

Aus der Abteilung Experimentelle Chirurgie/Molekularbiologie
der Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Thoraxchirurgie
an der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf die prä- und
postoperativen Konzentrationen von VEGF und Apelin-12 im
Serum von Adipositas-Patienten

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Matthias Weidlich
aus Troisdorf

Datum der Promotion: 06. März 2020

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|---|-----------|
| VORWORT | 5 |
| ZUSAMMENFASSUNG | 6 |
| ABSTRACT | 7 |
| 1 EINLEITUNG | 8 |
| 1.1 Krankheitsbild Adipositas | 8 |
| 1.2 Bariatrische Chirurgie | 10 |
| 1.2.1 Magenband | 11 |
| 1.2.2 Schlauchmagen | 12 |
| 1.2.3 Magenbypass | 13 |
| 1.2.4 Biliopankreatische Diversion | 14 |
| 1.3 Expansion von Fettgewebe | 15 |
| 1.4 VEGF | 16 |
| 1.5 Apelin-12 | 18 |
| 1.6 Das COP9 Signalosom | 20 |
| 1.7 Die LiSa-2-Zelllinie | 23 |
| 2 FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG | 25 |
| 3 MATERIAL UND METHODEN | 26 |
| 3.1 Material | 26 |
| 3.1.1 Zellkulturmedien und Zusätze | 26 |
| 3.1.2 ELISA-Kits | 26 |
| 3.1.3 Antikörper | 26 |
| 3.1.4 Peptide | 27 |
| 3.1.5 Puffer und Lösungen | 27 |
| 3.1.6 Chemikalien | 27 |
| 3.1.7 Geräte | 28 |
| 3.1.8 Software | 29 |
| 3.2 Methoden | 30 |
| 3.2.1 Studienpopulation | 30 |
| 3.2.2 Probengewinnung | 31 |
| 3.2.3 Proteinbiochemische Methoden | 32 |
| 3.2.3.1 Enzyme Linked Immunosorbent Assay | 32 |
| 3.2.3.1.1 VEGF-ELISA | 32 |
| 3.2.3.1.2 Apelin-12-ELISA | 33 |
| 3.2.3.2 SDS-PAGE | 34 |
| 3.2.3.3 Western-Blot | 34 |
| 3.2.3.4 Ponceau-Färbung | 34 |
| 3.2.3.5 Blockieren | 35 |
| 3.2.3.6 Immundetektion | 35 |
| 3.2.3.7 Entwicklung | 35 |
| 3.2.3.8 Densitometrie | 35 |
| 3.2.4 Statistische Auswertung | 35 |
| 3.2.5 Zellkultur | 37 |
| 3.2.5.1 Kultivierung der LiSa-2-Zellen | 37 |
| 3.2.5.2 Inkubation der LiSa-2-Zellen | 37 |
| 3.2.5.3 Inkubation der LiSa-2-Zellen mit VEGF-A-Inhibitor | 37 |
| 3.2.5.4 Inkubation der LiSa-2-Zellen mit full-length-VEGF-A | 38 |
| 3.2.5.5 Inkubation der LiSa-2-Zellen mit Apelin-12 | 38 |
| 3.2.5.6 Zellyse | 38 |
| 3.2.5.7 Adipozyten-Färbung mit Oil Red O | 38 |
| 4 ERGEBNISSE | 39 |
| 4.1 Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf den Body-Mass-Index | 39 |

| | |
|--|------------|
| 4.2 ELISA-Ergebnisse | 40 |
| 4.2.1 Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf die VEGF-A-Konzentration..... | 40 |
| 4.2.2 Lineare Regression von Patienten-BMI und VEGF-A-Konzentration..... | 41 |
| 4.2.3 Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf die Apelin-12-Konzentration..... | 44 |
| 4.2.4 Regressionsanalyse von Patienten-BMI und Apelin-12-Konzentration..... | 45 |
| 4.2.5 Vergleich der Patienten nach Komorbiditäten, Geschlecht und Operationstechnik. .. | 47 |
| 4.2.5.1 Vergleich der Patienten nach Vorliegen einer arteriellen Hypertension. | 47 |
| 4.2.5.2 Vergleich der Patienten nach Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2. | 49 |
| 4.2.5.3 Vergleich der Patienten nach Vorliegen einer Schlafapnoe. | 51 |
| 4.2.5.4 Vergleich der Patienten nach Geschlecht..... | 53 |
| 4.2.5.5 Vergleich der Patienten nach Operationstechnik..... | 55 |
| 4.3 Zellkultur-Ergebnisse..... | 57 |
| 4.3.1 Einfluss eines VEGF-A-Inhibitors auf die in-vitro-Adipogenese | 57 |
| 4.3.1.1 Färbung der mit VEGF-A-Inhibitor inkubierten Adipozyten mit Oil Red O..... | 57 |
| 4.3.1.2 Western Blot der mit VEGF-A-Inhibitor inkubierten Adipozyten | 59 |
| 4.3.2 Einfluss von full-length-VEGF-A auf die in-vitro-Adipogenese | 61 |
| 4.3.2.1 Färbung der mit full-length-VEGF-A inkubierten Adipozyten mit Oil Red O..... | 61 |
| 4.3.2.2 Western Blot der mit full-length-VEGF-A inkubierten Adipozyten | 62 |
| 4.3.3 Einfluss von Apelin-12 auf die in-vitro-Adipogenese | 64 |
| 4.3.3.1 Färbung der mit Apelin-12 inkubierten Adipozyten mit Oil Red O..... | 64 |
| 4.3.3.2 Western Blot der mit Apelin-12 inkubierten Adipozyten | 65 |
| 5 DISKUSSION..... | 67 |
| 5.1 BMI-Verlauf nach bariatrischer Operation..... | 67 |
| 5.1.1 Bariatrische Operationen führen zu einer signifikanten Abnahme des BMI..... | 67 |
| 5.1.2 Einfluss von Komorbiditäten, Geschlecht und Operationsart auf den BMI. | 70 |
| 5.2 VEGF-A-Serumkonzentration nach bariatrischer Operation | 73 |
| 5.2.1 Nach bariatrischer Operation nimmt die VEGF-A-Serumkonzentration ab..... | 73 |
| 5.2.2 Es besteht ein Zusammenhang zwischen dem Verlauf des BMI und der VEGF-A-Serumkonzentration nach bariatrischer Operation. | 76 |
| 5.2.3 Einfluss von Komorbiditäten, Geschlecht und Operationsart auf die VEGF-A-Konzentration..... | 78 |
| 5.3 Apelin-12-Serumkonzentration nach bariatrischer Operation..... | 80 |
| 5.3.1 Nach bariatrischer Operation steigt die Apelin-12-Konzentration. | 80 |
| 5.3.2 Einfluss von Komorbiditäten, Geschlecht und Operationstechnik auf die Apelin-12-Konzentration..... | 83 |
| 5.4 Haben VEGF-A und Apelin-12 einen Einfluss auf die in-vitro-Adipogenese von LiSa-2-Zellen? | 85 |
| 5.4.1 VEGF-A-Inhibitor | 85 |
| 5.4.2 Full-length-VEGF-A | 87 |
| 5.4.3 Apelin-12..... | 88 |
| 5.5 Ist die VEGF-A-Konzentration im Patienten-Serum ein geeigneter Parameter für die Evaluierung des Erfolgs der bariatrischen Chirurgie? | 91 |
| 5.6 Ist die Apelin-12-Konzentration im Patienten-Serum ein geeigneter Parameter für die Evaluierung des Erfolgs der bariatrischen Chirurgie?..... | 93 |
| 5.7 Limitationen | 94 |
| 6 LITERATURVERZEICHNIS | 95 |
| 7 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS..... | 112 |
| 8 TABELLENVERZEICHNIS | 113 |
| 9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS | 113 |
| 10 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG..... | 114 |
| 11 LEBENS LAUF..... | 115 |

| | |
|-----------------------------------|------------|
| 12 PUBLIKATIONSLISTE | 117 |
| 13 DANKSAGUNG..... | 118 |

VORWORT

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in:

Bariatric Surgical Practice and Patient Care Vol. 12, No. 1 (01. März 2017)

"Bariatric Surgery Significantly Reduces Serum Concentration of Vascular Endothelial Growth Factor A and Increases Apelin-12 in Patients with Morbid Obesity."

(Matthias Weidlich, Xiaohua Huang, Johann Pratschke, Wolfgang Dubiel, Jürgen Ordemann)

<http://doi.org/10.1089/bari.2016.0037>

ZUSAMMENFASSUNG

Die Adipositas ist ein weltweit rasant zunehmendes Krankheitsbild. Die bariatrische Chirurgie ermöglicht es, Körpergewicht und Masse des weißen Fettgewebes nachhaltig zu reduzieren und das gesundheitliche Risiko Adipositas-assoziierten Komorbiditäten zu senken. Einhergehend mit dem Gewichtsverlust der Patienten nach bariatrischer Operation, verändern sich außerdem die Konzentrationen der vom Fettgewebe freigesetzten Adipokine. Diese spiegeln die durch den Eingriff angestoßenen metabolischen Veränderungen wider und sind Ausdruck von Wachstum und Reduktion des Fettgewebes. Zwei wichtige Adipokine sind VEGF-A und Apelin-12. VEGF-A ist ein Angiogenese-stimulierendes Adipokin, welches die Gefäßneubildung im wachsenden Fettgewebe fördert. Adipositas scheint stark mit erhöhten Serumkonzentrationen dieses Peptidhormons verbunden zu sein. Zudem ist VEGF-A an der Angiogenese wachsender Tumore beteiligt. Apelin-12 ist ein Peptidhormon, welches eine inhibierende Wirkung auf die Adipogenese besitzt. Es könnte ein Gegenspieler des VEGF sein. Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, ob die bariatrische Chirurgie direkten Einfluss auf die Serumkonzentrationen von VEGF und Apelin-12 ausübt. Darüber hinaus wird analysiert, ob die Änderung der Serum-Adipokin-Konzentrationen mit der des Patienten-BMI korreliert. Auf Grundlage der in-vitro-Adipogenese von LiSa-2-Zellen wird ermittelt, welchen Einfluss in-vitro Adipokine auf die Adipogenese haben. Abschließend soll beurteilt werden, ob die Adipokine VEGF-A und Apelin-12 im Serum adipöser Patienten geeignete Parameter sind, um den Erfolg der bariatrischen Chirurgie zu evaluieren. 30 morbid adipöse Patienten, welche bariatrisch operiert wurden, sind in diese Studie eingeschlossen. Sie erhielten entweder eine Magenbypass-Operation oder eine Schlauchmagen-Operation. Die Blutserumproben wurden präoperativ sowie 6, 12 und 24 Monate nach Operation akquiriert. Die Konzentrationen von VEGF-A und Apelin-12 wurden mithilfe eines spezifischen ELISAs ermittelt. Die Wirkung des VEGF-A, eines VEGF-Inhibitors sowie des Apelin-12 auf die Adipozytendifferenzierung wurde durch in-vitro-Adipogenese von Liposarkomzellen (LiSa-2) anhand von Western Blots und Oil-Red-O-Adipozyten-Färbungen analysiert. Nach bariatrischer Operation sinkt die VEGF-A-Konzentration im Serum der Patienten signifikant, während die Serumkonzentration des Apelin-12 signifikant ansteigt. Der Body Mass Index (BMI) nimmt postoperativ signifikant ab. Es besteht ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen VEGF-A und dem BMI, während Apelin-12 keinen signifikanten Zusammenhang mit dem BMI aufweist. Es zeigte sich sowohl in Western Blots, als auch Oil-Red-O-Färbungen ein stimulierender Einfluss von VEGF-A auf die in-vitro-Adipogenese. Apelin-12 zeigt ebenso wie ein VEGF-A-Inhibitor einen hemmenden Einfluss auf die Adipogenese. Die aktuelle Studienlage deutet an, dass die Zunahme des Serum-Apelin-12 mit einem Rückgang von Insulinresistenz und einer Konsolidierung des Diabetes mellitus Typ 2 bei Adipositas assoziiert ist. In Zusammenschau scheint es sinnvoll, Serum-VEGF-A in die Evaluierung des Erfolgs der bariatrischen Chirurgie mit einzubeziehen.

ABSTRACT

Obesity rapidly becomes more prevalent worldwide. Bariatric surgery sustainably reduces bodyweight and mass of white fat tissue and decreases risk of obesity-associated comorbidities. The patient's weight loss after bariatric surgery is accompanied by dramatic changes in the concentrations of adipokines secreted by fat tissue, reflecting metabolic changes including the growth and reduction of fat tissue. Two important adipokines are VEGF-A and apelin-12. VEGF-A stimulates angiogenesis, supporting the formation of blood vessels in expanding fat tissue. Obesity seems to be strongly correlated with elevated serum levels of VEGF-A. Moreover, VEGF-A is participating in the blood vessel growth in tumours. Apelin-12 is an adipokine that has an inhibiting effect on adipogenesis. It could possibly be an opponent of VEGF-A. Aim of this study is to analyse, if bariatric surgery directly influences serum concentrations of VEGF-A and apelin-12 in obese patients. Additionally, it is analysed if serum concentrations of VEGF-A and apelin-12 correlate with the change in patient's post-surgical BMI. Based on in-vitro-adipogenesis of LiSa-2 cells, we look at the influence of these peptide hormones on the adipocyte differentiation. Finally, it is assessed if the adipokines VEGF-A and apelin-12 in the serum of obese patients are suitable parameters to evaluate the success of bariatric surgery. 30 morbidly obese patients who received bariatric surgery were examined. They either underwent gastric bypass surgery or a sleeve gastrectomy. Blood samples were obtained preoperatively and 6, 12 and 24 months after surgery. Concentrations of VEGF-A and apelin-12 were measured with a specific ELISA for each hormone respectively. The effect of VEGF-A, a VEGF-Inhibitor and apelin-12 on adipocyte differentiation was analysed by in-vitro-adipogenesis of liposarcoma cells (LiSa-2) based on western blots and oil-red-o staining. After bariatric surgery VEGF-A concentrations decreased significantly. Serum concentrations of apelin-12 significantly increased. Post-surgery, the body mass index (BMI) dropped significantly. A significant and positive correlation between BMI and VEGF-A was found whereas apelin-12 and BMI show no significant correlation. In western blots as well as oil-red-o staining a stimulating effect of VEGF-A on in-vitro-adipogenesis became evident. Apelin-12, as much as a VEGF-A inhibitor show an inhibiting influence on adipogenesis. An increase of serum apelin-12 is associated with a decline in insulin resistance and a consolidation of Diabetes mellitus Type 2 in obesity but further research is necessary. Considering the risks associated with elevated serum VEGF-A it seems reasonable to include this peptide hormone into the success evaluation of bariatric surgery.

