

Teilnehmer der Studie mit einer Mutation im ADRB3-Gen und den Wildtyp-Allelen im INSIG2-Gen hatten im Durchschnitt einen Gesamtcholesterinwert von  $184,5 \pm 36,7$  mg/dl, einen LDL-Cholesterinwert von  $98,5 \pm 30,9$  mg/dl, einen HDL-Cholesterinwert von  $47,4 \pm 12,6$  mg/dl, einen Triglyceridwert von  $204,5 \pm 152,9$  mg/dl und einen Lipoprotein (a)-Wert von  $40,4 \pm 49,7$  mg/dl.

Patienten mit einer hetero- bzw. homozygoten Mutation im INSIG2- und ADRB3-Gen wiesen einen mittleren Gesamtcholesterinwert von  $197,0 \pm 36,7$  mg/dl, einen mittleren LDL-Cholesterinwert von  $109,0 \pm 35,6$  mg/dl, einen mittleren HDL-Cholesterinwert von  $54,7 \pm 16,4$  mg/dl, einen mittleren Triglyceridwert von  $177,9 \pm 145,5$  mg/dl und einen mittleren Lipoprotein (a)-Wert von  $33,3 \pm 47,2$  mg/dl auf. (Tabelle 20)

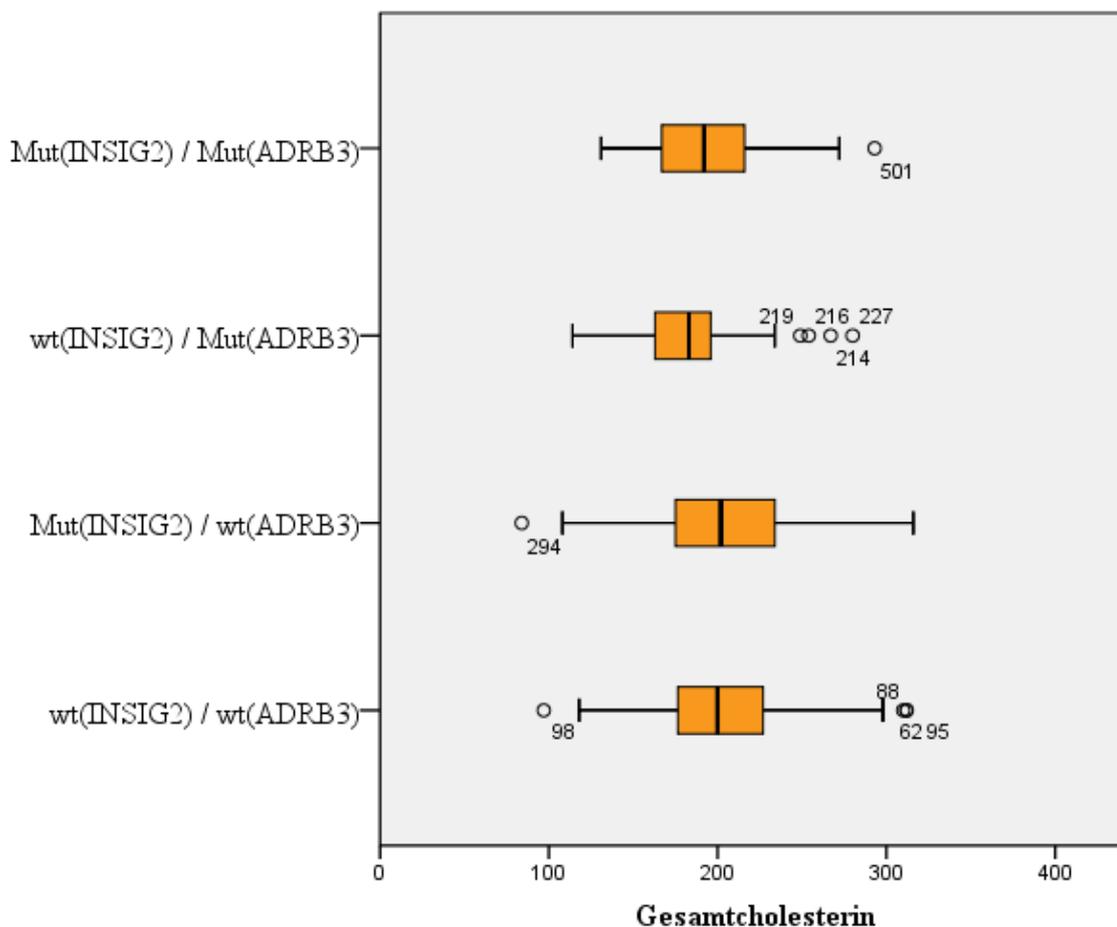
**Tabelle 20: INSIG2-/ADRB3-Genotypen: Vergleich von Parametern des Fettstoffwechsels getrennt nach Geschlecht**

Gesamt-kollektiv	Gesamt-cholesterin (mg/dl)	LDL-Cholesterin (mg/dl)	HDL-Cholesterin (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Lipoprotein (a) (mg/dl)
wt(INSIG2)/ wt (ADRB3)	$202,2 \pm 39,0$ (N=175)	$113,2 \pm 36,4$ (N=166)	$51,0 \pm 13,7$ (N=173)	$201,4 \pm 168,1$ (N=173)	$27,1 \pm 35,3$ (N=74)
Mut(INSIG2)/ wt(ADRB3)	$206,0 \pm 43,3$ (N=226)	$115,3 \pm 38,9$ (N=219)	$51,1 \pm 14,5$ (N=226)	$200,8 \pm 128,7$ (N=226)	$20,2 \pm 28,3$ (N=117)
p-Wert	0,366	0,595	0,930	0,972	0,162
wt(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	$184,5 \pm 36,4$ (N=39)	$98,5 \pm 30,9$ (N=36)	$47,4 \pm 12,6$ (N=39)	$204,5 \pm 152,9$ (N=39)	$40,4 \pm 49,7$ (N=16)
p-Wert	<b>0,010</b>	<b>0,025</b>	0,142	0,915	0,320
Mut(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	$197,0 \pm 36,7$ (N=49)	$109,0 \pm 35,6$ (N=47)	$54,7 \pm 16,4$ (N=49)	$177,9 \pm 145,5$ (N=49)	$33,3 \pm 47,2$ (N=24)
p-Wert	0,409	0,556	0,110	0,377	0,491
Insgesamt	$202,0 \pm 41,0$ (N=489)	$112,7 \pm 37,3$ (N=468)	$51,1 \pm 14,3$ (N=487)	$199,0 \pm 147,1$ (N=487)	$25,2 \pm 34,9$ (N=231)

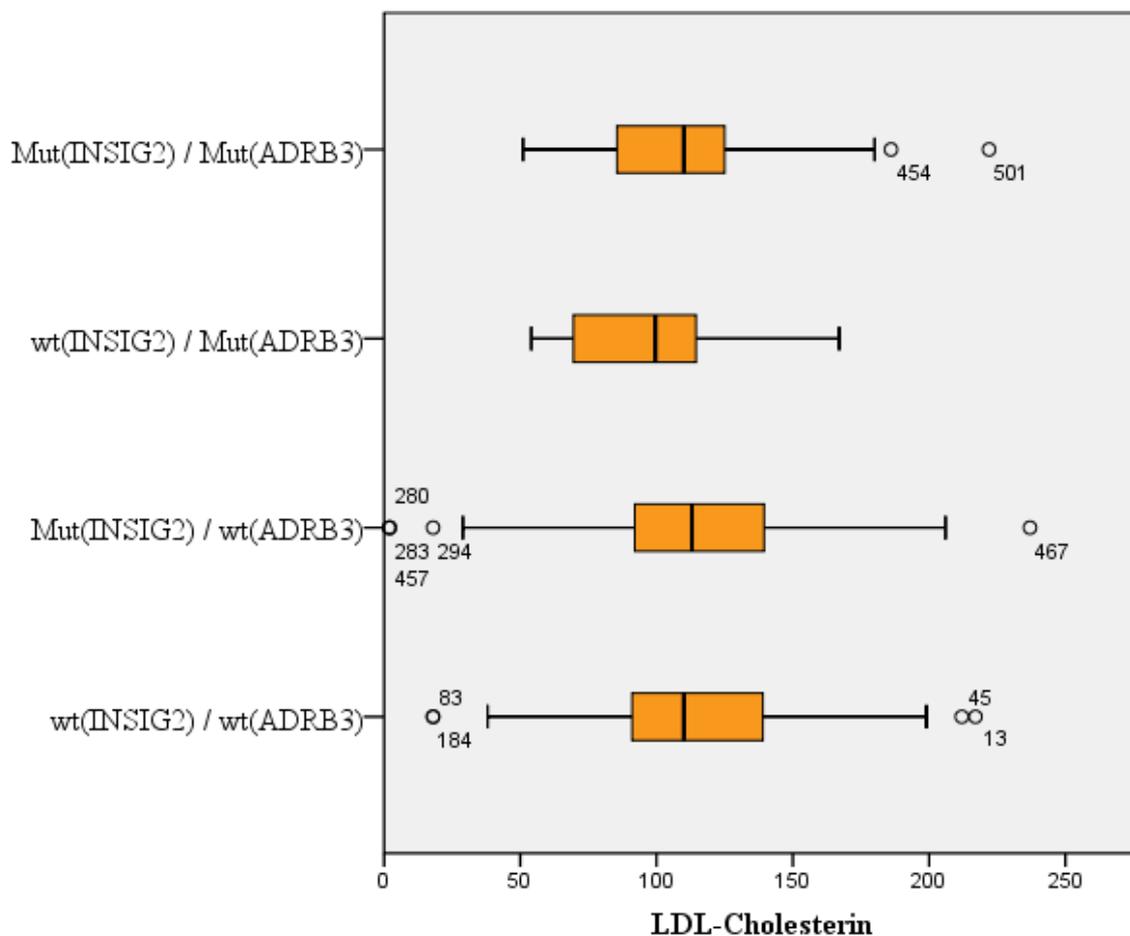
<b>Frauen</b>	<b>Gesamt-cholesterin (mg/dl)</b>	<b>LDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>HDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>Triglyceride (mg/dl)</b>	<b>Lipoprotein (a) (mg/dl)</b>
wt(INSIG2)/ wt (ADRB3)	201,9 ± 38,7 (N=122)	114,4 ± 37,7 (N=118)	53,7 ± 14,0 (N=120)	175,0 ± 124,0 (N=120)	29,7 ± 39,0 (N=50)
Mut(INSIG2)/ wt(ADRB3)	208,6 ± 42,4 (N=164)	117,0 ± 38,7 (N=159)	53,7 ± 14,8 (N=164)	189,2 ± 131,8 (N=164)	23,6 ± 31,1 (N=90)
p-Wert	0,175	0,579	0,993	0,361	0,311
wt(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	179,4 ± 23,8 (N=25)	96,9 ± 25,1 (N=23)	49,5 ± 14,9 (N=25)	186,2 ± 162,0 (N=25)	55,6 ± 58,6 (N=9)
p-Wert	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,008</b>	0,179	0,698	0,097
Mut(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	189,5 ± 28,7 (N=36)	102,2 ± 25,3 (N=35)	58,2 ± 17,1 (N=36)	153,8 ± 103,8 (N=36)	36,6 ± 53,9 (N=17)
p-Wert	<b>0,039</b>	<b>0,029</b>	0,110	0,352	0,567
Insgesamt	202,2 ± 39,6 (N=347)	113,2 ± 36,7 (N=335)	53,9 ± 14,8 (N=345)	180,3 ± 128,8 (N=345)	28,5 ± 38,5 (N=166)