1 EINLEITUNG

1.1 Krankheitsbild Adipositas

Schwere Adipositas ist eine Gesundheitsproblematik, deren Inzidenz und Prävalenz weltweit zunimmt (Piche, Auclair, Harvey, Marceau, & Poirier, 2015; Roberto et al., 2015). Epidemiologische Studien bringen eine immer länger werdende Reihe chronischer Leiden wie kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes mellitus Typ 2, chronische Nierenkrankheit, zahlreiche Krebsarten und ein breites Spektrum muskuloskeletaler Krankheitsbilder mit einem hohen body-mass index (BMI) als Risikofaktor in Verbindung (Jiang et al., 2011; Jiang et al., 2012; Lauby-Secretan et al., 2016; Singh et al., 2013; Wormser et al., 2011). Seit 1980 hat sich die Prävalenz der Adipositas in mehr als 70 Ländern der Welt verdoppelt und ist in den meisten anderen Ländern kontinuierlich angestiegen, wobei 2015 insgesamt 107,7 Millionen Kinder und 603,7 Millionen Erwachsene adipös waren (Afshin et al., 2017). Dieser Anstieg wird maßgeblich durch die Globalisierung der konsumbasierten und wachstumsorientierten Lebensmittelmarktwirtschaft vorangetrieben, welche den Überverzehr schmackhafter, energiedichter, nährstoffarmer Nahrungsmittel und Getränke fördert (K. D. Hall, Guo, Dore, & Chow, 2009; Popkin & Hawkes, 2016; Swinburn et al., 2011). Hinzu kommen Faktoren wie abnehmende körperliche Betätigung in Beruf und Freizeit, unzureichender Schlaf sowie eine weltweit durch medizinischen Fortschritt verlängerte Lebenserwartung (Church et al., 2011; McAllister et al., 2009; von Loeffelholz, 2000). Die Erblichkeit des BMI ist hoch und reicht von 40 bis 70 Prozent, wobei epigenetische Effekte durch Umweltfaktoren zu interindividuellen Unterschieden des BMI und der Ausprägung der Adipositas führen können (Bray et al., 2016).

Eine über lange Zeit positive Energiebilanz führt zur Anreicherung von Lipiden im Fettgewebe und anderen Organen (Heymsfield, Gonzalez, Shen, Redman, & Thomas, 2014). Es wird zunehmend evident, dass Adipositas ein chronisch pro-inflammatorisches Milieu im Organismus schafft, welches über eine systemische metabolische Dysfunktion mit den Adipositas-assoziierten Erkrankungen in Verbindung gebracht wird (Ouchi, Parker, Lugus, & Walsh, 2011). Das Fettgewebe wird daher auch nicht mehr als bloßer Langzeit-Fettspeicher angesehen, sondern als endokrines Organ, welches zahlreiche bioaktive Substanzen freisetzt, die als Adipokine bezeichnet werden (Berg & Scherer, 2005; Ouchi, Kihara, Funahashi, Matsuzawa, & Walsh, 2003). Eine dysregulierte Expression der pro- und antiinflammatorischen Adipokine mit veränderter Immunantwort, bedingt durch überschüssiges Fettgewebe und eine Dysfunktion der Adipozyten, gilt als Ursache der zahlreicher Komorbiditäten im Rahmen der Adipositaserkrankung (Ouchi et al., 2011). Besonders die Zunahme des omentalen und mesenterialen Fettgewebes bei viszeraler Adipositas ist für die metabolischen Komplikationen der Erkrankung verantwortlich (Shuster, Patlas, Pinthus, & Mourtzakis, 2012). Dabei gilt die

viszerale Adipositas als eine Komponente des sogenannten metabolischen Syndroms, einem Cluster von Risikofaktoren zu denen außerdem Insulinresistenz, Dyslipidämie und arterielle Hypertension gehören (Haller, 1975; O'Neill & O'Driscoll, 2015). Adipositas geht einher mit einem Anstieg von Makrophagen und anderen Immunzellen im Fettgewebe (Grant & Dixit, 2015). Diese sekretieren pro-inflammatorische Zytokine, welche zusammen mit freien Fettsäuren und Lipidintermediaten zur Insulinresistenz in adipösen Patienten beitragen (Grant & Dixit, 2015; Heymsfield & Wadden, 2017).

Es bleibt anzumerken, dass einige Adipositas-Patienten objektiv keine kardiometabolischen Folgeerscheinungen zeigen (Kramer, Zinman, & Retnakaran, 2013). Diese Patienten werden daher auch als "metabolisch gesunde" Adipöse bezeichnet (Kramer et al., 2013).

Zu den drei Hauptansätzen der Adipositas therapie gehören Lifestyle-Interventionen, Pharmakotherapie und die bariatrische Chirurgie (Heymsfield & Wadden, 2017). Lifestyle-Interventionen sind darauf ausgerichtet, schädliches Essverhalten zu modifizieren und die physische Aktivität zu erhöhen, um einen moderaten Gewichtsverlust zu erreichen und aufrechtzuerhalten (Heymsfield & Wadden, 2017; Jensen et al., 2014). Aufgrund der geringen Kosten und des minimalen Risikos von Komplikationen sind sie die erste Option des Gewichtsmanagements (Jensen et al., 2014). Allerdings ist eine Wiedergewinnung des Gewichts nach Interventionen häufig, weshalb es für Therapeuten schwierig ist, die Patienten-Compliance und damit den Abnehmerfolg nachhaltig zu sichern (Heymsfield & Wadden, 2017).

Pharmakotherapie bei Adipositas dient als Ergänzung zur Lifestyleveränderung und sollte mit ihr zusammen angewendet werden, da sie zusätzlichen Gewichtsverlust ermöglicht und diesen auch langfristig stabilisieren kann (Yanovski & Yanovski, 2014). Werden die Medikamente jedoch abgesetzt, ist eine Wiedergewinnung des Gewichts wahrscheinlich (Yanovski & Yanovski, 2014). Deshalb kann für die Langzeittherapie der Adipositas eine dauerhafte Einnahme der Pharmaka notwendig sein, so wie es schon für Medikamente zur Behandlung von Diabetes, Bluthochdruck und Dyslipidämie üblich ist (Heymsfield & Wadden, 2017). Häufige unerwünschte Arzneimittel-Nebenwirkungen können sich negativ auf die Compliance bei der Einnahme auswirken (Sweeting, Hocking, & Markovic, 2015).

1.2 Bariatrische Chirurgie

Die bariatrische Chirurgie ist die einzige nachweislich effektive Methode, nachhaltigen Gewichtsverlust und Gewichtskontrolle bei morbidem Adipositas zu erreichen (American Diabetes Association, 2013; Dixon, Zimmet, Alberti, & Rubino, 2011; Jensen et al., 2014; Rubino, Kaplan, Schauer, & Cummings, 2010). Die Indikation für einen bariatrischen Eingriff wird auf Basis der NIH Richtlinien von 1991 gestellt (Hanipah & Schauer, 2017; NIH conference, 1996). Dabei werden bariatrische Verfahren für solche Patienten mit einem BMI von über 40 kg/m² oder solchen mit einem BMI von 35 kg/m² und zusätzlichen assoziierten Komorbiditäten empfohlen, welche mit Lifestyle- und Pharmakotherapie schwer zu kontrollieren sind (Jensen et al., 2014; NIH conference, 1996). Guidelines betonen einstimmig, dass Patienten, für die bariatrische Eingriffe in Frage kommen, zuvor den Versuch unternommen haben müssen, durch nicht-chirurgische Maßnahmen einen Gewichtsverlust zu erreichen (Jensen et al., 2014; NIH conference, 1996).

Bariatrische Operationen werden klassisch nach dem Mechanismus der Gewichtsreduktion in restriktive und malabsorptiv-restriktive Hybridverfahren eingeteilt (Piche et al., 2015). Restriktive Ansätze limitieren die Menge aufnehmbarer Nahrung, indem sie die Größe des Magens reduzieren (Fisher & Schauer, 2002). Hybridverfahren behindern zusätzlich die Absorption von Nährstoffen, indem Teile des Verdauungstraktes per Bypass umgangen werden (Fisher & Schauer, 2002). Neben dem Allgemeinzustand des Patienten und seinem Risikoprofil für Komplikationen sind bei der Verfahrenswahl die zu erwartende Gewichtsabnahme sowie der mögliche Einfluss auf die diabetische Stoffwechsellage entscheidend (Ordemann, Elbelt, & Menenakos, 2014). Grundsätzlich sind alle bariatrischen Operationen in der Verbesserung der Blutzuckerstoffwechsellage und der Remission des Diabetes mellitus Typ 2 den konservativen Therapieverfahren überlegen (Henry Buchwald et al., 2009).

1.2.1 Magenband

Restriktive Verfahren umfassen das Magenband - auch als Gastric Banding bezeichnet - und den Schlauchmagen (Piche et al., 2015). Bei dem Magenband (Abb.1) handelt es sich um ein befüllbares Kunststoffband, welches operativ um den Mageneingang gelegt wird (Hanipah & Schauer, 2017). Über ein Portsystem kann das Band perkutan mit Flüssigkeit befüllt werden, um den Durchmesser der Magenöffnung zu regulieren (Piche et al., 2015). Es entsteht ein Vormagen, der sogenannte "Pouch", welcher einen Bruchteil des ursprünglichen Magenvolumens umfasst (Piche et al., 2015). Dieser füllt sich nach Nahrungsaufnahme schneller, während die Passage der Nahrung Richtung Restmagen und Dünndarm durch das einengende Band behindert wird. (Piche et al., 2015) Der Patient soll auf diesem Wege eine bessere Appetitkontrolle und frühere Sättigung erreichen (Piche et al., 2015).

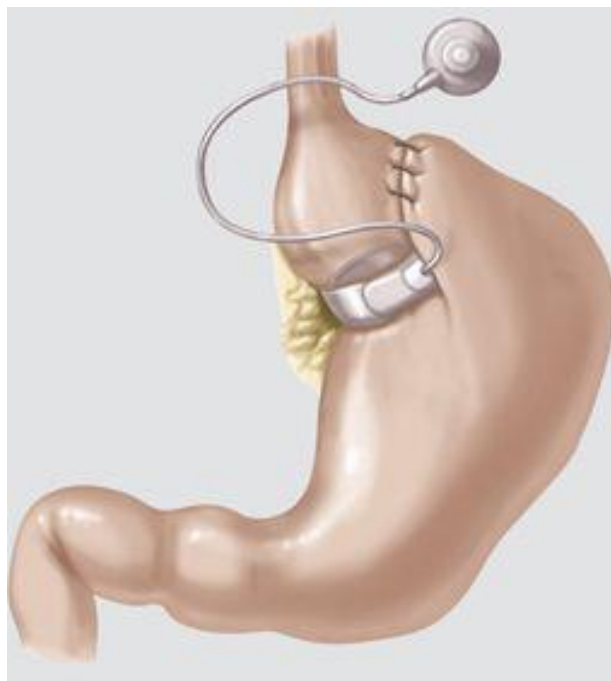


Abb.1: Zustand nach Magenband-Operation mit gastrogastrischen Sicherungsnähten und Magenband mit Portsystem. (Abb. modifiziert nach (Ordemann et al., 2014)).

1.2.2 Schlauchmagen

Der Schlauchmagen (Abb. 2), auch als Sleeve Gastrektomie bezeichnet, umfasst eine longitudinale Resektion der großen Kurvatur des Magens, beginnend am Antrum, 5 bis 6 cm vom Pylorus entfernt bis zum Fundus, nahe der Cardia (Piche et al., 2015). Durch die Entfernung eines Großteils des Magens wird das Magenvolumen im Idealfall auf 150 ml reduziert (Piche et al., 2015). Die aufnehmbare Nahrungsmenge wird vermindert und die Sättigung tritt schneller ein (Karmali, Schauer, Birch, Sharma, & Sherman, 2010). Hinzu kommt, dass mit dem resezierten Magengewebe Zellen entfernt werden, die für die Sekretion des Hormons Ghrelin verantwortlich sind, welches den Appetit fördert (Karamanakos, Vagenas, Kalfarentzos, & Alexandrides, 2008). Postoperativ sinken die Plasmaspiegel des Ghrelins ab und somit auch das Hungergefühl (Buzga et al., 2014; Karamanakos et al., 2008).

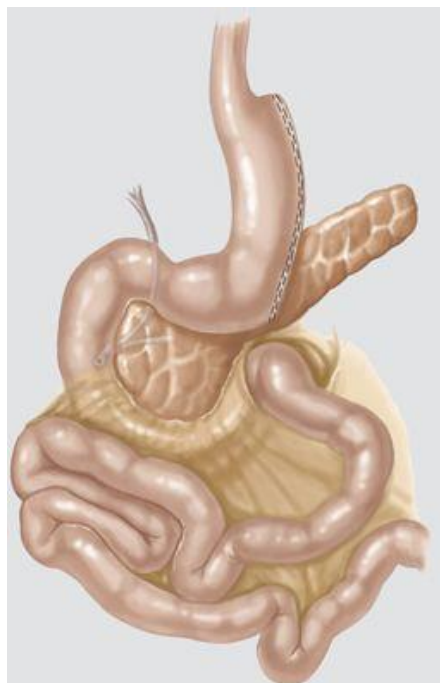


Abb.2: Zustand nach Schlauchmagen-Operation mit Staplernäht an der Absetzungsstelle der Curvatura gastrica major. (Abb. modifiziert nach (Ordemann et al., 2014)).