<b>Männer</b>	<b>Gesamt-cholesterin (mg/dl)</b>	<b>LDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>HDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	<b>Triglyceride (mg/dl)</b>	<b>Lipoprotein (a) (mg/dl)</b>
wt(INSIG2)/ wt (ADRB3)	202,81 ± 40,1 (N=53)	110,3 ± 33,4 (N=48)	44,6 ± 10,7 (N=53)	261,1 ± 230,4 (N=53)	21,6 ± 25,7 (N=24)
Mut(INSIG2)/ wt(ADRB3)	199,1 ± 45,4 (N=62)	110,8 ± 39,4 (N=60)	44,0 ± 11,0 (N=62)	231,8 ± 115,5 (N=62)	9,1 ± 9,4 (N=27)
p-Wert	0,648	0,944	0,753	0,380	<b>0,032</b>
wt(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	193,7 ± 51,9 (N=14)	101,2 ± 40,2 (N=13)	43,6 ± 5,2 (N=14)	237,2 ± 134,5 (N=14)	21,0 ± 28,4 (N=7)
p-Wert	0,481	0,412	0,624	0,713	0,959
Mut(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	218,0 ± 48,4 (N=13)	131,5 ± 51,3 (N=12)	44,8 ± 9,3 (N=13)	244,9 ± 215,9 (N=13)	25,1 ± 25,7 (N=7)
p-Wert	0,244	0,084	0,969	0,819	0,749
Insgesamt	201,7 ± 44,3 (N=142)	111,5 ± 38,8 (N=133)	44,3 ± 10,2 (N=142)	244,4 ± 176,6 (N=142)	16,7 ± 21,3 (N=65)

Der Vergleich von laborchemischen Parametern des Fettstoffwechsels im Gesamtkollektiv ergab für das Gesamtcholesterin ( $p=0,010$ ) und für das LDL-Cholesterin ( $p=0,025$ ) signifikant niedrigere Werte bei den Studienteilnehmern mit einer Mutation im ADRB3-Gen und dem Wildtyp des INSIG2-Gens im Vergleich mit Patienten, die in beiden untersuchten Genen keine Mutation aufwiesen. (Abbildung 12; Abbildung 13)



**Abbildung 12: Gesamtcholesterin (Gesamtkollektiv) - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3)**



**Abbildung 13: LDL-Cholesterin (Gesamtkollektiv) - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3)**

Nach Geschlecht aufgeteilt ließ sich dieser signifikante Unterschied nur bei den Frauen reproduzieren (Gesamtcholesterin  $179,4 \pm 23,8$  mg/dl vs.  $201,9 \pm 38,7$  mg/dl  $p < 0,001$ ; LDL-Cholesterin  $96,9 \pm 25,1$  mg/dl vs.  $114,4 \pm 37,7$  mg/dl  $p = 0,008$ ). Frauen mit einer kombinierten Mutation im INSIG2- und ADRB3-Gen zeigten im Gegensatz zum Gesamtkollektiv ebenso einen signifikant erniedrigten Gesamtcholesterin- ( $189,5 \pm 28,7$  mg/dl vs.  $201,9 \pm 38,7$  mg/dl  $p = 0,039$ ) und LDL-Cholesterinwert ( $102,2 \pm 25,3$  mg/dl vs.  $114,4 \pm 37,7$  mg/dl  $p = 0,029$ ). (Abbildung 14; Abbildung 15)

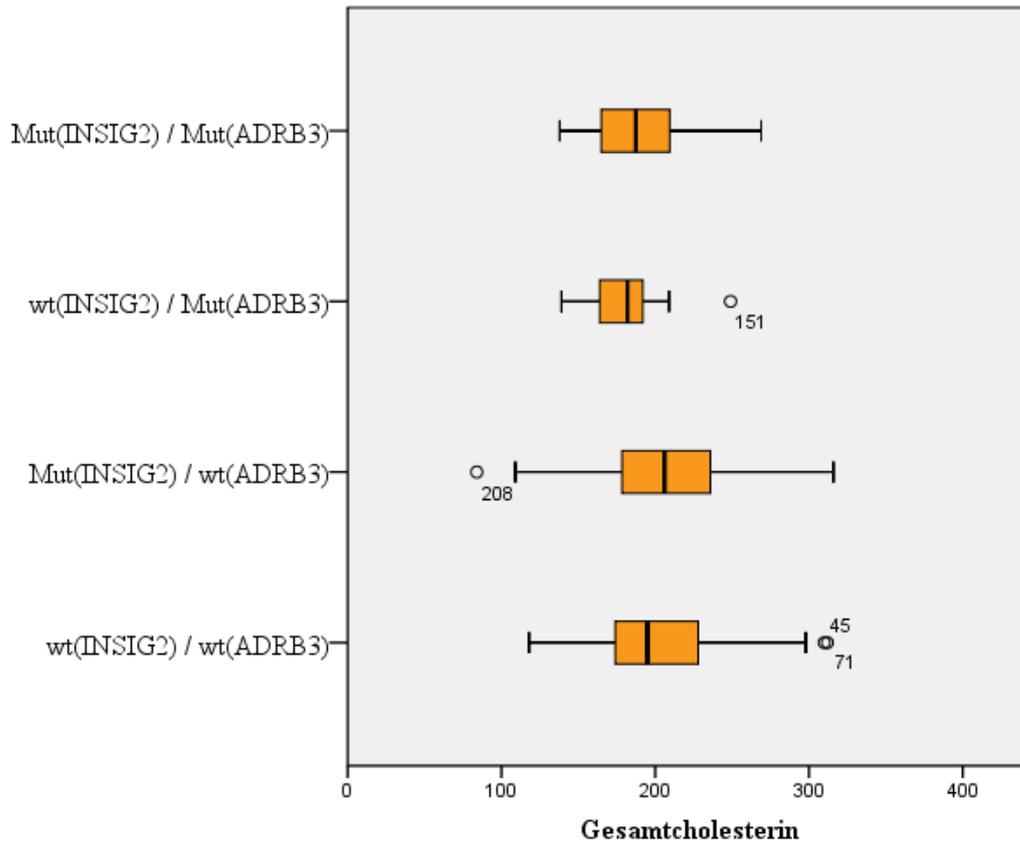


Abbildung 14: Gesamtcholesterin (Frauen) - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3)

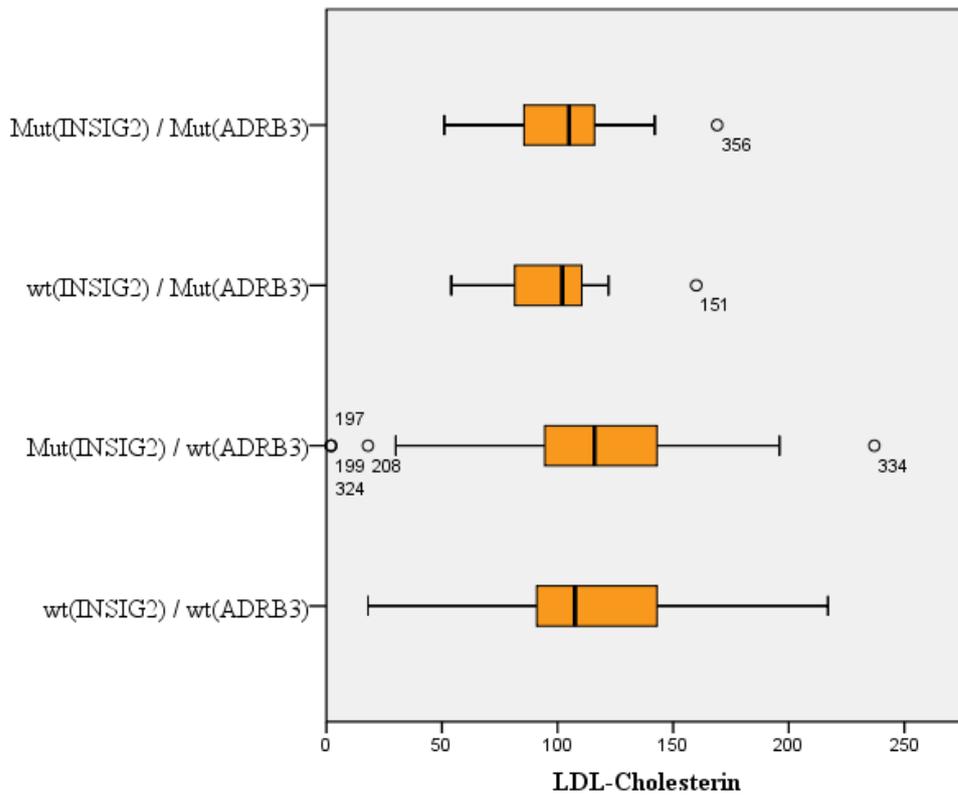


Abbildung 15: -Cholesterin (Frauen) - aufgeteilt nach Genotypen (Kombination INSIG2/ADRB3)

---

Bei den Männern mit einer Mutation im ADRB3-Gen und dem Wildtyp- bzw. einer Mutation im INSIG2-Gen ließ sich ein solch signifikanter Unterschied nicht feststellen. Bei den Männern fiel ein signifikant erniedrigter Lipoprotein (a)-Spiegel bei Studienteilnehmern mit einer Mutation im INSIG2-Gen und dem Wildtyp im ADRB3-Gen auf. Die restlichen Parameter des Fettstoffwechsels wiesen keine weiteren signifikanten Unterschiede auf. (Tabelle 20)

#### 4.4.2.3 Kohlenhydratstoffwechsel

Studienteilnehmer ohne eine Mutation in den in dieser Studie untersuchten Genen wiesen einen mittleren Glukosewert von  $106,5 \pm 40,0$  mg/dl und einen mittleren HbA1c-Wert von  $6,0 \pm 1,1$  % auf.

Patienten mit einer Mutation im INSIG2-Gen und den Wildtyp-Allelen im ADRB3-Gen hatten im Durchschnitt einen Glukosewert von  $103,3 \pm 38,1$  mg/dl und einen HbA1c-Wert von  $5,8 \pm 0,9$  %.

Bei Teilnehmern der Studie mit einer Mutation im ADRB3-Gen und den Wildtyp-Allelen im INSIG2-Gen konnte ein durchschnittlicher Glukosewert von  $109,1 \pm 42,2$  mg/dl sowie ein durchschnittlicher HbA1c-Wert von  $5,9 \pm 1,0$  % bestimmt werden.

Patienten mit einer hetero- bzw. homozygoten Mutation im INSIG2- und ADRB3-Gen wurde im Mittel ein Glukosewert von  $113,5 \pm 54,5$  mg/dl und ein HbA1c-Wert von  $6,0 \pm 1,2$  % gemessen. (Tabelle 21)

**Tabelle 21: INSIG2-/ADRB3-Genotypen: Vergleich von Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels geteilt nach Geschlecht**

<b>Gesamt-kollektiv</b>	<b>Glukose-Wert (mg/dl)</b>	<b>HbA1c (in %)</b>
wt(INSIG2)/ wt (ADRB3)	106,5 ± 40,0 (N=161)	6,0 ± 1,1 (N=169)
Mut(INSIG2)/ wt(ADRB3)	103,3 ± 38,1 (N=198)	5,8 ± 0,9 (N=215)
p-Wert	0,451	0,084
wt(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	109,1 ± 42,2 (N=37)	5,9 ± 1,0 (N=36)
p-Wert	0,722	0,598
Mut(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	113,5 ± 54,5 (N=44)	6,0 ± 1,2 (N=48)
p-Wert	0,344	0,908
Insgesamt	106,0 ± 41,0 (N=440)	5,9 ± 1,0 (N=468)

<b>Frauen</b>	<b>Glukose-Wert (mg/dl)</b>	<b>HbA1c (in %)</b>
wt(INSIG2)/ wt (ADRB3)	99,5 ± 27,1 (N=111)	5,9 ± 0,9 (N=117)
Mut(INSIG2)/ wt(ADRB3)	99,6 ± 33,6 (N=143)	5,7 ± 0,6 (N=158)
p-Wert	0,971	0,149
wt(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	106,6 ± 25,3 (N=24)	5,8 ± 0,6 (N=22)
p-Wert	0,236	0,702
Mut(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	110,2 ± 57,9 (N=33)	6,0 ± 1,2 (N=35)
p-Wert	0,311	0,645
Insgesamt	101,2 ± 34,4 (N=311)	5,8 ± 0,8 (N=332)

<b>Männer</b>	<b>Glukose-Wert (mg/dl)</b>	<b>HbA1c (in %)</b>
wt(INSIG2)/ wt (ADRB3)	122,0 ± 56,7 (N=50)	6,3 ± 1,5 (N=52)
Mut(INSIG2)/ wt(ADRB3)	113,1 ± 46,8 (N=55)	6,1 ± 1,4 (N=57)
p-Wert	0,378	0,395
wt(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	113,6 ± 63,8 (N=13)	6,1 ± 1,5 (N=14)
p-Wert	0,645	0,579
Mut(INSIG2)/ Mut(ADRB3)	123,5 ± 43,6 (N=11)	6,1 ± 1,1 (N=13)
p-Wert	0,937	0,570
Insgesamt	117,5 ± 52,0 (N=129)	6,2 ± 1,4 (N=136)

Der Vergleich von laborchemischen Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels zwischen Trägern einer kombinierten Mutation im INSIG2- und ADRB3-Gen und Trägern der Wildtyp-Allele zeigte weder im Gesamtkollektiv noch nach Aufteilung in ein weibliches und ein männliches Kollektiv einen signifikanten Unterschied in der Prävalenz von Diabetes mellitus Typ 2.

---

## 5 Diskussion

### 5.1 Insulin Induced Gene 2

#### 5.1.1 Bedeutung und bisherige Studienergebnisse

Herbert et al. veröffentlichten 2006, dass eine Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Übergewicht vergesellschaftet sei. Die Forschergruppe verwendete bei ihrer Untersuchung Patientendaten vom National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI)-Framingham Heart Study (FHS). Die Studienteilnehmer wurden über einen Zeitraum von 24 Monaten beobachtet. Die Teilnehmer, die homozygot für die rs7566605 CC-Mutation waren, hatten ohne Berücksichtigung von Geschlecht oder Alter im Durchschnitt einen um 1 kg/m<sup>2</sup> höheren BMI. Daraufhin versuchten Herbert et al. ihre Ergebnisse in weiteren Studienkollektiven zu reproduzieren. In vier von fünf untersuchten Studienkollektiven ließ sich die in der FHS gefundene Assoziation von Übergewicht und einer Mutation 10 kB oberhalb des ersten Exons des INSIG2-Gens reproduzieren, in einer jedoch nicht. In der KORA-Studie (West-Europäische Studienteilnehmer aus der Nähe von München/ Deutschland) zeigten homozygote rs7566605 CC-Mutationsträger einen im Durchschnitt 0,6 kg/m<sup>2</sup> höheren BMI als Studienteilnehmer mit einem heterozygoten (GC) Genotyp oder dem Wildtyp (GG). Die Frequenz des CC-Genotyps war unter den Übergewichtigen mit einer höheren Frequenz vertreten als bei den nicht Übergewichtigen. Eine Beziehung zwischen einer homozygoten Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens und einem erhöhten BMI wurde ebenfalls in einer Fall-Kontroll-Studie bei Personen aus Polen und den USA, sowie bei Afro-Amerikanern beobachtet. In einem fünften von Herbert et al. untersuchten Studienkollektiv, der Nurses Health Study Kohorte, wurde keine signifikante Assoziation zwischen der rs7566605-Mutation und dem BMI gefunden. [31]

Lyon et al. [32] sequenzierten in neun großen Kohorten aus acht verschiedenen Populationen verschiedener Volkszugehörigkeiten den rs7566605 SNP 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens. Sie konnten die von Herbert et al. gefundene Assoziation in fünf Kohorten reproduzieren. In drei Kohorten konnten sie keine Assoziation erkennen. Eine kombinierte Analyse aller Populationen ergab ebenfalls einen signifikant höheren BMI bei Studienteilnehmern mit einer homozygoten Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens. Dieses Ergebnis könnte also darauf hinweisen, dass der Effekt dieser Mutation populationsabhängig ist.

Yang et al. [33] versuchten die Ergebnisse in einer chinesischen Subpopulation zu replizieren. Das Studienkollektiv bestand aus Chinesen aus Beijing und Shanghai. Es konnte keine Assoziation zwischen der homozygoten Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens und einem erhöhten BMI in der kompletten Kohorte gezeigt werden. In der Kohorte der Studienteilnehmer aus Shanghai war die homozygote Mutation signifikant mit einem geringen Anstieg des BMI assoziiert, was die Hypothese stützt, dass der Effekt der Mutation populations- sowie umweltabhängig ist. Hotta et al. [34] konnten eine Assoziation zwischen der homozygoten Mutation und schwerer Adipositas in einer Fall-Kontroll-Studie an 2403 Japanern zeigen.

Viele andere Forschergruppen versuchten die Ergebnisse zu reproduzieren. Roszkopf et al. [17] konnten bei einem aus Pommern/ Deutschland stammenden Studienkollektiv keine Assoziation zwischen dem BMI und einer Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens feststellen. Sie äußerten jedoch die Vermutung, dass bereits übergewichtige Menschen mit der Mutation ein höheres Risiko als nicht Übergewichtige mit der Mutation haben, adipös zu werden. Loos et al. [35] fanden in zwei unabhängigen Studien ebenfalls keine Assoziation von Übergewicht und einer Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens. Ergebnisse eines der beiden Studienkollektive ließen sogar auf eine inverse Korrelation schließen. Studienteilnehmer mit der homozygoten Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens wiesen ein signifikant geringeres Gewicht auf als solche ohne oder mit einer heterozygoten Mutation. Bei Kombination der beiden Studienkollektive konnte allerdings keine signifikante Assoziation gefunden werden.

Andreasen et al. [36] konnten bei einem von ihnen untersuchten Kollektiv bestehend aus 18014 Dänen ebenfalls keine Assoziation von einem erhöhten BMI und einer Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens feststellen. Die Studienteilnehmer wurden zu ihrer körperlichen Aktivität befragt und anhand der Ergebnisse in verschiedene Gruppen eingeteilt. Die Forschergruppe konnte zeigen, dass körperlich inaktive Studienteilnehmer mit der homozygoten Mutation einen 1 kg/m<sup>2</sup> höheren BMI hatten als körperlich aktive Studienteilnehmer mit der homozygoten Mutation. Körperlich inaktive an der Studie teilnehmende Dänen ohne die untersuchte Mutation hatten dahingegen nur einen um 0,54 kg/m<sup>2</sup> erhöhten BMI im Vergleich mit körperlich Aktiven ohne Mutation.

Orkunoglu-Suer et al.[13] untersuchten bei jungen (durchschnittliches Alter 24 Jahre) gesunden Amerikanern mittels Magnetresonanztomographie (MRT) die Menge an

subkutanem Fettgewebe des Oberarms, sowie dessen Veränderung nach einem 12 Wochen dauernden Trainingsprogramm und suchten nach signifikanten Unterschieden zwischen Trägern des SNP rs 7566605 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens und Trägern des Wildtyps. Frauen mit einer homo- oder heterozygoten Mutation zeigten vor Beginn des Trainingsprogramms signifikant höhere Werte von subkutanem Fettgewebe im Oberarm. Bei Männern ließ sich diese Assoziation nicht reproduzieren. Männer, die die Mutation trugen, reagierten mit weniger Fettabbau im Muskel auf das 12 Wochen dauernde Trainingsprogramm als Männer, die keine Mutation trugen.

Reineher et al. [37] untersuchten den Abnahmeerfolg von 293 übergewichtigen deutschen Kindern, die an einem Interventionsprogramm („Oberdicks“) teilgenommen hatten, nach einem Jahr. Kinder, die die homozygote Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens trugen, hatten nach dem Jahr signifikant weniger Gewicht verloren als Kinder mit einer heterozygoten oder ohne Mutation.

### **5.1.2 Untersuchungsergebnisse**

#### **5.1.2.1 Polymorphismushäufigkeit**

Das in dieser Studie untersuchte adipöse Patientenkollektiv unterschied sich mit einer Häufigkeit der Wildtyp-Allele ( $p=43,8\%$ ), der heterozygoten Mutation ( $p=45,5\%$ ) und der homozygoten Mutation ( $p=10,7\%$ ) in der Genotypenprävalenz kaum von den in der Literatur publizierten Genotypenhäufigkeiten in einem normalgewichtigen Kollektiv ( $p(\text{wt})=45,5\%$ ,  $p(\text{het})=44,4\%$ ,  $p(\text{homo})=10,1\%$ ).[17]

Das Fehlen eines vermehrten Vorkommens einer hetero- bzw. homozygoten Mutation in einem adipösen Patientenkollektiv spricht gegen die Hypothese, dass eine Mutation im INSIG2-Gen an der Entstehung der Adipositas beteiligt ist.

#### **5.1.2.2 Body Mass Index**

Wie bereits oben beschrieben, veröffentlichten Herbert et al. 2006, dass eine Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Übergewicht vergesellschaftet sei.[31] Zahlreiche nachfolgende Studien zur Assoziation einer Mutation im INSIG2-Gen mit erhöhtem Body Mass Index zeigten inkonsistente Ergebnisse. Mehrere Untersuchungen in verschiedenen Populationen stellten eine Assoziation des Polymorphismus mit einem erhöhten Body Mass Index fest. [32], [33] In anderen Studienkollektiven fand sich dagegen keine solche Assoziation. [17], [35], [12], [36]

In dem hier untersuchten adipösen Studienkollektiv konnte kein signifikanter Unterschied im Body Mass Index zwischen adipösen Patienten mit und ohne Mutation im INSIG2-Gen gefunden werden. Dieses Ergebnis spricht dafür, dass eine alleinige Mutation im INSIG2-Gen nicht ausreicht, um den BMI signifikant zu erhöhen. Dafür scheinen weitere adipositasbegünstigende Faktoren von Nöten zu sein.