1.2.3 Magenbypass

Der Magenbypass (Abb. 3), auch Roux-en-Y Gastric Bypass genannt, ist die meistdurchgeführte bariatrische Operationstechnik weltweit (H. Buchwald & Oien, 2013). Während der Operation wird die Größe des Magens auf einen sogenannten Pouch- bzw. Vormagen mit einer Größe von circa 15 ml reduziert (Piche et al., 2015). Dieser wird anschließend mit einer nach Roux-Y ausgeschalteten, hochgezogenen Jejunumschlinge anastomosiert, wodurch das Duodenum und ein Teil des Jejunums aus der Nahrungspassage ausgeschlossen werden (Ordemann et al., 2014; Roux, 1893). Die hochgezogene Jejunumschlinge wird als "alimentäre Schlinge" bezeichnet und wird meist circa 150 cm aboral der Pouch-Anastomose (Gastrojejunostomie) mit der verbleibenden bilio-pankreatischen Schlinge verbunden (Ordemann et al., 2014; Piche et al., 2015). Beide bilden dort die "Common-Schlinge", in welcher die eigentliche Resorption der Nahrung erfolgt (Ordemann et al., 2014).

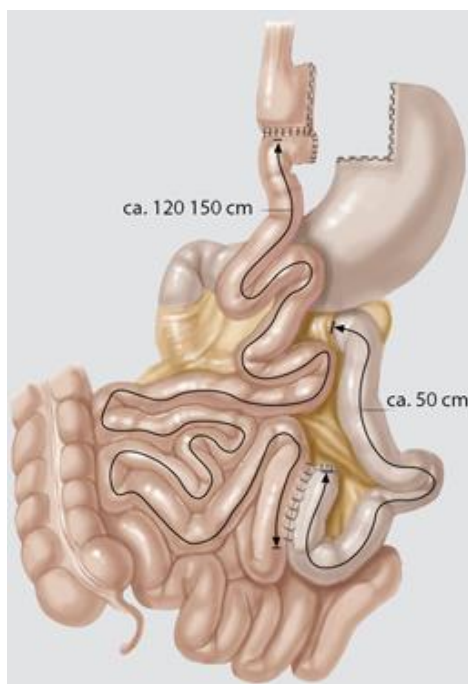


Abb.3: Zustand nach Roux-en-Y Magenbypass-Operation. Die Pfeile stellen Länge und Verlauf der alimentären (ca. 120-150 cm) und bilio-pankreatischen Schlinge (ca. 50 cm) dar. (modifiziert nach (Ordemann et al., 2014)).

1.2.4 Biliopankreatische Diversion

Eine seltener durchgeführte Abwandlung des Magenbypasses ist die biliopankreatische Diversion (Abb. 4) mit und ohne duodenalem Switch (H. Buchwald & Oien, 2013). Diese Operation kombiniert die gastrische Restriktion mit der Malabsorption eines Dünndarmbypasses (Piche et al., 2015). Die biliopankreatische Diversion nach Scopinaro sieht eine distale Magenresektion vor, während bei der weiterentwickelten biliopankreatischen Diversion mit duodenalem Switch eine Sleeve Gastrectomy zur Restriktion durchgeführt wird (Hess & Hess, 1998; Scopinaro, Gianetta, Civalleri, Bonalumi, & Bachi, 1979). Das Duodenum wird circa 4 cm distal des Pylorus durchtrennt und mit einer 250 cm langen Ileumschlinge anastomosiert (Marceau, Hould, Potvin, Lebel, & Biron, 1999). Der biliopankreatische Schenkel, welcher aus distalem Duodenum, Jejunum und proximalem Ileum besteht, führt circa 100 cm vom Ende des Ileums entfernt die Sekrete von Gallenblase und Pankreas dem alimentären Schenkel zu (Marceau et al., 1999). Die nachfolgende gemeinsame Darmstrecke aboral der Anastomose wird als "Common Schlinge" bezeichnet. Die malabsorptive Komponente bei dieser Operation ist im Vergleich zum Roux-en-Y gastric bypass größer (Ordemann et al., 2014; Piche et al., 2015). Deshalb findet sie vor allem bei extremer Adipositas Anwendung, wird jedoch weltweit am seltensten durchgeführt, obwohl statistisch die nachhaltigsten Gewichtsreduktionen und Remissionsraten der Komorbiditäten erreicht werden (H. Buchwald et al., 2004; Ordemann et al., 2014).

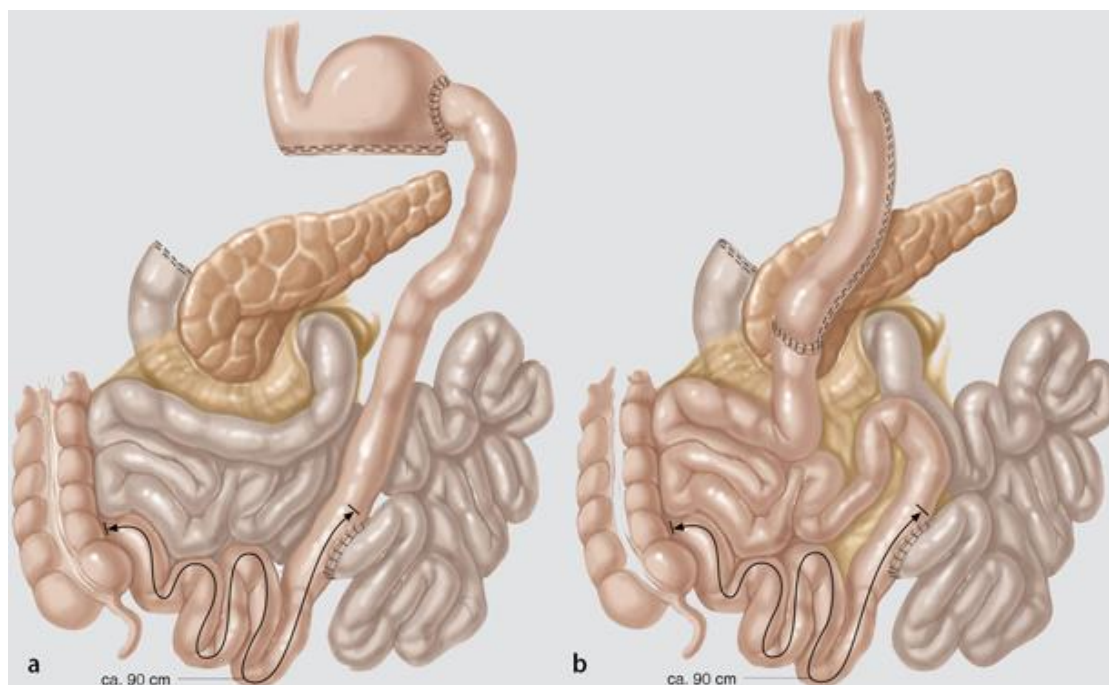


Abb.4: Zustand nach biliopankreatischer Diversion mit (a) und ohne (b) duodenalem Switch. Mit Pfeilen gekennzeichnet ist die ca. 90 cm lange "Common Schlinge" (Abb. modifiziert nach (Ordemann et al., 2014)).

1.3 Expansion von Fettgewebe

Ein funktionierendes Fettgewebe ist in der Lage, überschüssige Kalorien in Form von Triglyzeriden zu speichern (Gray & Vidal-Puig, 2007). Einzelne Adipozyten innerhalb des Fettgewebes können dabei deutlich expandieren und einen umso größeren Fettspeicher bilden (Gray & Vidal-Puig, 2007). Jedoch kann ungehemmtes Adipozytenwachstum zum Tod dieser Zellen führen und eine Entzündungsreaktion sowie Insulinresistenz verursachen (Cinti et al., 2005). Um anhaltend Triglyzeride akkumulieren zu können, muss Fettgewebe fähig sein zu expandieren, was durch Rekrutierung und Differenzierung neuer Adipozyten ermöglicht wird (Tang & Lane, 2012). Neben der Präadipozytendifferenzierung (Abb. 5) setzt die Expansion von Fettgewebe das gleichzeitige Wachstum eines Kapillarnetzwerkes voraus (Bouloumie, Lolmede, Sengenès, Galitzky, & Lafontan, 2002; Neels & Loskutoff, 2003; Rupnick et al., 2002). Dieser Zusammenhang ist durch die Beobachtung dokumentiert, dass im Mausmodell genetisch und Diät-bedingte Adipositas mittels antiangiogener Substanzen gemildert werden kann und die Mikrozirkulation des Fettgewebes bei adipösen Individuen erhöht ist (Brakenhielm et al., 2004; Voros et al., 2005). Angiogenese und Präadipozytendifferenzierung bedingen sich dabei gegenseitig, was in vitro nachgewiesen werden konnte (Castellot, Karnovsky, & Spiegelman, 1982; Montesano, Mouron, & Orci, 1985; Varzaneh, Shillabeer, Wong, & Lau, 1994). Die Angiogenese wird durch das Zusammenwirken einer Vielzahl angiogener Faktoren ermöglicht, welche die Proliferation und Migration von Endothelzellen stimulieren und inhibieren können (De Pergola & Silvestris, 2013). Endothelzellen sind in Fettgewebe reichlich vorhanden und sekretieren angiogene Faktoren, die autokrine, parakrine und endokrine Wirkung aufweisen (De Pergola & Silvestris, 2013).

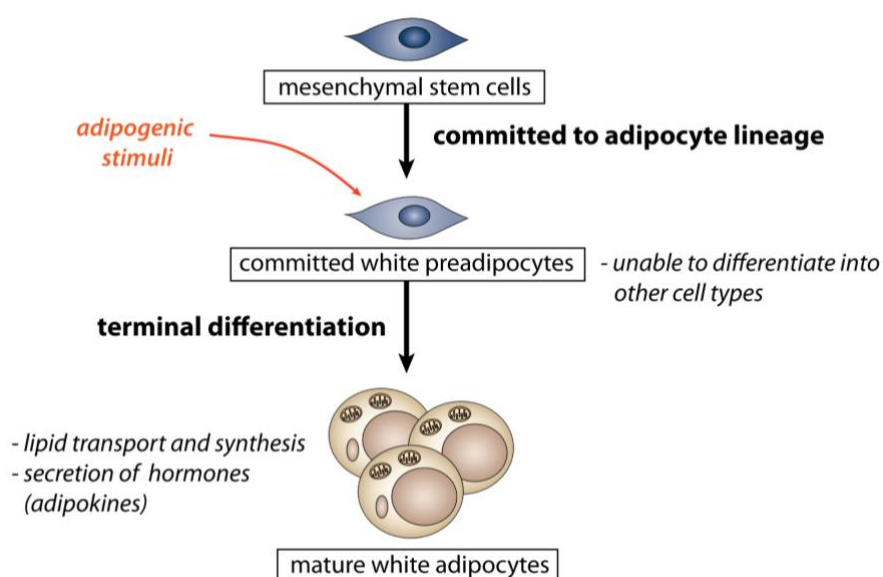


Abb.5: Durch adipogene Stimuli werden aus mesenchymalen Stammzellen hervorgegangene Präadipozyten angeregt, terminal zu weißen Adipozyten zu differenzieren. Diese Adipozyten produzieren Adipokine und sind für Lipidsynthese und -transport zuständig (Abb. modifiziert nach (Rosen & MacDougald, 2006)).

1.4 VEGF

VEGF-A ist einer dieser Faktoren und spielt eine zentrale Rolle sowohl bei der physiologischen, als auch pathologischen Angiogenese, indem es Proliferation und Migration von Endothelzellen verstärkt (Ferrara & Bunting, 1996). Angiogenese bezeichnet dabei die Bildung neuer KapillargefäÙe aus bereits bestehenden BlutgefäÙen (Hanrahan et al., 2003). Diese dienen dazu, die Zellen mit Nährstoffen zu versorgen und Abfallprodukte abzutransportieren (Nagy, Benjamin, Zeng, Dvorak, & Dvorak, 2008).

VEGF wurde ursprünglich als ein 34-42 kD Protein beschrieben, welches die vaskuläre Permeabilität in der Haut erhöht (Senger et al., 1983). Das Protein wurde aus Aszitesflüssigkeit und Zellkulturüberständen einer Leberzellkarzinomlinie isoliert und "vascular permeability factor" oder VPF genannt (Senger et al., 1983). Ihm wurde die Rolle des bis dahin potentesten permeabilitätssteigernden Faktors zugeschrieben, der für vaskuläre Hyperpermeabilität und Akkumulation von plasmaproteinreicher Flüssigkeit in soliden und Ehrlich-Aszites-Tumoren verantwortlich ist (Senger et al., 1983). Jahre später wurde ein Wachstumsfaktor für Endothelzellen im Medium boviner follikulärer Hypophysenzellen identifiziert und VEGF genannt (Ferrara & Henzel, 1989). Nach seiner Sequenzierung konnte bestätigt werden, dass VEGF und VPF identisch sind (Keck et al., 1989; Leung, Cachianes, Kuang, Goeddel, & Ferrara, 1989). VEGF ist Voraussetzung für das Wachstum und die Differenzierung von Endothelzellen und wirkt darüber hinaus bei Entzündung und in Tumoren chemotaktisch auf Monozyten (Clauss et al., 1990).

Neben VEGF-A besteht die VEGF-Familie außerdem aus VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E sowie Placental Growth Factor (Byrne, Bouchier-Hayes, & Harmey, 2005). VEGF-A ist dabei vor allem an der Angiogenese blutführender GefäÙe beteiligt, während VEGF-C und VEGF-D z. B. für die Lymphangiogenese verantwortlich sind (Byrne et al., 2005; Jeltsch et al., 1997). VEGF-B hingegen besitzt nahezu keine angiogene Aktivität und wirkt in Bezug auf BlutgefäÙe und verschiedene Zelltypen im Organismus eher überlebensfördernd und antiapoptotisch (Li et al., 2009). Placental Growth Factor ist ein zum VEGF-A homologes Protein, das in menschlichem Plazentagewebe entdeckt wurde und von vielen Zelltypen, einschließlich Adipozyten, exprimiert wird (De Falco, Gigante, & Persico, 2002; Maglione, Guerriero, Viglietto, Dellibovi, & Persico, 1991; Voros et al., 2005).