So konnten Chu et al. zeigen, dass bei einer kombinierten Mutation im INSIG2- und FTO-Gen der BMI der Patienten signifikant höher war, als der von Studienteilnehmern ohne eine Mutation. [38] Die Forschergruppe untersuchte adipöse (BMI <40 kg/m<sup>2</sup>) amerikanische Personen vor einer Roux-en-Y Bypass Operation auf Mutationen im fat mass and obesity associated gene (FTO) und auf den SNP 10 kB oberhalb des INSIG2 Gens. Sie konnten zeigen, dass Patienten, die sowohl im FTO-Gen als auch im INSIG2-Gen eine homozygote Mutation aufwiesen, einen 4 kg/m<sup>2</sup> höheren BMI aufwiesen als Personen, die keine Mutation aufwiesen. Patienten mit einer homozygoten und einer heterozygoten Mutation wiesen einen um 3 kg/m<sup>2</sup> höheren BMI auf. Die Patientengruppe mit einer homozygoten Mutation im INSIG2-Gen und dem Wildtyp im FTO-Gen hatte einen 2 kg/m<sup>2</sup> niedrigeren und die Patientengruppe mit einer homozygoten Mutation im FTO-Gen und dem Wildtyp im INSIG2-Gen einen 6 kg/m<sup>2</sup> niedrigeren BMI als die Patientengruppe ohne eine der beiden Mutationen. Diese Ergebnisse stützen die Möglichkeit, dass Gen-Gen-Interaktionen bei der Entstehung einer Adipositas eine wichtige Rolle spielen.

### **5.1.2.3 Fettstoffwechsel**

Pollex et al. [39] sequenzierten den SNP 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens bei 2675 Studienteilnehmern aus sechs verschiedenen Populationen und untersuchten eine Assoziation zwischen dem Vorhandensein einer Mutation und dem Auftreten eines Metabolischen Syndroms (abdominale Adipositas, arterieller Hypertonus, Hypertriglyceridämie, niedriges high-density lipoprotein Cholesterin (HDL), erhöhter Glucose-Wert). Es konnte keine signifikante Zunahme für das Risiko eines Metabolischen Syndroms bei Vorliegen einer Mutation 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens gefunden werden. Anders als erwartet hatten die Träger einer homo- oder heterozygoten Mutation ein leicht erniedrigtes Risiko ein Metabolisches Syndrom zu entwickeln.

Dieses Ergebnis deckt sich mit den Resultaten in dem hier beobachteten adipösen Studienkollektiv. Es konnten keine signifikanten Veränderungen in laborchemischen Parametern des Fettstoffwechsels (Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin,

Triglyceride, Lipoprotein (a)) gefunden werden. Auch hier lässt sich vermuten, dass eine alleinige Mutation im INSIG2-Gen nicht ausreicht, um eine signifikante Erhöhung der Parameter des Fettstoffwechsels zu erreichen.

Es ließ sich eine nicht signifikante Tendenz zu erhöhten Gesamtcholesterin- und Triglycerid-Werten vor allem im weiblichen Kollektiv feststellen. Diese könnte in einem größeren Patientenkollektiv noch einmal untersucht werden.

#### **5.1.2.4 Kohlenhydratstoffwechsel**

Die Ergebnisse dieser Studie an einem adipösen Patientenkollektiv in Bezug auf Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel decken sich mit den Ergebnissen von Pollex et al [39]. Auch in dem hier untersuchten Studienkollektiv konnten keine signifikanten Unterschiede von Glukose- und HbA1c-Werten zwischen Patienten mit und ohne Mutation im INSIG2-Gen gefunden werden.

Das INSIG2-Genprodukt ist wie oben bereits ausführlich beschrieben funktionell in den Fettstoffwechsel eingebunden. Eine Beeinträchtigung von Werten des Kohlenhydratstoffwechsels nach Mutation ist also primär auch nicht zu erwarten gewesen. Ein Anstieg der Werte wäre sicherlich nur sekundär im Rahmen der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 begünstigt durch die Adipositas zu erwarten gewesen.

## **5.2 $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Gen**

### **5.2.1 Bedeutung und bisherige Studienergebnisse**

Die erste intrazelluläre Schleife der sieben Transmembrandomänen, in der die untersuchte Mutation liegt, scheint für die Bewegung des Rezeptors zur Zelloberfläche und möglicherweise auch für die Bindung an das G-Protein zuständig zu sein. Eine fehlerhafte Darstellung des Rezeptors an der Zelloberfläche oder beeinträchtigte Signalweiterleitung durch eine Mutation im Rezeptorgen könnten so zu einer verminderten Lipolyse und Thermogenese im visceralen Fettgewebe führen, was zusammen mit anderen Faktoren die Entstehung einer Adipositas begünstigen könnte. [40]

Aufgrund dieser Überlegungen sequenzierten mehrere Forschergruppen das Gen für den  $\beta_3$ -Adrenorezeptor und untersuchten eine Assoziation zwischen dem Vorhandensein einer Mutation und der Prävalenz von Übergewicht sowie deren Begleiterkrankungen wie zum Beispiel Diabetes mellitus Typ 2.

Walston et al. [40] untersuchten Pima Indianer, eine Volksgruppe mit einer sehr hohen Rate an Adipösen und Typ 2 Diabetikern, auf das Vorhandensein einer Mutation im  $\beta_3$ -Rezeptorgen. 31% der untersuchten Personen hatten eine Mutation auf mindestens einem Allel. Neun Prozent wiesen eine homozygote Mutation auf, 45% waren heterozygot und bei 46% konnte keine Mutation festgestellt werden. Die Prävalenz dieser Mutation ist nur bei kanadischen Ureinwohnern und Eskimos aus Alaska höher als bei Pima Indianern. Trotz der hohen Mutationsrate und der erhöhten Prävalenz für Typ 2 Diabetes konnte keine signifikante Assoziation zwischen dem Vorhandensein eines Diabetes und einer Mutation im ADRB3-Gen gefunden werden. Die Prävalenz von Typ 2 Diabetes bei Patienten mit der homozygoten Mutation war jedoch geringfügig höher als bei Personen ohne oder mit der heterozygoten Mutation. Obwohl das Vorhandensein der Mutation nicht direkt mit einem Typ 2 Diabetes assoziiert war, war das mittlere Alter bei Erstdiagnose eines Typ 2 Diabetes bei Personen mit der homozygoten Mutation niedriger als bei Pima Indianern mit heterozygoter oder ohne Mutation. Personen mit der Mutation erkrankten also im Mittel früher an einem Diabetes mellitus Typ 2 als Personen ohne Mutation. Waltson et al. konnten ebenfalls zeigen, dass Pima Indianer mit der homozygoten Mutation einen um 82 kcal/Tag und mit der heterozygoten Mutation einen um 36 kcal/Tag erniedrigten Grundumsatz im Vergleich mit Pima Indianern ohne Mutation hatten ohne dabei signifikant häufiger adipös zu sein. Die Studie zeigte, dass in dem untersuchten Kollektiv männliche Personen, die älter als 45 Jahre alt waren und gleichzeitig eine homozygote Mutation im ADRB3-Gen aufwiesen signifikant weniger vertreten waren als in anderen Altersgruppen. Das lässt die Vermutung zu, dass diese Personen eventuell durch Langzeitkomplikationen eines bei ihnen früher einsetzenden Diabetes mellitus Typ 2 vorzeitig verstorben sein könnten.

Widén et al. [41] untersuchten die Mutation im ADRB3-Gen bei Personen aus Finnland mit und ohne Diabetes mellitus Typ 2. Die Forschergruppe konnte zwischen den Studienteilnehmern mit und ohne Diabetes mellitus Typ 2 keinen Unterschied in der Frequenz der Trp64- und Arg64-Allele feststellen. Studienteilnehmer ohne Diabetes mellitus Typ 2 mit dem Arg64-Allel hatten ein höheres Taillen-Hüft-Verhältnis als Nichtdiabetiker ohne eine Mutation, obwohl ihre Werte für den BMI und das Körperfett ähnlich waren, ein Indiz dafür, dass eine Mutation den abdominalen Fettverteilungstyp begünstigt. Sie hatten ebenfalls einen höheren Blutglukosewert, einen höheren Insulinspiegel zwei Stunden nach oralem Glukosetoleranztest sowie einen höheren Blutdruck. Ebenso wie beim Studienkollektiv von Waltson et al. wurde auch bei den Finnen mit einer Mutation im ADRB3-Gen ein Diabetes

mellitus Typ 2 zu einem signifikant früheren Zeitpunkt diagnostiziert als bei Studienteilnehmern ohne Mutation.

Clément et al. [20] untersuchten die Mutation im  $\beta_3$ -Rezeptorgen in adipösen und normalgewichtigen Franzosen. Trotz des Unterschiedes im BMI zwischen den normalgewichtigen und adipösen Franzosen, war die Allelfrequenz der Mutation in beiden Gruppen ähnlich. Es zeigte sich also keine direkte Korrelation zwischen einer Mutation und der Entwicklung einer Adipositas. Der mittlere BMI, das mittlere Gewicht sowie die mittlere Gewichtszunahme in 25 Jahren der adipösen Patienten mit Mutation waren geringfügig höher als das der adipösen Studienteilnehmer ohne Mutation. Die Ähnlichkeit der Allelfrequenzen der Mutation in den zwei Gruppen (adipös vs. normalgewichtig) weist darauf hin, dass das Gen in der Adipositasentwicklung keine tragende Rolle hat. Es könnte aber in Kombination mit anderen Risikofaktoren zu dessen Entstehung beitragen.

Nach diesen drei initialen Arbeiten zur Bedeutung der Mutation im ADRB3-Gen versuchten andere Forschergruppen die Ergebnisse von Walston et al., Widén et al. und Clément et al. zu reproduzieren.

Tchernof et al. [42] konnten zeigen, dass übergewichtige postmenopausale Frauen mit einer Mutation im ADRB3-Gen während eines 13 Monate dauernden Abnahmeprogramms um 43% weniger viscerales Fettgewebe verloren als die Studienteilnehmer ohne eine Mutation, wobei Träger und Nichtträger der Mutation durch das Abnahmeprogramm jeweils etwa die gleiche Menge an Körpergewicht und Körperfett verloren. Eine Mutation des vor Allem im visceralen Fettgewebe vorkommenden  $\beta_3$ -Adrenorezeptors könnte also dazu führen, dass trotz niedrigkalorischer Ernährung weniger Fettgewebe abgebaut wird als bei Personen ohne Mutation. Miyaki et al. [23] konnten in einer Studie an jungen gesunden japanischen Männern zeigen, dass Personen mit einer Mutation im ADRB3-Gen, die pro Tag zu viele Kalorien zu sich nehmen, stärker an Gewicht zunehmen als sich überernährende Studienteilnehmer ohne die Mutation. Eine angemessene Ernährung in Kombination mit der Mutation schien dagegen das Risiko adipös zu werden stärker zu reduzieren als eine angemessene Ernährung bei Personen ohne Mutation.

Andere Forschergruppen konnten die Ergebnisse von Walston et al., Widén et al. und Clément et al. nicht reproduzieren. Gagnon et al. [43] konnten in zwei Studienkollektiven aus Schweden und aus dem Québec keine Assoziation zwischen dem BMI, dem Körperfettanteil, dem Grundumsatz, Risikofaktoren für Diabetes und kardiovaskuläre Erkrankungen, der

Gewichtszunahme nach 12 Jahren und einer Mutation im ADRB3-Gen feststellen. Nagase et al. [44] stellten in einer longitudinalen Studie an japanischen Männern keinen signifikant unterschiedlichen Gewichtsverlauf zwischen Studienteilnehmern mit und ohne Mutation fest. Sie nahmen deshalb an, dass andere genetische Faktoren, das Verhalten sowie Umweltfaktoren einen möglichen Effekt der Genmutation maskieren könnten.

## 5.2.2 Untersuchungsergebnisse

### 5.2.2.1 Polymorphismushäufigkeit

Das in dieser Studie untersuchte adipöse Patientenkollektiv unterschied sich mit einer Mutationsfrequenz des ADRB3-Gens von 9,4% nicht von der in der Literatur publizierten Mutationshäufigkeit von 8-10% bei weißen Amerikanern und Europäern. Die Prävalenz der Mutation ist dabei wie oben bereits beschrieben stark populationsabhängig mit einer maximalen Mutationshäufigkeit von 40% bei kanadischen Oji-Cree und Eskimos aus Alaska. [22], [23]

Das Fehlen einer erhöhten Mutationsfrequenz in dem untersuchten adipösen Patientenkollektiv spricht gegen die Hypothese, dass eine Mutation im INSIG2-Gen an der Entstehung der Adipositas beteiligt ist.

Diese Annahme deckt sich mit den Resultaten einer Studie von Clément et al. [20]. Die Forschergruppe verglich die Prävalenz der Mutation im  $\beta_3$ -Rezeptorgen in adipösen und normalgewichtigen Franzosen. Trotz eines Unterschiedes im BMI war die Allelfrequenz der Mutation in beiden Gruppen ähnlich. Es zeigte sich also, ähnlich wie in dem hier untersuchten Kollektiv, keine direkte Korrelation zwischen einer Mutation und der Entwicklung einer Adipositas.

### 5.2.2.2 Body Mass Index

Mitchell et al. [21] untersuchten den Effekt der Mutation im  $\beta_3$ -Rezeptorgen in einer Geschwisterpaar-Analyse. Das Vorhandensein der Mutation war assoziiert mit einem um 3 kg/m<sup>2</sup> erhöhten BMI, einer 6,6 kg höheren Körperfettmasse und einem 75 mm größeren Taillendurchmesser. Oizumi et al.[45] konnten in einem japanischen Studienkollektiv zeigen, dass die homozygote Arg/Arg-Mutation im Gegensatz zu der heterozygoten Trp/Arg-Mutation im  $\beta_3$ -Adrenorezeptorgen mit dem vermehrten Vorkommen von Adipositas und einem Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert ist. Studienteilnehmer mit der homozygoten

Mutation hatten einen höheren BMI sowie einen höheren Körperfett-Anteil als solche mit der heterozygoten oder ohne die Mutation.

Die drei initialen Arbeiten über die Assoziation einer Mutation im ADRB3-Gen und der Entwicklung von Adipositas an Pima Indianern (Walston et al. [40]), Finnen (Widén et al. [41]) und Franzosen (Clément et al. [20]) konnten wie auch das hier untersuchte adipöse Studienkollektiv keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Body Mass Index bei Patienten mit bzw. ohne Mutation zeigen.

Aufgrund der bei Europäern niedrigen Mutationsfrequenz des ADRB3-Gens konnten in dem hier untersuchten adipösen Studienkollektiv nur wenige homozygote Mutationen nachgewiesen und verglichen werden, so dass die homo- und heterozygoten Mutationen in einer Gruppe zusammengefasst wurden. Die Tatsache, dass die Mutationsfrequenz in normalgewichtigen und adipösen Kollektiven nahezu identisch ist, spricht gegen eine starke alleinige Beteiligung der ADRB3-Mutation an der Entstehung der morbid Adipositas.

In Kombination mit anderen die Adipositasentstehung begünstigenden Mutationen könnte ein verändertes ADRB3-Gen jedoch zu einem erhöhten BMI führen. Hsueh et al. [46] sequenzierten in einem mexikanischen Studienkollektiv zwei verschiedene single nucleotide polymorphism (SNP) im  $\beta_3$ -Adrenorezeptorgen und im Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ 2 Gen (PPAR $\gamma$ 2) um eine Assoziation mit Adipositas zu untersuchen. Sie konnten keine Assoziation des ADRB3-Gens mit Adipositas nachweisen, eine Mutation im PPAR $\gamma$ 2-Gen war jedoch mit einer Adipositas vergesellschaftet. Anhand einer Untersuchung der Studienteilnehmer, die sowohl im ADRB3-Gen als auch im PPAR $\gamma$ 2-Gen eine Mutation aufwies konnte gezeigt werden, dass diese Personen einen signifikant höheren BMI aufwiesen als Studienteilnehmer ohne Mutation aber auch als Studienteilnehmer mit nur einer isolierten Mutation im PPAR $\gamma$ 2-Gen. Die Forschergruppe schlussfolgerte also, dass Gen-Gen-Interaktionen und Mutationen in mehreren Kandidatengenen einen additiven Effekt haben und damit eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Adipositas spielen könnten. Zum gleichen Ergebnis kamen Evans et al. [47] bei einer Studie an Adipösen vor bariatrischer Chirurgie, endokrinologischen Patienten und Blutspendern aus Deutschland.

### 5.2.2.3 Fettstoffwechsel

Clement et al. [48] sowie Hao et al. [22] stellten einen geschlechtsspezifischen Unterschied bei einer ADRB3-Mutation fest. Die Forschergruppe um Clement konnte zeigen, dass der

BMI, die Gewichtszunahme nach dem 20. Lebensjahr und das maximal erreichte Gewicht bei französischen Frauen mit einer Mutation im ADRB3-Gen signifikant höher waren als bei Studienteilnehmern ohne diese Mutation. Dieser Trend konnte bei männlichen Studienteilnehmern nicht gezeigt werden. Hao et al. beschrieben einen gegenteiligen Effekt. Bei der Untersuchung eines chinesischen Studienkollektivs mit arteriellem Hypertonus zeigten Männer mit einer homozygoten Mutation im ADRB3-Gen einen um durchschnittlich 3,7 kg/m<sup>2</sup> höheren BMI und ein um durchschnittlich 11,8 kg höheres Gewicht als Studienteilnehmer ohne die Mutation. Ein solcher Effekt konnte bei den weiblichen Patienten nicht festgestellt werden.

Auch in der hier untersuchten Gruppe von adipösen Patienten konnte ein geschlechtsspezifischer Unterschied festgestellt werden, dieser zeigte sich im Gegensatz zu Clement et al. und Hao et al. jedoch nicht durch einen erhöhten BMI sondern in Form von Veränderungen des Fettstoffwechsels. Im Gesamtkollektiv ließen sich signifikant niedrigere Gesamtcholesterin- ( $p=0,011$ ) und LDL-Cholesterin ( $p=0,040$ )-Werte nachweisen. Nach Unterteilung in geschlechtsspezifische Untergruppen war dieser signifikante Unterschied nur noch bei den Frauen ( $p(\text{Gesamtcholesterin}) < 0,001$ ;  $p(\text{LDL-Cholesterin}) < 0,001$ ) nachzuweisen, bei den Männern zeigte sich sogar eine nicht signifikante Tendenz ( $p > 0,05$ ) zu erhöhten Gesamtcholesterin- und LDL-Cholesterinwerten, allerdings konnten aufgrund der zahlenmäßig niedrigeren männlichen Beteiligung an der Studie und der niedrigen Mutationsfrequenz leider nur wenige männliche Teilnehmer in die Auswertung eingeschlossen werden.

Andere Forschergruppen konnten keinen Effekt auf Parameter des Fettstoffwechsels feststellen: Matsushita et al.[49] untersuchten eine japanische Studienpopulation über einen Zeitraum von 10 Jahren. Sie konnten keine Assoziation zwischen einer vorhandenen Mutation im ADRB3-Gen und einer verstärkten Gewichtszunahme, einem erhöhten BMI, erhöhtem Blutdruck, Diabetes mellitus Typ 2 oder erhöhten Cholesterinwerten erkennen, woraufhin die Forschergruppe schloss, dass die Trp64Arg-Mutation keinen oder wenn nur einen kleinen Einfluss auf das Körpergewicht und den BMI in der japanischen Bevölkerung habe. Sun et al.[50] konnten genauso wie Nagase et al. in einer Gruppe Japaner keine Assoziation zwischen einer Mutation im ADRB3-Gen und Adipositas finden. Auch bei japanischen Patienten mit einer Schizophrenie als Grundkrankheit ließ sich keine Assoziation zwischen einer Mutation im ADRB3-Gen und Adipositas, Diabetes mellitus Typ 2, Dyslipoproteinämien sowie arteriellem Hypertonus feststellen.[51]

Vor Beginn der Studie war aufgrund der funktionellen Einbindung des ADRB3-Genproduktes in die Regulation des Fettstoffwechsels am ehesten mit einer Erhöhung der Laborparameter gerechnet worden. Der Ätiologie dieser Werte könnte in einer nachfolgenden Studie auf den Grund gegangen werden.

#### 5.2.2.4 Kohlenhydratstoffwechsel

Wie oben bereits beschrieben scheint eine Mutation im ADRB3-Gen mit einer erhöhten Erkrankungsrate und einem früheren Erkrankungsbeginn an Diabetes mellitus Typ 2 vergesellschaftet zu sein. (Walston et al. [40], Widén et al. [41], Clément et al. [20])

Jedoch konnte diese Assoziation nicht in allen Studienkollektiven repliziert werden: Hegele et al. [52] untersuchten den Effekt der Mutation im ADRB3-Gen bei Oji-Cree, Ureinwohnern Kanadas, die die bisher höchste nachgewiesene Mutationsrate im  $\beta_3$ -Adrenorezeptorgen (40%) aufweisen. Die Forschergruppe konnte keine signifikante Assoziation zwischen dem Vorhandensein einer Mutation und einem Diabetes mellitus Typ 2 sowie einer Adipositas feststellen, woraus sie schloss, dass eine Mutation im ADRB3-Gen keine tragende Rolle bei der Entstehung von Adipositas oder Diabetes mellitus Typ 2 bei diesen Ureinwohnern Kanadas haben könne. Buettner et al.[53] untersuchten die Prävalenz der Arg64-Mutation in einem deutschen Studienkollektiv und scheiterten bei der Suche nach einer möglichen Assoziation mit einer metabolischen Funktionsstörung wie zum Beispiel Adipositas, Diabetes mellitus Typ 2, Dyslipoproteinämien oder arteriellem Hypertonus, weshalb auch diese Forschergruppe der Meinung ist, dass eine Mutation im ADRB3-Gen keine tragende Rolle bei der Entstehung einer Adipositas und eines metabolischen Syndroms haben könne.