VEGF-A wird stark in Fettgewebe freigesetzt und während der Adipozytendifferenzierung vermehrt exprimiert (Claffey K. P., Wilkison W. O., & Spiegelman B. M., 1992; Emoto et al., 2001; Soukas, Succi, Saatkamp, Novelli, & Friedman, 2001; Q. X. Zhang et al., 1997). VEGF-A ist im Vergleich zu normalgewichtigen Individuen bei Adipositaspatienten im Blutserum erhöht (Garcia

de la Torre et al., 2008). Das Peptidhormon kann sowohl in Serum als auch Plasma detektiert werden, wobei im Serum aufgrund der Freisetzung durch Thrombozyten höhere Konzentrationen erreicht werden (Banks et al., 1998).

Die Inhibition der Angiogenese durch Blockierung des VEGF-Rezeptors-2 mittels Antikörpern reduziert in Mäusen nicht nur die Gefäßneubildung, sondern auch die Adipozytendifferenzierung (Fukumura et al., 2003). Eine Anti-VEGF-Therapie mit Bevacizumab bei adipösen Patienten mit kolorektalem Karzinom ist weniger effektiv, was mit erhöhten VEGF-Spiegeln bei diesen Individuen in Verbindung gebracht wird (Renehan et al., 2010; Simkens et al., 2011).

VEGF-A ist einer der wichtigsten und zentralen Stimulatoren der Entstehung und des Wachstums von Tumoren, welche über neue Blutgefäße ihre Nähr- und Sauerstoffversorgung sichern (Folkman, 1990; Hanrahan et al., 2003). VEGF-A kann dabei die metastatische Ausbreitung der Tumorzellen erleichtern (Byrne et al., 2005). Tiermodelle haben gezeigt, dass VEGF-A in menschlichen Xenotransplantaten exprimiert wird und dass seine Transfektion in Krebszellen das Tumorwachstum, Angiogenese und Metastasierung fördert (Kondo et al., 2000; Okamoto et al., 1999). Als Adipokin gebildetes VEGF-A kann, wie viele weitere solcher Faktoren ebenfalls, sowohl lokal im Fettgewebe als auch endokrin in entfernten Kapillargefäßen wirken und so z. B. zu endothelialer Dysfunktion und kardiovaskulären Erkrankungen beitragen (Chou et al., 2002; Silha, Krsek, Sucharda, & Murphy, 2005). Dieser Mechanismus könnte auch den Zusammenhang zwischen Adipositas und Krebs erklären. Fettleibige Patienten mit Tumorleiden haben eine schlechtere Prognose, kürzere krankheitsfreie Intervalle nach Initialtherapie und ein erhöhtes Risiko für Metastasierung, was darauf hindeutet, dass Angiogenese und damit möglicherweise auch das Tumorwachstum durch Adipositas verstärkt werden (Amling et al., 2004; Daniell, Tam, & Filice, 1993; Freedland et al., 2004). Ein Review des International Agency for Research on Cancer kam zu dem Schluss, dass Adipositas für 11% aller Kolonkarzinome, 9% aller postmenopausalen Brustkarzinome, 39% aller Endometriumkarzinome, 25% aller Nierenkarzinome und 37% aller Ösophaguskarzinome verantwortlich ist (Vainio, Kaaks, & Bianchini, 2002). Insgesamt wird geschätzt, dass Adipositas circa 20% aller Krebsfälle verursacht (Wolin, Carson, & Colditz, 2010). Nach bariatrischen Eingriffen sinkt VEGF-A im Blut signifikant und so auch viele krebisrelevante Biomarker (Farey, Fisher, Levert-Mignon, Forner, & Lord, 2017; Garcia de la Torre et al., 2008; Weidlich, Huang, Pratschke, Dubiel, & Ordemann, 2017). Die Krebsinzidenz sinkt nach bariatrischer Chirurgie signifikant, was die Hypothese stützt, dass eine Umkehr des Krebsrisikos bei Adipositas möglich ist (Renehan, 2009). Darüber hinaus haben bariatrisch operierte Patienten ein geringeres Risiko, erstmalig an Tumoren zu erkranken, als solche, die herkömmliche Abnehmstrategien verfolgen (Sjostrom et al., 2009).

Welchen Anteil Tumorzellen und Adipozyten jeweils an der Produktion der proangiogenen Faktoren, Tumorentstehung, -progress und -metastasierung haben, bleibt bisher unklar (Hursting & Hursting, 2012). Es kann jedoch festgehalten werden, dass Adipositas einen großen Einfluss auf das Krebsrisiko hat (Wolin et al., 2010). Es könnte daher ein direkter Zusammenhang zwischen den vom Fettgewebe freigesetzten Mediatoren wie VEGF und der Adipositas-assoziierten Verstärkung der Tumorangio-genese bestehen (Hursting & Hursting, 2012).

1.5 Apelin-12

Das Apelin-Peptid wurde 1998 erstmals aus bovinen Magenzellen isoliert und ist Ligand des G-Protein-gekoppelten Angiotensin II Protein J Rezeptors (Tatemoto et al., 1998). Apelin ist ein Präproprotein mit den Isoformen Apelin-13, -16, -17 und -36, wobei jede eine eigenständige Funktion aufweist und kürzere Isoformen potentere Aktivatoren des APJ-Rezeptors sind, als längere (Chaves-Almagro et al., 2015; Falcao-Pires & Leite-Moreira, 2005; Kawamata et al., 2001; D. K. Lee, George, & O'Dowd, 2006). In verschiedenen Zelltypen, Geweben und Organen konnte Apelin-Aktivität nachgewiesen werden, darunter Herz, Lunge, Hirn, Nieren, Endothel, Plasma und Fettgewebe (Kawamata et al., 2001; O'Carroll, Selby, Palkovits, & Lolait, 2000; Tatemoto et al., 1998). Sowohl der APJ-Rezeptor als auch Apelin sind in die kardiovaskuläre Homöostase, das Trink- und Essverhalten sowie die zentrale Kontrolle des Blutdrucks involviert (Reaux, Gallatz, Palkovits, & Llorens-Cortes, 2002; Taheri et al., 2002; Tatemoto et al., 2001). Wird Apelin intrazerebroventrikulär in Ratten injiziert, führt dies zu vermehrter Nahrungsaufnahme, während intravenöse Applikation keine Veränderung im Verhalten zeigt (Sunter, Hewson, & Dickson, 2003). Der blutdrucksenkende Effekt von Apelin ist in Ratten beschrieben und vor allem auf das venöse System beschränkt, in welchem es über einen Stickstoffmonoxid-abhängigen Mechanismus stärker dilatierend wirkt, als einige Calciumantagonisten (Cheng, Cheng, & Pang, 2003; Tatemoto et al., 2001).

Darüber hinaus wurde das Peptid als ein Adipokin identifiziert, welches von Fettgewebe freigesetzt wird und in den Insulinstoffwechsel involviert ist (Boucher et al., 2005; L. Wei, Hou, & Tatemoto, 2005). Auch der APJ-Rezeptor wird von Adipozyten exprimiert (L. Wei et al., 2005). Aufgrund der Tatsache, dass Diabetes mellitus Typ 2 mittels bariatrischer Chirurgie erfolgreich behandelt werden kann, ist der Zusammenhang zwischen Apelin und der Insulinresistenz bei diesem Krankheitsbild von Interesse (Bertrand, Valet, & Castan-Laurell, 2015; Henry Buchwald et al., 2009). Insulinresistenz ist die verminderte Fähigkeit einer Zelle, eines Gewebes oder Organs, Glukose als Antwort auf Insulin aufzunehmen und definiert pathophysiologisch den Diabetes mellitus Typ 2 (Yue et al., 2010). Dieser Zustand ist mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko sowie kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert (Yue et al., 2010).

Adipositaspatienten und Patienten mit gestörter Glukosetoleranz weisen gegenüber Gesunden erhöhte Konzentrationen von Apelin in Serum und Plasma auf (Ba et al., 2014; Boucher et al., 2005; Heinonen et al., 2005; L. Li et al., 2006). Dabei ist aus klinischer Perspektive noch nicht eindeutig geklärt, inwieweit Apelin mit dem Grad der Insulinresistenz korreliert (Higuchi et al., 2007; Sawane et al., 2013; Than et al., 2012; Yue et al., 2010). Experimentelle Arbeiten an der Maus offenbaren jedoch einen inhibitorischen Effekt des Apelin auf die Adipogenese und eine negative Korrelation mit dem Grad der Insulinresistenz (Higuchi et al., 2007; Sawane et al., 2013; Than et al., 2012; Yue et al., 2011). Wird Apelin in Mäuse injiziert, senkt dies den Körperfettgehalt, die Konzentration von Insulin und Triglyzeriden im Serum und erhöht die Insulinsensitivität (Dray et al., 2008; Higuchi et al., 2007; Than et al., 2012). Umgekehrt ist die Insulinsensitivität bei Apelin-Knock-Out-Mäusen vermindert, was durch exogene Applikation von Apelin wieder rückgängig gemacht werden kann (Yue et al., 2010). Das Peptid kommt somit auch als Ansatzpunkt für die zukünftige Therapie der Fettleibigkeit und verwandter Erkrankungen wie dem Diabetes mellitus Typ 2 in Frage (Sawane et al., 2013).

Für die Entstehung funktionstüchtiger Blutgefäße ist Apelin von essentieller Bedeutung (Kalin et al., 2007). Es ist an allen Schritten der Angiogenese beteiligt und sorgt für stabile und dichte Gefäße (Kidoya, Naito, & Takakura, 2010; Yang et al., 2014). Knock-Out-Mäuse ohne APJ-Rezeptor zeigen kardiovaskuläre Deformationen oder sterben im Embryostadium ab (Kang et al., 2013). Apelin-Knock-Out-Mäuse, welche einer hoch-fetthaltigen Diät ausgesetzt werden, zeigen einen adipösen Phänotyp mit abnormer Erweiterung der blutführenden und lymphatischen Gefäße (Sawane et al., 2013). Dies deutet darauf hin, dass Apelin der Adipositas durch eine Förderung der Gefäßintegrität entgegenwirkt (Sawane et al., 2013).

Welchen Einfluss der Gewichtsverlust, z. B. nach bariatrischer Operation, auf die Serumspiegel von Apelin hat ist bisher ebenfalls nicht eindeutig geklärt. Studien beschreiben ein Absinken oder Stagnieren des Apelin nach bariatrischer Operation, mit entweder positiver oder nicht signifikanter Korrelation mit dem BMI (Caron-Cantin et al., 2013; Castan-Laurell et al., 2008; Cavallo et al., 2012; Khajeh et al., 2017; Krist et al., 2013; Soriguer et al., 2009). Es bedarf deshalb weiterer Studien auf dem Gebiet der bariatrischen Chirurgie, welche das Apelin näher untersuchen.

1.6 Das COP9 Signalosom

Die Ubiquitinierung ist der relevanteste posttranslationale Mechanismus in eukaryotischen Zellen zur Kennzeichnung von Proteinen für die selektive Degradation durch das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) (Grumati & Dikic, 2018; Hershko & Ciechanover, 1998). Proteine werden durch kovalente Ligation mit Ubiquitin, einem hochkonservierten Protein, zur Degradation bestimmt, was durch drei Enzym-Familien ermöglicht wird (Hershko & Ciechanover, 1998). Der C-terminale Glycin-Rest des Ubiquitin wird durch das spezifische Enzym E1 unter ATP-Verbrauch aktiviert (Hershko & Ciechanover, 1998). Das aktivierte Ubiquitin wird anschließend an einen aktiven Cystein-Rest eines Ubiquitin-konjugierenden Enzyms namens E2 transferiert (Hershko & Ciechanover, 1998). Im dritten Schritt, katalysiert durch die Ubiquitin-Protein-Ligasen, wird Ubiquitin mit seinem C-Terminus in einer Amid-Isopeptid-Bindung an eine ϵ -Aminogruppe am Lysin-Rest des Substratproteins gebunden (Hershko & Ciechanover, 1998). Es gibt viele verschiedene E2-Enzyme, mehrere E3-Sub-Familien und E3-Multiproteinkomplexe (Hershko & Ciechanover, 1998). Die Degradation von Regulatorproteinen durch das UPS spielt eine bedeutende Rolle in der Kontrolle des Zellzyklus, der Signaltransduktion, Transkriptionsregulation, Rezeptorregulierung und Endozytose (Hershko & Ciechanover, 1998). Verlaufen Ubiquitin-vermittelte Prozesse abnormal, treten pathologische Zustände, wie z. B. maligne Transformation auf (Hershko & Ciechanover, 1998).

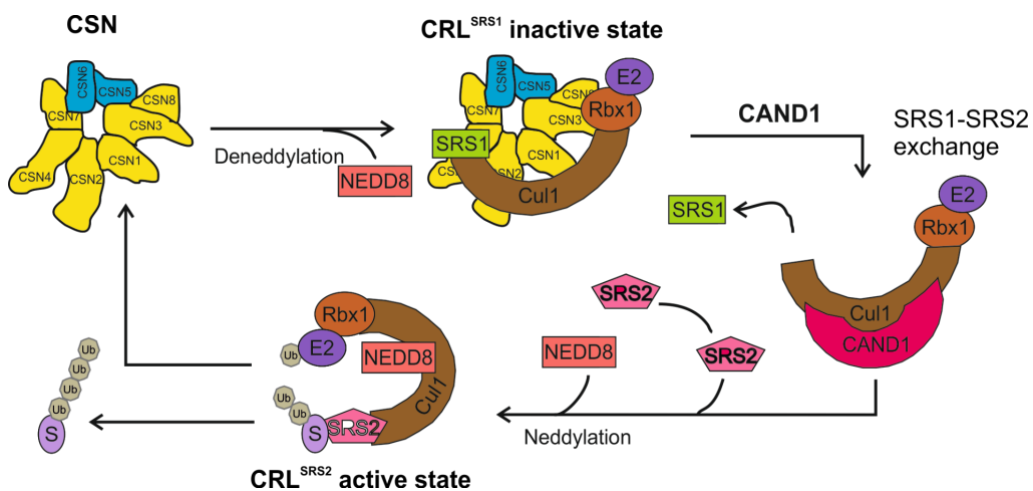


Abb.6: CAND1 und die COP9 Signalosom (CSN)-abhängigen Cullin-RING-Ubiquitin Ligasen (CRL). Das CSN bildet Superkomplexe mit CRLs und entfernt das Ubiquitin-ähnliche Protein Nedd8 von Cullinen. (X. Huang, Ordemann, Muller, & Dubiel, 2012). CAND1 moduliert den Einbau von Substrate Recognition Subunits (SRS) in Culline (Dubiel, Gierisch, Huang, Dubiel, & Naumann, 2013) (Abb. modifiziert nach (Dubiel, 2018)).