Auch in dem hier untersuchten adipösen Studienkollektiv konnte keine Assoziation zwischen laborchemisch veränderten Parametern des Kohlenhydratstoffwechsels (Glukose-Wert, HbA1c-Wert) und einer Mutation im ADRB3-Gen festgestellt werden. Es zeigte sich jedoch eine nicht signifikante Tendenz zu erhöhten Glukosewerten im Gesamt- sowie im weiblichen Kollektiv. Bei den untersuchten männlichen Patienten war eine solche Tendenz nicht zu beobachten.

## **5.3 Gen-Gen Interaktion Insulin Induced Gene 2 und $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Gen**

### **5.3.1 Untersuchungsergebnisse**

#### **5.3.1.1 Polymorphismushäufigkeit**

Da aufgrund des kleinen Studienkollektivs in Kombination mit einer niedrigen Mutationshäufigkeit im ADRB3-Gen bei weißen Amerikanern und Europäern nur eine geringe Anzahl an homozygoten Mutationen in dem hier untersuchten adipösen Studienkollektiv detektiert werden konnte, wurden für die statistische Analyse alle Patienten mit einer hetero- und homozygoten Mutation in einer gemeinsamen Gruppe zusammengefasst.

Von den 556 in dieser Studie untersuchten adipösen Personen konnte bei 509 Personen sowohl das INSIG2- als auch das ADRB3-Gen erfolgreich auf die jeweilige Mutation untersucht werden. Bei 187 Studienteilnehmern (36,7%) konnte weder im INSIG2- noch im ADRB3-Gen eine Mutation gefunden werden. Bei 230 Personen (45,2%) war eine Kombination aus Mutation im INSIG2-Gen und Wildtyp-Allelen im ADRB3-Gen zu finden. 40 Personen (7,9%) wiesen eine Kombination aus Wildtyp-Allelen im INSIG2-Gen und einer Mutation im ADRB3-Gen auf und bei 52 Patienten (10,2%) konnte in beiden Genen die untersuchte Mutation gefunden werden.

Wie oben bereits berichtet wichen die einzelnen Allelfrequenzen in den beiden untersuchten Genen des adipösen Studienkollektivs nicht von den jeweiligen Häufigkeiten in normalgewichtigen Studienkollektiven ab. [22], [23], [17]

In der Literatur ließen sich keine Studien zu der hier untersuchten Gen-Kombination finden, so dass ein Vergleich der kombinierten Polymorphismushäufigkeiten hier leider nicht möglich ist.

#### **5.3.1.2 Body Mass Index**

Verschiedene Forschergruppen konnten zeigen, dass Gen-Gen-Interaktionen von Kandidatengen eine Adipositasentwicklung unterstützen. Hsueh et al. [46] untersuchten den Effekt einer kombinierten Mutation im ADRB3- und PPAR $\gamma$ 2-Gen auf den Body Mass Index. Dabei konnten sie zeigen, dass eine alleinige Mutation im ADRB3-Gen zu keinem signifikanten Anstieg des BMI führt, eine kombinierte Mutation in beiden Genen war jedoch

mit einem signifikant höheren BMI vergesellschaftet. Chu et al. [38] beobachteten die Auswirkungen einer kombinierten Mutation im INSIG2- und FTO-Gen auf den Body Mass Index. Dabei fiel auf, dass der BMI bei kombinierter Mutation signifikant höher war als bei den Patienten ohne Mutation.

In dem hier untersuchten Studienkollektiv lässt sich solch eine additive Wirkung einer Gen-Gen-Interaktion nicht nachweisen. Weder die einzelne Mutation in einem der beiden untersuchten Gene noch die kombinierte Mutation in beiden Genen führten zu einem signifikant veränderten Body Mass Index in der untersuchten adipösen Gruppe. Dieses könnte dafür sprechen, dass sowohl der einzelne als auch der kombinierte Effekt der Mutationen zu gering ist um ihn in diesem kleinen Studienkollektiv zu erkennen. In dem hier untersuchten Kollektiv könnte es aufgrund des ohnehin schon erhöhten Körpergewichts schwieriger als bei einem normalgewichtigen Kollektiv sein, einen sehr kleinen Effekt zu detektieren.

### 5.3.1.3 Fettstoffwechsel

Bei der Analyse einer kombinierten Mutation im INSIG2- und ADRB3-Gen zeigten sich, wie auch bei der Analyse einer alleinigen Mutation im ADRB3-Gen, geschlechtsspezifische Unterschiede. Die Betrachtung des Gesamtkollektivs zeigte bei den Patienten mit einer Mutation im ADRB3-Gen in Kombination mit den Wildtyp-Allelen im INSIG2-Gen einen signifikant niedrigeren Gesamt- ( $p=0,010$ ) und LDL-Cholesterinwert ( $p=0,025$ ). Bei einer kombinierten Mutation in beiden untersuchten Genen ließ sich eine solche Beziehung im Gesamtkollektiv nicht feststellen ( $p>0,05$ ).

Aufgeteilt nach Geschlecht fand sich bei der Untersuchung aller weiblicher Studienteilnehmer sowohl bei der Kombination Mutation im ADRB3-Gen und Wildtyp-Allele im INSIG2-Gen sowie bei einer kombinierten Mutation in beiden untersuchten Genen ein signifikant niedrigerer Gesamt- und LDL-Cholesterinwert. Die Werte waren bei einer kombinierten Mutation in beiden untersuchten Genen dabei weniger stark erniedrigt als bei der Kombination aus Mutation im ADRB3-Gen und Wildtyp im INSIG2-Gen verglichen mit den Wildtyp-Allelen in beiden untersuchten Genen.

Bei der Untersuchung des männlichen Kollektivs ließ sich eine solche Beziehung nicht feststellen. Während bei der Kombination aus Mutation im ADRB3-Gen und Wildtyp-Allelen im INSIG2-Gen nicht signifikant erniedrigte Werte für Gesamt- und LDL-Cholesterin zu finden waren, zeigte sich im Gegensatz zum weiblichen Kollektiv bei einer kombinierten

Mutation der untersuchten Gene sogar eine nicht signifikante Tendenz zu erhöhten Gesamtcholesterin- ( $p=0,244$ ) und LDL-Cholesterinwerten ( $p=0,084$ ).

Bei der Kombination aus Mutation im INSIG2-Gen und Wildtyp-Allelen im ADRB3-Gen ließen sich keine signifikanten Veränderungen der untersuchten Parameter des Fettstoffwechsels feststellen.

Wie bereits oben beschrieben scheint die untersuchte Mutation im ADRB3-Gen mit einer geschlechtsspezifischen (weiblich > männlich) Absenkung bestimmter Parameter des Fettstoffwechsels vergesellschaftet zu sein. Dieser Effekt wird durch eine gleichzeitige Mutation im INSIG2-Gen abgeschwächt, so dass im Gesamtkollektiv keine signifikante Veränderung von Gesamt- und LDL-Cholesterinwerten mehr festzustellen war, sich der Effekt im weiblichen Kollektiv vermindert darstellte und im männlichen Kollektiv sogar eine Tendenz zu erhöhten Werten zu beobachten war. Leider konnte aufgrund von geringer Mutationsfrequenz im ADRB3-Gen bei Europäern und einem geringen Anteil männlicher Studienteilnehmer nur ein kleines Kollektiv mit einer alleinigen oder kombinierten Mutation im ADRB3- bzw. INSIG2-Gen untersucht werden.

Eine Mutation im INSIG2-Gen könnte also in Kombination mit anderen relevanten Mutationen zu einer Erhöhung der Gesamt- und LDL-Cholesterinwerte führen.

Solch eine Vermutung äußerten auch schon Hall et al.[12] in Bezug auf den Body Mass Index. Sie konnten bei einer Untersuchung an in England lebenden 1428 Mitgliedern aus 248 Familien ebenfalls keine Assoziation zwischen einer Mutation im INSIG2-Gen und einer Veränderung des BMI feststellen. Hall et al. stellten die Vermutung auf, dass ein Effekt des SNP 10 kB oberhalb des INSIG2-Gens nur bei Menschen zu finden ist, die aufgrund anderer genetischer Veränderungen oder Umweltfaktoren für die Entwicklung einer Adipositas prädisponiert sind.

Der Effekt einer alleinigen Mutation im INSIG2-Gen scheint in einem schon adipösen Kollektiv zu gering zu sein, um signifikant nachweisbar zu werden. Durch Gen-Gen-Interaktionen scheint sich dieser Effekt allerdings zu demaskieren.

#### **5.3.1.4 Kohlenhydratstoffwechsel**

Die Untersuchung der alleinigen Mutation im INSIG2-Gen erbrachte weder bei hetero- noch homozygoter Mutation signifikant veränderte Glukose- oder HbA1c-Werte. Auch eine

Mutation im ADRB3-Gen war in dem hier untersuchten adipösen Studienkollektiv nicht mit einer signifikanten Veränderung des Glukose- oder HbA1c-Wertes vergesellschaftet.

Bei Untersuchung einer kombinierten Mutation im INSIG2- und ARB3-Gen konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede des Glukose- oder HbA1c-Wertes festgestellt werden.

Da sowohl die einzelnen Mutationen als auch die Kombination der Mutationen die hier untersuchten Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels (Glukose-Wert, HbA1c-Wert) nicht signifikant beeinflussen, kann davon ausgegangen werden, dass in einem adipösen Kollektiv die hier untersuchten Mutationen keine wesentliche Rolle in der Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2 spielen.

## 6 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Zahlreiche Veröffentlichungen berichten über einen Zusammenhang zwischen genetischen Polymorphismen und der Entwicklung bzw. der Ausprägung von Adipositas, Dyslipoproteinämien und Diabetes mellitus Typ 2.

Ziel dieser Doktorarbeit war die Untersuchung der Auswirkung genetischer Veränderungen in zwei Kandidatengen (INSIG2, ADRB3) auf den Body Mass Index sowie Parameter des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels in einem adipösen Patientenkollektiv.

Insgesamt wurden 556 Probanden (402 Frauen und 154 Männer) in die Studie eingeschlossen, die im Mittel 42,3 Jahre alt waren, im Durchschnitt einen BMI von 43,4 kg/m<sup>2</sup>, einen Gesamtcholesterinwert von 201,5 mg/dl, einen LDL-Cholesterinwert von 112,1 mg/dl, einen HDL-Cholesterinwert von 50,8 mg/dl, einen Triglyceridwert von 197,1 mg/dl, einen Lipoprotein (a)-Wert von 24,6 mg/dl, einen Glukosewert von 105,7 mg/dl und einen HbA1c-Wert von 5,9 % aufwiesen.

Mittels Polymerasekettenreaktion, Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus und Gelelektrophorese wurden die Polymorphismen im INSIG2- und ADRB3-Gen untersucht.

Der untersuchte Polymorphismus im INSIG2-Gen war nicht signifikant mit einer Veränderung des BMI oder Parametern des Fett- oder Kohlenhydratstoffwechsels assoziiert. Studienteilnehmer mit einer Mutation im ADRB3-Gen wiesen einen signifikant niedrigeren Gesamt- und LDL-Cholesterinwert auf als Studienteilnehmer ohne eine solche Mutation, wobei dieser Effekt geschlechtsspezifisch nur bei den weiblichen Patienten nachweisbar war. Die kombinierte Untersuchung beider Polymorphismen zeigte bei Patienten mit einer Mutation im ADRB3-Gen und den Wildtyp-Allelen im INSIG2-Gen signifikant erniedrigte Gesamt- und LDL-Cholesterinwerte. Nach Geschlecht aufgeteilt ließ sich dieser signifikante Unterschied ebenfalls nur im weiblichen Kollektiv nachweisen. Er zeigte sich, wenn auch geringer ausgeprägt, ebenfalls bei kombinierter Mutation in beiden Genen. Im männlichen Kollektiv fiel eine nicht signifikante Tendenz zu erhöhten Gesamt- und LDL-Cholesterinwerten bei kombinierter Mutation in beiden Genen auf. Signifikante Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels waren nicht festzustellen.

---

## Literaturverzeichnis

- [1]. **Bendecke A, Vogel H.** *Heft 16 - Übergewicht und Adipositas aus der Reihe "Gesundheitsberichterstattung des Bundes"*. s.l. : Robert-Koch-Institut, 2003.
- [2]. **Weiner, RA.** *Adipositaschirurgie – Indikation und Therapieverfahren*. Bremen-London-Boston : UNI-MED Verlag AG, 2006.
- [3]. **WHO.** *obesity report; Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation obesity*. Genf : WHO, 1998.
- [4]. **Hamann, A.** Klinische Aspekte der Adipositas. *Handbuch Essstörungen und Adipositas Kapitel 44 S.271-279*. Berlin Heidelberg : Springer, 2008.
- [5]. **Aberle J, Greten H.** Zur Epidemiologie, Ätiologie und Therapie der Adipositas. *Hamburger Ärzteblatt*. 6/2004: 274-277, 2004.
- [6]. **Mensink GBM, Lampert T, Bergmann E, Robert-Koch-Institut.** Übergewicht und Adipositas in Deutschland 1984-2003. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2005* . 48:1348-1356 Springer Medizin Verlag 2005, 2005.
- [7]. **Wiesner, S.** Epidemiologie der Adipositas. *Handbuch Essstörungen und Adipositas Kapitel 41 S.255-258*. Berlin Heidelberg : Springer, 2008.
- [8]. **Wirth, A.** Ätiologie und Diagnostik der Adipositas. *Handbuch Essstörungen und Adipositas Kapitel 40 S.246-254*. Heidelberg : Springer, 2008.
- [9]. **Frieling H, Hinney A, Bleich S.** Genetische Aspekte der Adipositas. *Handbuch Essstörungen und Adipositas Kapitel 43 S.265-270*. Berlin Heidelberg : Springer , 2008.
- [10]. **Herold, G.** *Innere Medizin Kap.II S.268; Kap.IX S.642*. 2007.
- [11]. **Krapivner S, Popov S, Chernogubova E, Hellénus MS, Fisher RM, Hamsten A, van't Hooft FM.** Insulin-Induced Gene 2 Involvement in Human Adipocyte Metabolism and Body Weight Regulation. *J Clin Endocrinol Metab*. 93: 1995–2001, 2008.
- [12]. **Hall DH, Rahman T, AveryPJ, Keavney B.** INSIG-2 promoter polymorphism and obesity related phenotypes: association study in 1428 members of 248 families. *BMC Medical Genetics* . 7:83, 2006.

- [13]. **Orkunoglu-Suer FE, Gordish-Dressman H, Clarkson PM, Thompson PD, Angelopoulos TJ, Gordon PM, Moyna NM, Pescatello LS, Visich PS, Zoeller RF, Harmon B, Seip RL, Hoffman EP, Devaney JM.** INSIG2 gene polymorphism is associated with increased subcutaneous fat in women and poor response to resistance training in men. *BMC Medical Genetics*. 9:117, 2008.
- [14]. **Löffler, G.** *Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie Kap. 6; S.211-212; 5. Auflage.* Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 2003.
- [15]. **Yabe D, Brown MS, Goldstein JL.** Insig-2, a second endoplasmic reticulum protein that binds SCAP and blocks export of sterol regulatory element-binding proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Oct 1;99(20):12753-8. Epub 2002 Sep 19, 2002 .
- [16]. **Takaishi K, Duplomb L, Wang MY, Li J, Unger RH.** Hepatic insig-1 or -2 overexpression reduces lipogenesis in obese Zucker diabetic fatty rats and in fasted/refed normal rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. May 4; 101(18): 7106–7111, 2004.
- [17]. **Roskopf D, Bornhorst A, Rimbach C, Schwahn C, Kayser A, Krüger A, Tessmann G, Geissler I, Kroemer HK, Völzke H.** Comment on "A Common Genetic Variant Is Associated with Adult and Childhood Obesity" . *Science* 315. 187d, 2007.
- [18]. **Skeberdis, VA.** Structure and function of  $\beta$ 3-adrenergic receptors. *Medicina (Kaunas)*. 40(5), 2004.
- [19]. **Klinke R, Silbernagel S.** *Lehrbuch der Physiologie 4., korrigierte Auflage Kap.2 S.32-33; Kap.14 S.368-370.* Stuttgart New York : Georg Thieme Verlag , 2003.
- [20]. **Clément K, Vaisse C, Manning BSJ, Basdevant A, Guy-Grand B, Ruiz J, Silver KD, Shuldiner AR, Froguel P, Strosberg AD.** Genetic Variation in the  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor and an Increased Capacity to Gain Weight in Patients with Morbid Obesity. *N Engl J Med* . 333:352-4 , 1995.
- [21]. **Mitchell BD, Blangero J, Comuzzie AG, Almasy LA, Shuldiner AR, Silver K, Stern MP, MacCluer JW, Hixson JE.** A paired sibling analysis of the beta-3 adrenergic receptor and obesity in Mexican Americans. *J. Clin. Invest.* 101:584–587, 1998.
- [22]. **Hao K, Peng S, Xing H, Yu Y, Huang A, Hong X, Wang Y, Chen C, Wang B, Zhang X, Liu J, Zhu G, Huo Y, Chen D, Zhao X, Ronnenberg A, Wu D, Niu T, Xu X.**  $\beta$ 3

---

Adrenergic Receptor Polymorphism and Obesity-Related Phenotypes in Hypertensive Patients. *Obesity Research* . Vol. 12 No. 1 January 2004, 2004.

[23]. **Miyaki K, Sutani S, Kikuchi H, Takei I, Murata M, Watanabe K, Omae K.** Increased Risk of Obesity Resulting from the Interaction between High Energy Intake and the Trp64Arg Polymorphism of the  $\beta$ 3-adrenergic Receptor Gene in Healthy Japanese Men. *J Epidemiol.* 15: 203-210, 2005.

[24]. **Dörner, K.** *Taschenlehrbuch Klinische Chemie und Hämatologie 6. Auflage; Kap.4 u. 5.* Stuttgart New York : Georg Thieme Verlag, 2006.

[25]. **Löffler, G.** *Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie Kap. 12, S.370-372, S.350-354.* Berlin Heidelberg : Springer, 2003.

[26]. **Löffler G, Petrides PE.** *Biochemie & Pathobiochemie Kap. 7, S. 235-326 und Kap. 11 , S. 359-360.* Berlin Heidelberg : Springer, 2003.

[27]. **Weiß, Christel und Bauer, Axel W.** Promotion; Die medizinische Doktorarbeit - von der Themasuche bis zur Dissertation Kapitel 5, Seite 83 - 102. Stuttgart New York : Georg Thieme Verlag, 3. Auflage 2008.

[28]. **Dietz, Claudius.** Die medizinische Doktorarbeit Kapitel 7, Seite 90 - 108. Berlin : Lehmanns Media, 5. Auflage 2008.

[29]. Wikipedia: Die freie Enzyklopädie. [Online] [Zitat vom: 25. Oktober 2009.] <http://de.wikipedia.org/wiki/Mittelwert>.

[30]. Wikipedia: Die freie Enzyklopädie. [Online] [Zitat vom: 25. Oktober 2009.] <http://de.wikipedia.org/wiki/Standardabweichung>.

[31]. **Herbert A, Gerry NP, McQueen MB, Heid IM, Pfeufer A, Illig T, Wichmann HE, Meitinger T, Hunter D, Hu FB, Colditz G, Hinney A, Hebebrand J, Koberwitz K, Zhu X, Cooper R, Ardlie K, Lyon H, Hirschhorn JN, Laird NM, Lenburg ME, Lange C, Christman MF.** A Common Genetic Variant Is Associated with Adult and Childhood Obesity. *Science* . VOL 312 14 APRIL 2006 279-283, 2006.

[32]. **Lyon HN, Emilsson V, Hinney A, Heid IM, Lasky-Su J, Zhu X, Thorleifsson G, Gunnarsdottir S, Walters GB, Thorsteinsdottir U, Kong A, Gulcher J, Nguyen TT, Scherag A, Pfeufer A, Meitinger T, Brönner G, Rief W, Soto-Quiros ME, Avila L,**

- Klanderma B, Raby BA,, et al.** The Association of a SNP Upstream of INSIG2 with Body Mass Index is Reproduced in Several but Not All Cohorts. *PLoS Genet.* 3(4): e61. doi:10.1371, 2007.
- [33]. **Yang L, Wu Y, Li H, Yu Z, Li X, Liu Y, Lin X, Chen Y.** Potential association of INSIG2 rs7566605 polymorphism with body weight in a Chinese subpopulation. *European Journal of Human Genetics.* 16, 759–761, 2008.
- [34]. **Hotta K, Nakamura M, Nakata Y, Matsuo T, Kamohara S, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Masuzaki H, Yoneda M, Nakajima A, Miyazaki S, Tokunaga K, Kawamoto M, Funahashi T, Hamaguchi K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Nakao K,, Sakata T, Matsuzawa Y, Tanaka K und Kamatani N, Nakamura Y.** INSIG2 gene rs7566605 polymorphism is associated with severe obesity in Japanese. *Journal of Human Genetics.* 53, 857–862, 2008.
- [35]. **Loos RJJ, Barroso I, O’Rahilly S, Wareham NJ.** Comment on “A Common Genetic Variant Is Associated with Adult and Childhood Obesity”. *Science* . VOL 315 12 January 2007 , 2007.
- [36]. **Andreasen CH, Mogensen MS, Borch-Johnsen K, Sandbaek A, Lauritzen T, Sørensen TI, Hansen L, Almind K, Jørgensen T, Pedersen O, Hansen T.** Non-replication of genome-wide based associations between common variants in INSIG2 and PFKP and obesity in studies of 18,014 Danes. *PLoS One.* Aug 6;3(8):e2872, 2008.
- [37]. **Reinehr T, Hinney A, Nguyen TT, Hebebrand J.** Evidence of an Influence of a Polymorphism Near the INSIG2 on Weight Loss During a Lifestyle Intervention in Obese Children and Adolescents. *Diabetes.* 57:623–626 , 2008.
- [38]. **Chu X, Erdman R, Susek M, Gerst H, Derr K, Al-Agha M, Wood GC, Hartman C, Yeager S, Blosky MA, Krum W, Stewart WF, Carey D, Benotti P, Still CD, Gerhard GS.** Association of Morbid Obesity With FTO and INSIG2 Allelic Variants. *Arch Surg.* 143(3):, 2008.
- [39]. **Pollex RL, Ban MR, Young TK, Bjerregaard P, Anand SA, Yusuf S, Zinman B, Harris SB, Hanley AJG, Connelly PW, Huff MW, Hegele RA.** Association between the -455T>C promoter polymorphism of the APOC3 gene and the metabolic syndrome in a multi-ethnic sample. *BMC Med Genet.* 8: 80 , 2007.