Das COP9 Signalosom (CSN) ist ein hochkonservierter Multiproteinkomplex, welcher die Aktivität der Cullin-RING E3 Ubiquitin-Ligasen (CRL) reguliert (Stratmann & Gusmaroli, 2012; N. Wei, Serino, & Deng, 2008). CRL ubiquitinieren Substratproteine und führen sie damit der proteasomalen Degradation zu (Stratmann & Gusmaroli, 2012). Das CSN bildet Superkomplexe mit CRLs und entfernt das Ubiquitin-ähnliche Protein Nedd8 (Abb. 6) von Cullinen (X. Huang et

al., 2012). Die Cullin–RING-Ligasen sind eine Ubiquitin-Ligasen-Superfamilie, welche durch ein Mitglied der Cullin-Familie und einem RING-Protein gekennzeichnet ist (Petroski & Deshaies, 2005). Mitglieder der Cullin-Familie, wie Cul1 und Cul3, stellen das Gerüst der CRL-Komplexe bereit und sind verantwortlich für einen großen Teil der UPS-Proteolyse (Dubiel, Ordemann, Pratschke, Dubiel, & Naumann, 2015; Petroski & Deshaies, 2005). Das katalytische Zentrum bindet spezifische Substrate über Adapter-Proteine und verschiedene Rezeptor-Untereinheiten (Petroski & Deshaies, 2005). Da die CRLs zahlreiche Regulatoren von Zellzyklus und Apoptose dem proteasomalen Abbau zuführen können, spielen sie eine bedeutende Rolle für Proliferation und Onkogenese (Frescas & Pagano, 2008). Außerdem werden CRL durch das CSN und Cullin-associated Nedd8-dissociated protein 1 (CAND1) reguliert (Dubiel et al., 2013). Ein Knockdown von CAND1 führt zu einer Reduktion des Adipogenese-Leitmarkers p27, und blockiert die Adipogenese, während eine Akkumulation von p27 mit einem Anstieg von CAND1 assoziiert ist (Dubiel et al., 2013). Durch die Modulierung des Einbaus von Substrate Recognition Subunits in Culline durch CAND1 und daraus resultierende Veränderungen im Zellzyklus, könnte CAND1 ein wichtiges Effektmolekül in der Adipogenese aber auch in der Tumorentstehung darstellen (Dubiel et al., 2013).

Das CSN ist typischerweise aus acht Untereinheiten zusammengesetzt, die als CSN1 bis CSN8 bezeichnet werden (Deng, Dubiel, Wei, Hofmann, & Mundt, 2000; Schwechheimer, 2004). Die CSN-Untereinheiten sind mit den regulatorischen Komponenten des 26S-Proteasom-Lid verwandt (Seeger et al., 1998). Das CSN wurde ursprünglich in Mutanten der Pflanzenart *Arabidopsis thaliana* identifiziert (N. Wei & Deng, 1992). Man konnte das CSN später in allen eukaryotischen Organismen einschließlich dem Menschen isolieren (Mundt et al., 1999; Seeger et al., 1998; N. Wei et al., 1998). Aufgrund seiner Funktion bei der koordinierten Ubiquitinierung und Proteasom-Degradation ist das CSN für zelluläre Prozesse wie dem Zellzyklus, DNA-Reparatur, Apoptose, Seneszenz, Signaltransduktion, Transkription und Angiogenese von Bedeutung und zudem an der Tumorigenese beteiligt (Bech-Otschir et al., 2001; Chamovitz, 2009; M. H. Lee, Zhao, Phan, & Yeung, 2011; Pollmann et al., 2001; N. Wei et al., 2008). Der effektivste Inhibitor der CSN-assoziierten Kinaseaktivität ist das Curcumin, welches antitumorigene und antiangiogene Wirkung besitzt (Arbiser et al., 1998; M. T. Huang et al., 1994; Srimal & Dhawan, 1973). Anhand von HeLa und HL-60-Zellen konnte nachgewiesen werden, dass das CSN einen Großteil der VEGF-Produktion kontrolliert (Pollmann et al., 2001). Die CSN-gesteuerte VEGF-Produktion wird vor allem durch c-Jun Signaling vermittelt und kann durch erhöhte intrazelluläre Konzentrationen des Tumorsuppressors p53 reduziert werden (Pollmann et al., 2001). Die Inhibition der VEGF-Produktion von Adipozyten ist eine mögliche Erklärung für die Tatsache, dass die Adipositas durch Curcumin gehemmt wird (Aggarwal, 2010; Alappat &

Awad, 2010; Ejaz, Wu, Kwan, & Meydani, 2009). Da das CSN einen Großteil der VEGF-Produktion reguliert, stellt es ein potentes Ziel von Tumorthérapien dar (Pollmann et al., 2001). Die Adipogenese wird durch ein Netzwerk aus Transkriptionsfaktoren reguliert, welche die Expression von hunderten Proteinen koordinieren, die für die Entstehung der Adipositas verantwortlich sind (X. Huang et al., 2012). Im Zentrum dieses Netzwerkes stehen die zwei Schlüsselregulatoren der Adipozytendifferenzierung, der Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) und die CCAAT/Enhancer-Binding Proteine a and b (C/EBP α und β) (Farmer, 2006). PPAR γ ist ein nukleärer Hormonrezeptor, welcher essentiell für die Adipogenese ist (Koppen & Kalkhoven, 2010; White & Stephens, 2010). C/EBP bezeichnet eine Familie von Transkriptionsfaktoren mit verschiedenen Funktionen (X. Huang et al., 2012). C/EBP α ist ein primärer Transkriptionsfaktor, welcher die Adipogenese vermittelt (X. Huang et al., 2012). Früh im Differenzierungsprozess wird C/EBP β exprimiert, welches ein Transkriptionsfaktor von PPAR γ und C/EBP α ist (X. Huang et al., 2012). Seine Aktivität wird durch CHOP (C/EBP homologous protein) verzögert, eine dominant negative Form der C/EBP-Familie, welche die Adipogenese blockiert (X. Li et al., 2006). CHOP wird vom UPS abgebaut (Batchvarova, Wang, & Ron, 1995; X. Huang et al., 2012; X. Li et al., 2006). Permanente Herunterregulierung des CSN1 führt zu einem Anstieg von CHOP und einer vollständigen Blockierung der Adipogenese, was auf die Schlüsselrolle des CSN bei der Adipozytendifferenzierung hinweist (X. Huang et al., 2012). Wird CHOP durch Piceatannol oder permanente Überexpression induziert, blockiert es die Adipozytendifferenzierung in Form von gehemmter Lipidtröpfchenbildung und verringerter Produktion von VEGF (X. Huang et al., 2012). CHOP inhibiert den Differenzierungsprozess und wird bei metabolischem Stress vermehrt exprimiert (Batchvarova et al., 1995).

Im Folgenden soll genauer auf die Funktion der in dieser Arbeit behandelten Untereinheiten des CSN eingegangen werden.

CSN3-Knockdown in humanen Zellen beschleunigt die Zellproliferation, was darauf hinweist, dass CSN3 die Zellproliferation hemmt (Yoneda-Kato, Tomoda, Umehara, Arata, & Kato, 2005). Es ist wichtig für die Aufrechterhaltung des COP9 Proteinkomplexes und in Mäusen entscheidend für das Überleben von Epiblastenzellen und der damit verbundenen Entwicklung des Embryos nach der Implantation (Yan et al., 2003).

Unter den CSN-Untereinheiten nimmt CSN5 eine besondere Rolle wahr. Es beherbergt nicht nur das katalytische Zentrum der CSN Isopeptidaseaktivität, sondern kann wahrscheinlich in vivo unabhängig vom CSN stabil existieren (N. Wei & Deng, 2003). Alle anderen Untereinheiten sind in vivo als Teil des Holocomplexes stabiler als ihre monomeren Formen (N. Wei et al., 2008). Mehr als jede andere CSN-Untereinheit kann CSN5 zahlreiche zelluläre Regulatoren binden (Richardson & Zundel, 2005; N. Wei & Deng, 2003). Apoptose und Zellproliferation stehen eng

mit CSN5 in Verbindung (N. Wei et al., 2008). CSN5-Knockout-Mäuse zeigen stärkere Apoptose als Knockouts von CSN2, CSN3 und CSN8 (Panattoni et al., 2008; Tomoda, Yoneda-Kato, Fukumoto, Yamanaka, & Kato, 2004). Amplifikation des CSN5 ist mit maligner Transformation und vielen Typen humaner Tumoren assoziiert (Adler et al., 2006; Richardson & Zundel, 2005). Hohe Expression von CSN5 korreliert mit reduzierten p27-Konzentrationen und schlechtem Outcome in Krebspatienten, während Zellen mit niedrigem CSN5 nur wenig proliferieren (Denti, Fernandez-Sanchez, Rogge, & Bianchi, 2006; Tomoda et al., 2005). Darüber hinaus, kann CSN5 die Tumorprogression durch Herunterregulierung von p53 fördern (Bech-Otschir, Seeger, & Dubiel, 2002; X. C. Zhang, Chen, Su, Yang, & Lee, 2008).

CSN8 ist aufgrund seiner Rolle in der Genexpression und Regulation der Rb-Proteine für das Wiedereintreten der Zelle in den Zellzyklus aus der G0-Phase nötig (N. Wei et al., 2008). CSN8-Knockouts können daher nicht anhaltend die Zellteilung durchlaufen (Lykke-Andersen et al., 2003; Menon et al., 2007; Tomoda et al., 2004). Es kommt jedoch nicht zu einem Stop des Zellzyklus in der G1-Phase (Menon et al., 2007; Panattoni et al., 2008). Ein Verlust von CSN8 schränkt die periphere T-Zell-Homeostase ein und führt in Knockout-Mäusen zum Absterben im Embryostadium (M. H. Lee et al., 2011; Menon et al., 2007).

In Säugerzellen werden die Varianten CSN7A und CSN7B aus CSN7-Isoformen gebildet (X. Huang, J. Ordemann, J. Pratschke, & W. Dubiel, 2016). Es konnte gezeigt werden, dass zwei Varianten des CSN7 in LiSa-2 Zellen und Mouse-Embryonen Fibroblasten existieren (X. Huang et al., 2016). Während der Adipozytendifferenzierung von LiSa-2-Zellen steigt CSN7B zusammen mit dem gesamten CSN-Komplex an (X. Huang et al., 2016). Permanente Überexpression von Flag-CSN7B beschleunigt die Adipogenese in LiSa-2-Zellen, was auf eine spezifische Funktion der CSN7B-Variante bei der Stimulierung der Adipogenese hinweist (X. Huang et al., 2016). Herunterregulierung von CSN7A und CSN7B in LiSa-2-Zellen und Mouse-Embryonen Fibroblasten reduziert die adipogene Differenzierung, was demonstriert, dass sowohl CSN7A- als auch CSN7B-Varianten in den Prozess involviert sind (X. Huang et al., 2016).

1.7 Die LiSa-2-Zelllinie

Die LiSa-2-Zelllinie stammt aus gering differenzierten, pleomorphen Liposarkomzellen (Wabitsch et al., 2000). In serumfreiem, adipogenem Medium differenzieren LiSa-2-Zellen langsam und nehmen morphologische Merkmale von Adipozyten an (X. Huang et al., 2012). LiSa-2-Zellen zeigen eine deutliche Ähnlichkeit in der Expression fettgewebstypischer Gene gegenüber isolierten Adipozyten und Präadipozyten (van Beek et al., 2008). Makroskopisch zeichnen sich LiSa-2-Zellen in-vitro durch die Akkumulation multipler kleiner Lipidtröpfchen aus, während Adipozyten in-vivo zur Ausbildung einer großen Fettvakuole neigen (van Beek et al., 2008). Trotz geringer Unterschiede im Lipidmetabolismus zeigt die LiSa-2-Zelllinie typische biochemische Charakteristika differenzierter, menschlicher Adipozyten was sie zu einem geeigneten in-vitro

Modell zur Erforschung der Adipozytendifferenzierung und des Adipozytenstoffwechsels macht (van Beek et al., 2008; Wabitsch et al., 2000).

2 FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG

Es soll der Einfluss bariatrischer Operationen auf die Konzentrationen des VEGF-A und des Apelin-12 im Serum adipöser Patienten untersucht werden. Außerdem soll ermittelt werden, welchen Einfluss VEGF und Apelin-12 auf die in-vitro-Adipogenese haben.

Wie wirkt sich die bariatrische Chirurgie auf den BMI von Adipositas-Patienten aus?

Anhand des BMI-Verlaufs der Patienten vom Zeitpunkt 0 bis 24 Monate nach bariatrischer Operation wird ermittelt, ob das Therapieziel einer signifikanten Gewichtsreduktion erreicht wird.

Welchen Einfluss hat die bariatrische Chirurgie auf die Konzentration des VEGF-A und des Apelin-12 im Serum von Adipositas-Patienten?

Mittels spezifischer ELISAs soll der Frage nachgegangen werden, wie sich nach bariatrischem Eingriff die Serumkonzentration von VEGF-A und Apelin-12 verändern. Es wird angenommen, dass ein postoperatives Absinken der VEGF-A-Konzentration mit einem verminderten Risiko Adipositas-assoziiierter Komorbiditäten einhergeht. Es sollen neue Erkenntnisse über die weitgehend unerforschte Funktion des Apelin-12 im Rahmen der Adipositas gewonnen werden.

Besteht ein Zusammenhang zwischen dem BMI und der VEGF-A-Serumkonzentration oder der Apelin-12-Serumkonzentration der Patienten?

Um zu ergründen, ob ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Änderung des BMI und der Serumkonzentration von VEGF-A und Apelin-12 nach bariatrischer Operation besteht, wird eine Regressionsanalyse durchgeführt.

Weisen Subgruppen der untersuchten Patientenpopulation Unterschiede im Verlauf des BMI sowie der Serumkonzentration von VEGF-A und Apelin-12 auf?

Anhand des Vorliegens präoperativer Komorbiditäten, des Geschlechts sowie der Operationsart wurde die Patientenpopulation in Gruppen unterteilt. Diese wurden auf Unterschiede in der Höhe des BMI sowie der VEGF-A- und Apelin-12-Konzentration im postoperativen Verlauf untersucht.

Haben VEGF-A und Apelin-12 Einfluss auf die in-vitro-Adipogenese von LiSa-2-Zellen?

Im Rahmen der in-vitro-Adipogenese von LiSa-2-Zellen wird die Wirkung des VEGF-A, eines VEGF-Inhibitors sowie des Apelin-12 auf die Adipozytendifferenzierung anhand von Western Blots und Oil-Red-O-Adipozyten-Färbungen analysiert.

Sind die Serumkonzentrationen des VEGF-A und Apelin-12 geeignete Indikatoren zur Evaluierung des Erfolgs der bariatrischen Chirurgie?

Abschließend soll beurteilt werden, ob VEGF-A und Apelin-12 zur Beurteilung des Therapieerfolgs bariatrischer Eingriffe potentielle Zielparameter darstellen.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 Zellkulturmedien und Zusätze

Tabelle 1: benutzte Zellkulturmedien und Zusätze

| Zellkulturmedium/Zusatz | Hersteller |
|----------------------------|---|
| Biotin (33 µM) | Sigma-Aldrich, St. Louis, USA |
| Dulbecco's MEM | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| FCS 10% | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| Ham's (F12) | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| HEPES (15 mM) | Sigma-Aldrich, St. Louis, USA |
| Iscove's Medium | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| L-Glutamin | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| NaHCO ₃ (15 mM) | Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| Pantothenat (17 µM) | Sigma-Aldrich, St. Louis, USA |
| Penicillin (100 U/ml) | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| RPMI 1640 | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| Streptomycin (100 µg/ml) | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| Transferrin (10 µg/ml) | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| 0,5% Trypsin-EDTA (10x) | Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA |
| PBS Dulbecco | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| Phenolrot (15 mg/l) | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |

3.1.2 ELISA-Kits

Tabelle 2: benutzte Kits

| Kit | Hersteller |
|--------------------------------|---|
| ELISA Kit for Apelin-12 (AP12) | Cloud-Clone Corp., Wuhan, Hubei, China |
| VEGF ELISA Kit (Human) | Aviva Systems Biology Corp., San Diego, USA |

3.1.3 Antikörper

Tabelle 3: benutzte Antikörper

| Antikörper gegen | Hersteller | Verdünnung | Herkunft |
|-------------------|-------------------|------------|-----------|
| CSN3 | AG Dubiel, Berlin | 1:2000 | Kaninchen |
| CSN5 | Gene Tex | 1:1000 | Maus |
| CSN8 | Bio Mol | 1:1000 | Kaninchen |
| CSN7B | Santa Cruz | 1:200 | Ziege |
| PPAR _γ | Santa Cruz | 1:500 | Maus |
| γ-Tubulin | Santa Cruz | 1:2000 | Maus |
| Cul1 | Santa Cruz | 1:1000 | Maus |
| Cul3 | BD Biosciences | 1:1000 | Maus |
| CHOP | Santa Cruz | 1:1000 | Maus |

3.1.4 Peptide

Tabelle 4: benutzte Peptide

| Peptid | Hersteller |
|-------------------------------------|--|
| Recombinant human VEGF 165A protein | Abcam plc, Cambridge, United Kingdom |
| VEGF Blocking Peptide | Novus Biologicals, Littleton, USA |
| Apelin-12 Peptide | Rockland Immunochemicals Inc. Limerick, Pennsylvania, USA |

3.1.5 Puffer und Lösungen

Tabelle 5: benutzte Puffer und Lösungen

| Puffer | Zusammensetzung |
|-----------------------------|---|
| Blockierungslösung | 100 ml PBS-T mit 5% Magermilchpulver |
| Entwicklerlösung | 50% X-OMA Ex II Lösung A, 5% X-OMA Ex II Lösung B, 0,025% X-OMA Ex II Lösung C Aqua dest. zu 2 l |
| Fixierlösung | 40% RPX-OMAT LO Lösung A, 10% RPX-OMAT LO Lösung B Aqua dest. zu 1 l |
| 10x PBS Dulbecco | 80 g NaCl, 2 g KCl, 2,4 g KH ₂ PO ₄ , 17,8 g Na ₂ HPO ₄ •2H ₂ O, 1000 ml dH ₂ O |
| PBS-T | 1 x PBS, 0,1% TWEEN 20 |
| 1x Ponceau Färbung | 0,1% Ponceau, 5% Essigsäure |
| Roti ®-Load 1, 4 x Konz. | im Verhältnis 1:4 in die jeweilige Probe |
| 5x SDS-PAGE Puffer | 75,5 g Tris, 360 Glycin, 25 g SDS, 5000 ml dH ₂ O |
| Triplelysatpuffer (TLB) | 1 M Tris HCl (pH 8,0), 3 M NaCl, NaN ₃ , 10% SDS, NP40, Natriumdeoxycholat |
| Tris-HCl | 1,5 M Tris, HCl, dH ₂ O, pH 8,8 0,5 M Tris, HCl, dH ₂ O, pH 6,8 |
| 1x Western Blot Puffer | 144 g Glycin, 30,4 g Tris, 100 ml Methanol, 900 ml dH ₂ O |
| Oil Red O Stammlösung | 300 mg Oil Red O, 100 ml 99% Isopropanol |
| Oil Red O Arbeitslösung | 3:2 Oil Red O Stammlösung/ dH ₂ O |
| Serumfreies Medium | DMEM/Ham's F12 (1:1) mit 10 ug/ml Transferin 15 mM NaHCO ₃ 15 mM HEPES 33 uM Biotin 17 uM Pantothenate 100 U/ml Penicillin 100 ug/ml Streptomycin |
| Serumhaltiges Flüssigmedium | Iscove/RPMI (4:1) mit 10% FCS Glutamin Penicillin Streptomycin |

3.1.6 Chemikalien

Tabelle 6: benutzte Chemikalien

| Chemikalie | Hersteller |
|------------------------------|---|
| Ammoniumperoxodisulfat (APS) | Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland |

| | |
|--|---|
| Magermilchpulver | Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| Methanol | Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| PBS Dulbecco w/o Mg ²⁺ w/o Ca ²⁺ | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| Polyacrylamid (PAA) | Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland |
| Phenylmethylsulfonyl Fluoride (PMSF) | Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| Ponceau | Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| Roti®-Load 1, 4x Konz. | Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland |
| SDS | SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland |
| Tetramethylethyldiamin (TEMED) | Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| Tris | Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| 0,05% Trypsin-EDTA | Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA |
| TWEEN | Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| PBS Dulbecco w/o Mg ²⁺ Ca ²⁺ | Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland |
| Oil Red O | Sigma-Aldrich, St. Louis, USA |

3.1.7 Geräte

Tabelle 7: benutzte Geräte

| Gerät | Hersteller |
|--|---|
| Blotting Membran | VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland |
| Campinggas Butan | Camping Gaz GmbH, Hattersheim, Deutschland |
| Sicherheitswerkbank "Herasafe" | Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA |
| Falcon tubes 15 ml, 50 ml | Greiner bio-one, Kremsmünster, Österreich |
| Glasplattenhalterungssystem | Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland |
| Blotting Schwämme | Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland |
| SDS-PAGE System "Mini-PROTEAN® 3 cell" | Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland |
| Gelelektrophorese-Glasplatten 0,75 mm | Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland |
| Inkubator Hera cell | Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland |
| Kämme, 15 well, 0,75 mm | Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland |
| Kodak X-OMAT Medical X-ray Film | Sigma-Aldrich, St. Louis, USA |
| Magnetrührer MR3000 | Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach, Deutschland |
| Mikroskop Wilovert Standard PH 20 | Helmut Hund GmbH, Wetzlar, Deutschland |
| Minizentrifuge GMC-060 | LMS Co., Ltd., Tokyo, Japan |
| Zählkammer Neubauer - Improved | LO - Laboroptik GmbH, Friedrichshof, Deutschland |
| Nitrocellulosetransfermembran Amersham® Protran® | GE Healthcare Life Science, Buckinghamshire, UK |
| Pasteurpipetten | Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland |
| Pipette Boy "Pipetus®" | Hirschmann Laborgeräte, Eberstadt, Deutschland |
| Pipettenspitze 10 µl, 200 µl, 1000 µl | Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland |
| Micro tubes 1,5 ml, 2 ml | Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland |

| | |
|--|---|
| Sarogold® Pro Folie | Saropack AG, Rorschach, Deutschland |
| Schüttler "Unimax 2010" | Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach, Deutschland |
| Serologische Pipetten 2 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml | Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland |
| Spectra Max® M2 | Molecular Devices, LLC., Sunnyvale, USA |
| Spritzenfilter | Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA |
| Thermoinkubator Heracell | Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland |
| Thermometer | Heinemann Thermometer, Kreuzwertheim, Deutschland |
| Thermomixer compact | Sigma-Aldrich, St. Louis, USA |
| Tischzentrifuge Heraeus Fresco 21 | Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA |
| Vortexer Heidolph REAX control | Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach, Deutschland |
| Laborwaage | Sartorius AG, Göttingen, Deutschland |
| Feinwaage | Sartorius AG, Göttingen, Deutschland |
| Western Blot System | Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland |
| X-ray Kassette | Kisker Biotech GmbH & Co. KG, Steinfurt, Deutschland |
| Zellkulturplatte, 6-well | Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland |
| Zellkulturschale, 145 mm x 20 mm | Sigma-Aldrich, St. Louis, USA |
| Zentrifuge: Megafuge 1.0R ThermoScientific | Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA |

3.1.8 Software

Tabelle 8: benutzte Software

| Software | Hersteller |
|----------------------------------|---|
| SoftMax® Pro v5.0.1 | Molecular Devices, LLC. (Sunnyvale, USA) |
| IBM® SPSS® Statistics Version 23 | IBM Corp. (New York, USA) |
| GraphPad Prism Version 6 | GraphPad Software, Inc. (La Jolla, USA) |
| ImageJ 1.52a | National Institute of Health (Bethesda, U.S.) |

3.2 Methoden

3.2.1 Studienpopulation

Insgesamt 30 morbid adipöse Patienten (Adipositas per magna), alle mit einem BMI über 38 kg/m² (durchschnittlicher BMI 51,3 ±9,1) wurden in die Studie einbezogen. Die Studienpopulation setzt sich aus 18 weiblichen und 12 männlichen Individuen zusammen. Das Alter betrug zum Zeitpunkt des präoperativen Beratungsgesprächs zwischen 20 und 64 Jahren (durchschnittliches Alter 43,6 ±11,7). Jeder Patient erhielt entweder eine laparoskopische Magenbypass- (LGB) oder eine Schlauchmagenoperation (LSG). 15 Patienten litten vor der bariatrischen Operation unter einem Diabetes mellitus Typ 2, bei 25 Patienten lag eine arterielle Hypertonie vor und 14 Patienten hatten bereits die Diagnose eines obstruktiven Schlafapnoesyndroms erhalten. Für das gesamte Studienprotokoll lag die Zustimmung der Ethik-Kommission vor. Die Patienten gaben nach umfänglicher Aufklärung Ihre schriftliche Zustimmung zur Teilnahme an der Studie ab.