- [40]. **Walston J, Silver K, Bogardus C, Knowler WC, Celi FC, Austin S, Manning B, Strosberg AD, Stern MP, Raben N, Sorkin JD, Roth J, Shuldiner AR.** Time of Onset of Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus and Genetic Variation in the  $\beta$ 3-Adrenergic-Receptor Gene. *N Engl J Med* . Vol. 333:343-347 No.6, 1995.
- [41]. **Widén E, Lehto M, Kanninen T, Walston J, Shuldiner AR, Groop LC.** Association of a polymorphism in the beta 3-adrenergic-receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med*. Aug 10;333(6):348-51, 1995 .
- [42]. **Tchernof A, Starling RD, Turner A, Shuldiner AR, Walston JD, Silver K, Poehlman ET.** Impaired Capacity to Lose Visceral Adipose Tissue During Weight Reduction in Obese Postmenopausal Women With the Trp64Arg  $\beta$ 3-Adrenoceptor Gene Variant. *Diabetes*. 49:1709– 1713 , 2000.
- [43]. **Gagnon J, Mauriège P, Roy S, Sjöström D, Chagnon YC, Dionne FT, Oppert JM, Pérusse L, Sjöström L, Bouchard C.** The Trp64Arg mutation of the beta3 adrenergic receptor gene has no effect on obesity phenotypes in the Québec Family Study and Swedish Obese Subjects cohorts. *J Clin Invest*. Nov 1; 98(9):2086-93, 1996.
- [44]. **Nagase T, Aoki A, Yamamoto M, Yasuda H, Kado S, Nishikawa M, Kugai N, Akatsu T, Nagata N.** Lack of association between the Trp64 Arg mutation in the beta 3-adrenergic receptor gene and obesity in Japanese men: a longitudinal analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. Apr; 82(4):1284-7, 1997.
- [45]. **Oizumi T, Daimon M, Saitoh T, Kameda W, Yamaguchi H, Ohnuma H, Igarashi M, Eguchi H, Manaka H, Tominaga M, Kato T.** Genotype Arg/Arg, but not Trp/Arg, of the Trp64Arg Polymorphism of the  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor Is Associated With Type 2 Diabetes and Obesity in a Large Japanese Sample. *Diabetes Care*. 24:1579–1583, 2001.
- [46]. **Hsueh WC, Cole SA, Shuldiner AR, Beamer BA, Blangero J, Hixson JE, MacCluer JW, Mitchell BD.** Interactions between variants in the beta3-adrenergic receptor and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 genes and obesity. *Diabetes Care*. Apr;24(4):672-7 , 2001.
- [47]. **Evans D, Wolf AM, Nellessen U, Ahle S, Kortner B, Kuhlmann HW, Beisiegel U.** Association between polymorphisms in candidate genes and morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. May;25 Suppl 1:S19-21, 2001 .

- [48]. **Clement K, Manning BSJ, Basdevant A, Strosberg AD, Guy-Grand B, Froguel PH.** Gender effect of the Trp64Arg mutation in the  $\beta$ 3 adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. *Diabetes & Metabolism*. 23, 424-427, 1997.
- [49]. **Matsushita Y, Yokoyama T, Yoshiike N, Matsumura Y, Date C, Kawahara K, Tanaka H.** The Trp(64)Arg polymorphism of the beta(3)-adrenergic receptor gene is not associated with body weight or body mass index in Japanese: a longitudinal analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. Dec;88(12):5914-20, 2003.
- [50]. **Sun L, Ishibashi S, Osuga J, Harada K, Ohashi K, Gotoda T, Fukuo Y, Yazaki Y, Yamada N.** Clinical features associated with the homozygous Trp64Arg mutation of the beta3-adrenergic receptor: no evidence for its association with obesity in Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Jun;18(6):941-6, 1998.
- [51]. **Nagano T, Matsuda Y, Tanioka T, Yoshioka T, Hiroi T, Yoshikawa K, Okabe K, Osaka K, Nagamine I, Takasaka Y.** No association of the Trp 64 Arg mutation of the beta3-adrenergic receptor gene with obesity, type 2 diabetes mellitus, hyperlipidemia, and hypertension in Japanese patients with schizophrenia. *J Med Invest*. Feb;52(1-2):57-64, 2004.
- [52]. **Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, Azouz H, Connelly PW, Zinman B.** Absence of association between genetic variation of the beta 3-adrenergic receptor and metabolic phenotypes in Oji-Cree. *Diabetes Care*. May;21(5):851-4, 1998.
- [53]. **Büettner R, Schäffler A, Arndt H, Rogler G, Nusser J, Zietz B, Enger I, Hügl S, Cuk A, Schölmerich J, Palitzsch KD.** The Trp64Arg polymorphism of the beta 3-adrenergic receptor gene is not associated with obesity or type 2 diabetes mellitus in a large population-based Caucasian cohort. *J Clin Endocrinol Metab*. Aug;83(8):2892-7, 1998.
- [54]. **Piérولا J, Barceló A, de la Peña M, Barbé F, Soriano JB, Sánchez Armengol A, Martínez C, Agustí A.** beta3-Adrenergic receptor Trp64Arg polymorphism and increased body mass index in sleep apnoea. *Eur Respir J*. Oct;30(4):743-7, 2007.

**Abkürzungsverzeichnis**

ADP	Adenosindiphosphat
ADRB1	$\beta_1$ -Adrenorezeptor
ADRB2	$\beta_2$ -Adrenorezeptor
ADRB3	$\beta_3$ -Adrenorezeptor
ApoA	Apolipoprotein A
ApoB	Apolipoprotein B
ApoE	Apolipoprotein E
Arg	Arginin
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
bp	Basenpaare
C	Cytosin
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CK	Kreatinkinase
cm	Zentimeter
CRP	C-reaktives Protein
dl	Deziliter
DNA	Deoxyribonucleinsäure
dNTP	Desoxy Nucleosidtriphosphat
EDTA	Ethylenediamine - tetraacetic acid
FHS	Framingham Heart Study
FTO	fat mass and obesity associated gene
GDP	Guanosindiphosphat

---

γGT	gamma-Glutamyl-Transferase
GOD	Glukoseoxidase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GSTel03	telefonischer Gesundheitssurvey von 2003
GTP	Guanosintriphosphat
HbA1c	HämoglobinA1c
HDL	High Density Lipoprotein
het	heterozygot
HMG-CoA-Reduktase	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoenzymA-Reduktase
homo	homozygot
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
IDF	International Diabetes Federation
INSIG1	Insulin Induced Gene 1
INSIG2	Insulin Induced Gene 2
kB	Kilobasen
kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
KHK	koronare Herzkrankheit
l	Liter
LDL	Low Density Lipoprotein
Lpa	Lipoprotein (a)
m	Meter
μl	Mikroliter
mg	Milligramm

---

min	Minute
mmol	Millimol
MRT	Magnetresonanztomographie
Mut	Mutation
NCEP/ATPIII	national Cholesterol Education Program/ Adult Education Panel
NHLBI	national Heart, Lung and Blood Institute
OGTT	oraler Glukosetoleranztest
PCOS	Polycystisches Ovarialsyndrom
PCR	Polymerasekettenreaktion
pm	picomol
PPAR $\gamma$ 2	Peroxisome Proliferator Activated Receptor $\gamma$ -2 Gen
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
rpm	rounds per minute
s	Sekunde
SCAP	Sterol responsive Element Bindungsprotein cleavage activating protein
SNP	single nucleotide polymorphism
SRE	Sterol responsive Element
SREBP	Sterol responsive Element Bindungsprotein
Trp	Tryptophan
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
U	Unit
WHO	Weltgesundheitsorganisation
WHR	Waist-Hip-Ratio (Hüft-Tailen-Verhältnis)
wt	Wildtyp

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. Beil danke ich für die Überlassung des interessanten und spannenden Themas.

Bei meinem Betreuer Herrn PD Dr. Aberle möchte ich mich für gute fachliche Beratung und die jederzeit gewährten Hilfestellungen bedanken.

Den Mitarbeiterinnen des biochemischen Stoffwechsellabors im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf gilt mein besonderer Dank für die mir entgegengebrachte Kooperation und die Durchführung der Mutationsanalysen.

Herrn Dr. Evans danke ich für seine Hilfestellungen während der Datenerhebungsphase.

Ein besonderer Dank gilt meinem Bruder Nils, der mir bei Computerproblemen zu jeder Zeit helfend zur Seite stand.

Zum Schluss möchte ich mich herzlich bei meinen Eltern sowohl für ihre finanzielle, aber vor Allem für ihre fortwährende moralische Unterstützung und Geduld während der Verwirklichung dieser Arbeit bedanken.

## Lebenslauf

**Name:** Britta Böckmann

**Geburtsdatum:** 23.01.1984

**Geburtsort:** Bad Soden am Taunus

**Familienstand:** ledig

**Schulbildung:** **1990 – 1994** Grundschule Harksheide-Nord Norderstedt  
**1994 – 2003** Gymnasium Harksheide Norderstedt  
**2003** Allgemeine Hochschulreife

**Freiwilliges**

**soziales Jahr:** **09/2003 – 08/2004** Landesbetrieb Krankenhäuser Klinikum Nord  
(interdisziplinäre Station: Visceralchirurgie,  
Gastroenterologie)

**Studium:** **10/2004** Aufnahme des Studiums (Universität Hamburg)  
**08/2006** Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung  
**Seit 10/2006** klinische Ausbildung  
**08/2007** Famulatur Albertinen Krankenhaus Hamburg  
(Allgemeinchirurgie)  
**05/2008** Famulatur Allgemeines Krankenhaus Wien  
(Kardiologie)  
**09/2008** Famulatur Asklepios Klinik Nord Heidberg  
(Zentrale Notaufnahme)  
**01/2009 – 04/2009** Wahlfach Herzchirurgie (Albertinen Krankenhaus  
Hamburg)  
**05/2009** Famulatur Asklepios Klinik Nord Heidberg  
(Radiologie)

**Praktisches Jahr:** **08/2009 – 12/2009** Asklepios Klinik Nord (Chirurgie)  
**12/2009 – 03/2010** Universitätskrankenhaus Hamburg - Eppendorf  
(Innere Medizin)  
**03/2010 – 07/2010** Asklepios Klinik Barmbek (Anästhesie)

## **Erklärung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgaben (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

---

Ort, Datum

---

Unterschrift