Tabelle 9: Charakteristika der Studienpopulation zu den vier Untersuchungszeitpunkten. Angaben jeweils als „Durchschnitt (±Standardabweichung)“ oder „Anzahl n (Prozent)“. Angaben zu Komorbiditäten beziehen sich zu allen vier Zeitpunkten auf das Vorliegen der jeweiligen Komorbidität zum Zeitpunkt 0.

| | Zeitpunkt 0 | 6 Monate | 12 Monate | 24 Monate |
|---------------------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| n | 30 (100%) | 25 (83,3%) | 21 (70,0%) | 12 (40,0%) |
| fehlende Werte | 0 (0%) | 5 (16,7%) | 9 (30,0%) | 18 (60,0%) |
| Follow-Up-Zeit in m | 0 | 6,5 ±1,3 | 12,3 ±1,5 | 24,1 ±0,3 |
| Alter in Jahren | 43,57 (±11,69) | 44,10 (±11,67) | 45,52 (±11,06) | 48,25 (±11,54) |
| Komorbiditäten | | | | |
| <i>Diabetes mellitus Typ 2</i> | 15 (50,0%) | 12 (48,0%) | 13 (61,9%) | 7 (58,3%) |
| <i>arterielle Hypertension</i> | 25 (83,3%) | 21 (84,0%) | 18 (85,7%) | 9 (75,0%) |
| <i>Schlafapnoesyndrom</i> | 14 (46,7%) | 11 (44,0%) | 10 (47,6%) | 6 (50,0%) |
| Geschlecht | | | | |
| <i>weiblich</i> | 18 (60,0%) | 14 (56,0%) | 11 (52,4%) | 7 (58,3%) |
| <i>männlich</i> | 12 (40,0%) | 11 (44,0%) | 10 (47,6%) | 5 (41,7%) |
| Operationsart | | | | |
| <i>LGB</i> | 12 (40,0%) | 9 (36,0%) | 8 (38,1%) | 4 (33,3%) |
| <i>LSG</i> | 18 (60,0%) | 16 (64,0%) | 13 (61,9%) | 8 (66,7%) |
| BMI in kg/m ² | 51,33 (±9,14) | 39,88 (±7,56) | 37,57 (±7,77) | 37,75 (±7,99) |
| VEGF-A in pg/ml | 189,47 (±94,14) | 140,92 (±97,91) | 119,86 (±68,13) | 110,75 (±66,25) |
| Apelin-12 in pg/ml | 482,63 (±364,94) | 1277,04 (±1035,42) | 945,71 (±701,30) | 2458,33 (±1731,34) |

Tabelle 10: Komorbiditäten zum Zeitpunkt 0. Angaben jeweils als „Durchschnitt (±Standardabweichung)“ oder „Anzahl n (Prozent)“. DM2=Diabetes mellitus Typ, AH=arterielle Hypertension, SA=Schlafapnoe, p=p-Wert.

| | DM2 | kein DM2 | p | AH | keine AH | p | SA | keine SA | p |
|------------------|---------------------|----------------------|-------|---------------------|---------------------|-------|---------------------|---------------------|-------|
| n | 15 (50,0%) | 15 (50,0%) | | 25 (83,3%) | 5 (16,7%) | | 14 (46,7%) | 16 (53,3%) | |
| Alter | 48,80 (±9,96) | 38,33 (±11,19) | 0,017 | 43,32 (±12,11) | 44,80 (±10,45) | 0,845 | 48,36 (±8,76) | 39,38 (±12,55) | 0,032 |
| BMI | 50,73 (±9,84) | 51,93 (±8,68) | 0,633 | 51,28 (±8,89) | 51,60 (±11,48) | 0,978 | 55,79 (±9,61) | 47,44 (±6,84) | 0,014 |
| VEGF-A | 174,20 (±75,11) | 204,73 (±110,53) | 0,372 | 189,64 (±97,74) | 188,60 (±83,22) | 0,911 | 185,29 (±75,83) | 193,13 (±110,09) | 0,755 |
| Apelin-12 | 389,27 (±208,27) | 1804,00 (±462,42) | 0,350 | 426,04 (±279,74) | 765,60 (±613,16) | 0,089 | 555,71 (±399,44) | 418,69 (±331,47) | 0,197 |

Tabelle 11: Verteilung der Geschlechter zum Zeitpunkt 0. Angaben jeweils als „Durchschnitt (\pm Standardabweichung)“ oder „Anzahl n (Prozent)“. w=weiblich, m=männlich.

| | Geschlecht | | p |
|------------------|------------------------|------------------------|-------|
| | w | m | |
| n | 18 (60,0%) | 12 (40,0%) | |
| Alter | 40,39 (\pm 11,66) | 48,33 (\pm 10,43) | 0,044 |
| BMI | 49,22 (\pm 8,59) | 54,50 (\pm 9,39) | 0,138 |
| VEGF-A | 177,28 (\pm 101,19) | 207,75 (\pm 83,25) | 0,133 |
| Apelin-12 | 541,22 (\pm 440,43) | 394,75 (\pm 193,14) | 0,498 |

Tabelle 12: Verteilung der Operationsart zum Zeitpunkt 0. Angaben jeweils als „Durchschnitt (\pm Standardabweichung)“ oder „Anzahl n (Prozent)“. LGB=Laparoscopic Gastric Bypass, LSG=Laparoscopic Sleeve Gastrectomy.

| | Operationsart | | p |
|------------------|------------------------|------------------------|-------|
| | LGB | LSG | |
| n | 12 (40,0%) | 18 (60,0%) | |
| Alter | 42,67 (\pm 10,31) | 44,17 (\pm 12,78) | 0,611 |
| BMI | 47,25 (\pm 7,19) | 54,06 (\pm 9,46) | 0,065 |
| VEGF-A | 169,75 (\pm 58,63) | 202,61 (\pm 111,52) | 0,596 |
| Apelin-12 | 359,33 (\pm 221,17) | 564,83 (\pm 421,50) | 0,175 |

3.2.2 Probengewinnung

Für die spätere Ermittlung der VEGF-A- und Apelin-12-Konzentrationen im Serum wurde den Patienten präoperativ sowie 6 (6,5 \pm 1,3), 12 (12,3 \pm 1,5) und 24 (24,1 \pm 0,3) Monate nach Operation Blut entnommen. Insgesamt wurden 88 Blutproben erworben. 32 potentiell nutzbare Proben konnten aufgrund von Nichterscheinen der Patienten während der Termine zur Nachfolgeuntersuchung nicht abgenommen werden. Die Blutentnahme erfolgte aus einer Armvene mithilfe eines Stauschlauchs während des ärztlichen Aufklärungsgesprächs mit dem Patienten vor dem Eingriff sowie während der genannten Termine zur Nachkontrolle. Das Blut wurde in einem BD Vacutainer Serum-Röhrchen (6 ml) aufgefangen. Dabei handelt es sich um ein Kunststoffröhrchen, das einen Gerinnungsfaktor sowie Silicatpartikel zur beschleunigten Gerinnung enthält. Außerdem enthält das Gefäß ein Gel, welches sich bei der Zentrifugation zwischen das Serum und das koaguliertem Blut setzt und so die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination der Probe oder des Abbaus von Metaboliten senkt. (Becton Dickinson GmbH, 2017) Im Anschluss wurde eine Gerinnungszeit von 30 bis 45 min bei Raumtemperatur eingehalten und das Blut bei 2500 x g für 10 min bei 4°C zentrifugiert. Das Serum wurde abpipettiert, in separate Aliquote aufgeteilt und bei -80°C zur Lagerung eingefroren. Alle Messungen wurden zweifach durchgeführt.

3.2.3 Proteinbiochemische Methoden

3.2.3.1 Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Die Konzentration des VEGF-A wurde mithilfe eines ELISA-Kits der Firma "Aviva Systems Biology" für humanes VEGF-A durchgeführt. Es besitzt eine intra- und interassay-Variation unter 10%. Die Messungen wurden anhand des Herstellerprotokolls mit frisch aufgetauten und unverdünnten Serumproben durchgeführt. Die Konzentration des VEGF-A wurde bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. (AVIVA SYSTEMS BIOLOGY, 2014) Eine aufgetaute Serumprobe wurde sowohl für die Messung des VEGF-A als auch die Bestimmung der Konzentrationen des Apelin-12 im Serum der Patienten genutzt. Letztere wurde mithilfe eines ELISA-Kits der Firma "Cloud-Clone Corp." für humanes Apelin-12 durchgeführt. Es besitzt eine intra- und interassay Variation unter 12%. Die Messung wurde anhand des Herstellerprotokolls durchgeführt. (CLOUD-CLONE CORP., 2013). Da das bei -80°C eingefrorene Serum der Adipositaspatienten zur Vermeidung von auftaubedingten Messungenauigkeiten zwischen den Proben nur einmal aufgetaut werden konnte, wurde eine Serumprobe sowohl im Rahmen des VEGF-A- als auch des Apelin-12-ELISAs analysiert.

3.2.3.1.1 VEGF-ELISA

Der konzentrierte Assay-Standard wurde mit 1,0 ml Standard/Sample Diluent versetzt. Diese Stammlösung mit einer Konzentration von 2000 pg/ml wurde vor Herstellung weiterer Verdünnungen 15 Minuten bei Raumtemperatur ruhen gelassen und im Anschluss leicht geschwenkt, um eine vollständige Lösung aller Bestandteile zu erreichen. Je 500 µl der Stammlösung wurden in vier Microtubes pipettiert, welche zuvor mit jeweils 500 µl Standard/sample Diluent befüllt worden waren. So wurde eine 2-fache Verdünnungsreihe des Assay-Standards hergestellt (2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml und 125 pg/ml). Jedes Microtube wurde gründlich gemischt, bevor der nächste Verdünnungsschritt vollzogen wurde. Die Pipettenspitzen wurden vor jedem Verdünnungsschritt gewechselt, um Ungenauigkeiten der Standard-Konzentrationen zu vermeiden. Als höchste Standardkonzentration diente die Lösung mit 2000 pg/ml und das pure Standard/sample Diluent als Null-Standard (0 pg/ml). Anschließend wurden je 100 µl jeder Lösung der Standard-Verdünnungsreihe in die dafür vorgesehenen Wells auf der ELISA-Platte pipettiert. Vor Befüllung der restlichen Wells mit den Serumproben wurden diese in ihrem Microtube jeweils zehn Mal per Hand um 180 Grad hin- und hergeschwenkt um eine homogenere Verteilung des Serums zu erreichen. Pro Patient bzw. Serumprobe wurden zwei Wells mit jeweils 100 µl Serum befüllt. Die Assay-Platte wurde im Anschluss für 10 min auf einen Schüttler gestellt und danach mit einer Plastikfolie abgedeckt über Nacht bei 4°C inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Wells durch Abgießen entleert, mit 300 µl Wasch-Puffer befüllt und für 5 min auf den Schüttler gestellt. Dieser

Vorgang wurde drei Mal wiederholt. Ein Falcon-Tube wurde mit im Verhältnis 1:100 verdünntem Biotin-Conjugat-Antikörper befüllt. Je Well wurden 100 µl des Biotin-Conjugat-Antikörpers pipettiert. Mit einer Plastikfolie abgedeckt wurde die Platte für eine Stunde bei 37°C inkubiert. Der bereits beschriebene Waschprozess wurde erneut wiederholt. Ein Falcon-Tube wurde mit im Verhältnis 1:100 verdünntem Streptavidin-HRP befüllt. Mit einer Plastikfolie abgedeckt wurde die Platte für eine halbe Stunde bei 37°C inkubiert. Der bereits beschriebene Waschprozess wurde erneut wiederholt. Nun wurden 100 µl Substrat-Lösung in jedes Well hinzugefügt. Die ELISA-Platte wurde für 10 bis 20 Minuten bei 37°C inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden in jedes Well 100 µl Stop-Lösung pipettiert. Die optische Dichte jedes Wells wurde nun mithilfe eines Microplatten-Lesegeräts bei einer Wellenlänge von 450 nm ermittelt. (AVIVA SYSTEMS BIOLOGY, 2014)

3.2.3.1.2 Apelin-12-ELISA

Der konzentrierte Assay-Standard wurde mit 1,0 ml Standard/sample Diluent versetzt. Diese Stammlösung mit einer Konzentration von 6000 pg/ml wurde vor Herstellung weiterer Verdünnungen 10 Minuten bei Raumtemperatur ruhen gelassen und im Anschluss leicht geschwenkt, um eine vollständige Lösung aller Bestandteile zu erreichen. Je 300 µl der Stammlösung wurden in fünf Microtubes pipettiert, welche zuvor mit jeweils 600 µl Standard/sample Diluent befüllt worden waren. So wurde eine 3-fache Verdünnungsreihe des Assay-Standards hergestellt (6000 pg/ml, 2000 pg/ml, 666,67 pg/ml, 222,22 pg/ml und 74,07 pg/ml). Jedes Microtube wurde gründlich gemischt, bevor der nächste Verdünnungsschritt vollzogen wurde. Die Pipettenspitzen wurden vor jedem Verdünnungsschritt gewechselt um Ungenauigkeiten der Standard-Konzentrationen zu vermeiden. Als höchste Standardkonzentration diente die Lösung mit 6000 pg/ml und das pure Standard Diluent als Null-Standard (0 pg/ml). Anschließend wurden je 50 µl jeder Lösung der Standard-Verdünnungsreihe in die dafür vorgesehenen Wells auf der ELISA-Platte pipettiert. Vor Befüllung der restlichen Wells mit den Serumproben wurden diese in ihrem Microtube jeweils zehn Mal per Hand um 180 Grad hin- und hergeschwenkt um eine homogenere Verteilung des Serums zu erreichen. Pro Patient bzw. Serumprobe wurden zwei Wells mit jeweils 50 µl Serum befüllt. Sofort danach wurden 50 µl Detection Reagent A in jedes Well pipettiert. Die Assay-Platte wurde im Anschluss für 10 min auf einen Schüttler gestellt und danach mit einer Plastikfolie abgedeckt für eine Stunde bei 37°C inkubiert. Danach wurden die Wells durch Abgießen entleert, mit 300 µl Wasch-Puffer befüllt und für 5 min auf den Schüttler gestellt. Dieser Vorgang wurde drei Mal wiederholt. Ein Falcon-Tube wurde mit im Verhältnis 1:100 verdünntem Detection Reagent B befüllt. Je Well wurden 100 µl des Detection Reagent B pipettiert. Mit einer Plastikfolie abgedeckt wurde die Platte für 30 min bei 37°C inkubiert. Der bereits beschriebene Waschprozess wurde erneut wiederholt, jedoch fünffach. Nun wurden 50 µl Substrat-Lösung in jedes Well hinzugefügt. Die ELISA-Platte wurde

für 15 bis 25 Minuten bei 37°C inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden in jedes Well 50 µl Stop-Lösung pipettiert. Die optische Dichte jedes Wells wurde nun mithilfe eines Microplatten-Lesegeräts bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen (CLOUD-CLONE CORP., 2013) und mit der Software SoftMax® Pro v5.0.1 von Molecular Devices, LLC. (Sunnyvale, USA) ermittelt.

3.2.3.2 SDS-PAGE

Zur Aufspaltung der Proteine anhand ihrer Masse und Ladung wurde die SDS-PAGE (SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese) verwendet. Das Gel besteht aus einem sogenannten Resolving- (Trenn-) und einem Stacking- (Sammel-) Gel. Die Zusammensetzung beider Gele ist im Folgenden beschrieben:

Tabelle 13: Zusammensetzung des Trenn- und Sammelgels für SDS-PAGE

| Resolving-Gel (Trenngel) | Stacking-Gel (Sammelgel) |
|---------------------------------|---------------------------------|
| 0,05 ml 10% APS | 0,03 ml 10% APS |
| 3,33 ml PAA | 0,5 ml PAA |
| 0,1 ml 10% SDS | 0,05 ml 10% SDS |
| 0,01 ml TEMED | 0,006 ml TEMED |
| 2,5 ml Tris 1,5 M (pH 8,8) | 1,25 ml Tris 0,5 M (pH 6,8) |
| Add 10 ml H ₂ O | Add 3 ml H ₂ O |

Anschließend wurden die Lysate mit unverdünntem Ladepuffer (Roti®-Load) in einem Verhältnis von 1:4 gemischt und bei 95°C für 5 min erhitzt. Je 12 µl der Proben wurden in die zugehörigen Geltaschen pipettiert. Zur Einschätzung des Molekulargewichts der Probenbestandteile im SDS-PAGE wurde der Marker "PAGE-Ruler, Prestained Protein Ladder" der Firma Fermentas verwendet. Die Trennung der Proteine erfolgte für 10 Minuten bei 90mV und anschließend für 60 Minuten bei 150 mV angelegter Spannung in unverdünntem SDS-PAGE-Puffer.

3.2.3.3 Western-Blot

Die im SDS-PAGE-Gel aufgetrennten Proteine wurden in einer unverdünnten Transferpuffer-Lösung auf eine Nitrozellulosemembran bei 250 mA auf Eis geblottet. Das Gel zusammen mit der Nitrozellulosemembran wurde von zwei Lagen Blottingpapier beidseits umgeben.

3.2.3.4 Ponceau-Färbung

Zum Nachweis der Übertragung der Proteine auf die Nitrozellulosemembran wurde diese reversibel mit Ponceaulösung 5 min lang inkubiert. Eine Kopie der gefärbten Membran wurde an einem Kopierer erstellt. In Anschluss wurde die Färbung mit unverdünnter PBS-T-Lösung für 5 min ausgewaschen.

3.2.3.5 Blockieren

Zur Blockierung unspezifischer Bindungsstellen wurde die Nitrozellulosemembran für 1 h in 100 ml Blockierungslösung auf einem Rüttler bei Raumtemperatur inkubiert. Die Blockierungslösung setzt sich aus 5 g Magermilchpulver und 100 ml PBS-T zusammen.

3.2.3.6 Immundetektion

Nach dem Blockieren wurde die Membran für 2 h mit dem Primärantikörper und für 1 h mit dem Sekundärantikörper inkubiert. Beide Antikörper wurden in 5% Blockierungslösung verdünnt. Auf jede Inkubation mit dem entsprechenden Antikörper folgte ein 5-minütiger Waschvorgang mit unverdünntem PBS-T, der drei Mal wiederholt wurde.

3.2.3.7 Entwicklung

Die Nitrozellulosemembran wurde mit der Lösung Pierce® ECL Western Blotting Substrate entsprechend des Herstellerprotokolls für 1 min inkubiert. Der Nachweis der Proteinbanden erfolgte auf Kodak UV-Filmen anhand verschiedener Belichtungszeiten.

3.2.3.8 Densitometrie

Um die relativen Veränderungen in der Konzentration der CSN-Untereinheiten darzustellen, wurden die Western Blots gescannt und mit Hilfe der ImageJ Software des National Institute of Health (Bethesda, USA) densitometrisch ausgewertet. Die mit ImageJ untersuchten Banden der wurden mit der Ladekontrolle γ -Tubulin sowie untereinander verglichen.

3.2.4 Statistische Auswertung

Die gleichen Patienten der Ausgangspopulation wurden zum Zeitpunkt 0 sowie zu drei postoperativen Zeitpunkten untersucht. Die Messwerte wurden den jeweiligen Patienten anhand ihrer anonymisierten Kennziffer zugeordnet. Die Stichproben wurden auf Verteilung und Skalenniveau untersucht. Die Normalverteilung wurde mittels der Tests nach Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk sowie anhand der grafischen Auswertung im Histogramm ermittelt. Bei Vorliegen verbundener, verteilungsfreier, intervallskalierter Stichproben in einem mehr als zweistufigen Experiment wurde zur Überprüfung eines signifikanten Unterschiedes des BMI, der VEGF- und Apelin-12-Konzentration zwischen den postoperativen Untersuchungszeitpunkten und dem Zeitpunkt 0 der nicht-parametrische Friedman-Test verwendet, um einen über die Stichproben hinweg existierenden Effekt nachzuweisen. Um genauer zu ermitteln, zwischen welchen Stichproben ein Unterschied besteht, wurde post-hoc bei Nachweis eines existierenden Effektes bei verbundenen, verteilungsfreien, intervallskalierten Stichproben ein paarweiser Vergleich der Gruppen mithilfe des Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtests und zur Neutralisierung der

Alpha-Fehler-Kumulierung eine Korrektur nach Bonferroni durchgeführt. (Benavoli, Corani, & Mangili, 2016; Pereira, Afonso, & Medeiros, 2015; Sheldon, Fillyaw, & Thompson, 1996) Als Nullhypothese H_0 wurde jeweils formuliert, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den Variablen vorliegt oder diese gleich sind, mit dem Ziel, diese Nullhypothese zu verwerfen. Um festzustellen, ob ein Zusammenhang der Änderung des BMI- mit der Veränderung der VEGF-A- und Apelin-12-Konzentration besteht, wurde nach Überprüfung der Voraussetzungen eine Regressionsanalyse durchgeführt und bei signifikantem Zusammenhang die Effektstärke r berechnet. Um zu überprüfen, ob zwischen den nach Komorbiditäten, Geschlecht und Operationstechnik geordneten Subgruppen ein Unterschied des BMI, der VEGF-A- und Apelin-12-Konzentration zu den jeweiligen Messzeitpunkten besteht, wurde nach Prüfung der Voraussetzungen bei Vorliegen unabhängiger, verteilungsfreier und mindestens ordinalskaliertes Stichproben der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Um innerhalb der jeweiligen Gruppen zu prüfen, ob sich die erhobenen Messwerte zwischen den postoperativen Untersuchungszeitpunkten und dem Zeitpunkt 0 unterscheiden, wurde – nach Überprüfung der Voraussetzungen und vorausgehender Analyse wie oben beschrieben – ein Wilcoxon-Test durchgeführt. Ein P-Wert von $P < 0,05$ wurde als signifikant gewertet. Die statistischen Analysen erfolgten mithilfe der Software „IBM SPSS Statistics Version 23“ der Firma „IBM“ (New York, USA). Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mithilfe der Software "GraphPad Prism 8" der Firma "GraphPad Software Inc." (La Jolla, USA).

3.2.5 Zellkultur

3.2.5.1 Kultivierung der LiSa-2-Zellen

LiSa-2-Zellen wurden für einen Tag in 2 ml Iscove/RPMI-Flüssigmedium (4:1) mit 10% FCS, Glutamin und Penicillin-Streptomycin je Well in einem Inkubator bei Standardbedingungen von 37°C und 5% CO₂ in einer 6-Well-Platte kultiviert. Das Medium wurde mit 10 % hitzeinaktiviertem FCS, 2 mM L- Glutamin, 100 µg/ml Streptomycin und 100 U/ml Penicillin versetzt. Am zweiten Tag wurde das Medium durch 2 ml serumfreies DMEM/Hams's F12 Medium je Well ersetzt und das jeweilige Peptid hinzugefügt. Das Medium wurde danach alle drei Tage erneuert und das jeweilige Peptid neu hinzugegeben. Es wurden drei 6-Well-Platten angelegt, sodass die Zellen nach 1, 8 und 15 Tagen untersucht werden konnten. Jeweils drei Wells pro Platte wurden mit Peptid inkubiert. Die drei übrigen Wells dienten als Negativ-Kontrolle. Nachfolgend sind die Zellkonzentrationen der jeweiligen Inkubationszeiträume abgebildet.

Tabelle 14: Zellkonzentrationen mit Inkubationszeiträumen der LiSa-2-Zellkulturen

| | Platte 1 | Platte 2 | Platte 3 |
|---------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Inkubationszeit | 15 Tage | 8 Tage | 1 Tag |
| Zellkonzentration je Well | 0,1 x 10 ⁶ | 0,2 x 10 ⁶ | 0,5 x 10 ⁶ |

3.2.5.2 Inkubation der LiSa-2-Zellen

Die Zellen wurden mit unverdünnter PBS-Lösung gewaschen, mit Trypsin für 5 min bei 37 °C im Inkubator vom Plattenboden gelöst und in ein Falcon-Tube pipettiert. Anschließend wurde die Suspension bei 1000 rpm und 23 °C für 5 min zentrifugiert. Mit einer Pasteur-Pipette wurde der Überstand abgesaugt und mit 3 ml Serum-containing Medium versetzt. Mithilfe einer Neubauer-Zählkammer wurde die Zellzahl anhand des in Medium gelösten Zellpellets bestimmt. Nun wurden die Zellen in den oben genannten Konzentrationen auf 6-Well-Platten ausgesät.

3.2.5.3 Inkubation der LiSa-2-Zellen mit VEGF-A-Inhibitor

Bei dem VEGF-A-Inhibitor handelt es sich um ein Blocking-Peptid, welches spezifisch an einen VEGF-A-spezifischen Antikörper der Firma Novus Biologicals bindet. Das Blocking-VEGF-A aktiviert jedoch nicht den VEGF-A-Rezeptor. Das Peptid konkurriert mit dem autokrin freigesetzten VEGF-A der LiSa-2-Zellen um die Bindungsstellen an VEGF-A-spezifischen Rezeptoren. Es kann somit als kompetitiver Inhibitor des VEGF-A angesehen werden. Am zweiten Tag wurde das Medium gegen 2 ml serumfreies DMEM/Hams's F12 Medium ausgetauscht. Außerdem wurden der Suspension 100 bzw. 10 ng/ml des VEGF-A-Inhibitors hinzugesetzt. Dies wurde alle drei Tage wiederholt.

3.2.5.4 Inkubation der LiSa-2-Zellen mit full-length-VEGF-A

Bei dem VEGF-A-full-length-Peptid handelt es sich um ein vollständiges und funktionelles VEGF-A-Peptid. Es wirkt somit agonistisch am VEGF-A-Rezeptor. Am zweiten Tag wurde das Medium gegen 2 ml serumfreies Medium ausgetauscht. Außerdem wurden der Suspension 40 ng/ml VEGF-A full-length Peptid hinzugesetzt. Dies wurde alle drei Tage wiederholt.

3.2.5.5 Inkubation der LiSa-2-Zellen mit Apelin-12

Bei dem Apelin-12-Peptid handelt es sich um ein vollständiges und funktionelles Apelin-12-Peptid. Es wirkt agonistisch am APJ-Rezeptor. Am zweiten Tag wurde das Medium gegen 2 ml serumfreies Medium ausgetauscht. Außerdem wurden der Suspension 100 µg/ml Apelin-12 hinzugesetzt. Dies wurde alle drei Tage wiederholt.

3.2.5.6 Zellyse

Die Zellen wurden am Ende ihrer Inkubationszeit frisch mit 2 ml PBS je Well gewaschen und anschließend sofort mit 120 µl/Well Triple Lysat Puffer versetzt mit den Proteaseinhibitoren PMSF (1:50) und Aprotinin (1:100) lysiert. Die lysierten Zellen wurden in 1,5 ml Tubes überführt und bei 13000 rpm bei 4°C für 10 min zentrifugiert. Die Überstände wurden in neue Tubes überführt und direkt für SDS-PAGE verwendet (s.o.).

3.2.5.7 Adipozyten-Färbung mit Oil Red O

Jeweils ein Well der unbehandelten und mit Peptid inkubierten Zellen der 6-Well-Platte wurde für eine Zellfärbung mit Oil Red O genutzt. Dazu wurde das Zellmedium abgesaugt. Anschließend wurden die Zellen mit 2 ml PBS gewaschen. Danach wurden 2 ml 10% Formalin auf die Zellen gegeben und diese für 50 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Stammlösung für Oil Red O wurde durch einen sterilen Filter gegeben und im Verhältnis 3:2 mit destilliertem Wasser gemischt und diese Arbeitslösung durch. Das Formalin wurde von den Zellen abgesaugt und diese mit 2 ml H₂O gespült. Nach Entfernen dieses Wassers wurden die Zellen für 3 Minuten mit 60% Isopropanol bei Raumtemperatur inkubiert. Nach dem Absaugen dieses Isopropanols wurden 2 ml Oil Red O auf die Zellen pipettiert. Nun wurden die Zellen mit H₂O gespült, bis keine Verfärbung des Wassers mehr sichtbar war und anschließend für 1 min mit Hämatoxylin inkubiert. Nach Absaugen des Hämatoxylins wurde mit 60 °C warmem Wasser gespült. Nachfolgend wurden die Zellen unter dem Mikroskop betrachtet und fotografiert.

4 ERGEBNISSE

4.1 Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf den Body-Mass-Index

Der BMI wurde präoperativ (0 Monate) und postoperativ 6, 12 und 24 Monate nach bariatrischer Operation bestimmt. Postoperativ sinkt der BMI der Patienten. Es kommt zu einer signifikanten Reduktion des BMI um 22% (11,5 kg/m²) von 51,3 ±9,1 kg/m² präoperativ auf 39,8 ±7,6 kg/m² nach 6 Monaten (P<0,001). Nach 12 Monaten beträgt der BMI der Patienten 37,4 ±7,7 kg/m² (P<0,001) und nach 24 Monaten 37,5 ±7,9 kg/m² (P=0,013), was eine Abnahme von 27% (13,8 kg/m²) im Vergleich zur präoperativen Messung darstellt. Bei Gegenüberstellung des durchschnittlichen Patienten-BMIs nach 6 Monaten mit den Ergebnissen nach 12 bzw. 24 Monaten gibt es keine signifikante Reduktion. Der größte Gewichtsverlust der Patienten findet nach Operation innerhalb der ersten 6 Monate statt. Die Streuung der Werte ist präoperativ am größten (SD ±9,1) und nimmt nach 6 Monaten auf einen Wert von ±7,6 ab. Die Standardabweichung der Werte verbleibt bis nach 12 Monaten auf einem ähnlichen Niveau (SD ±7,7) und steigt nur minimal auf SD ±7,9 nach 24 Monaten an. Zu beachten ist die Abnahme der Patientenzahl n im Verlauf.

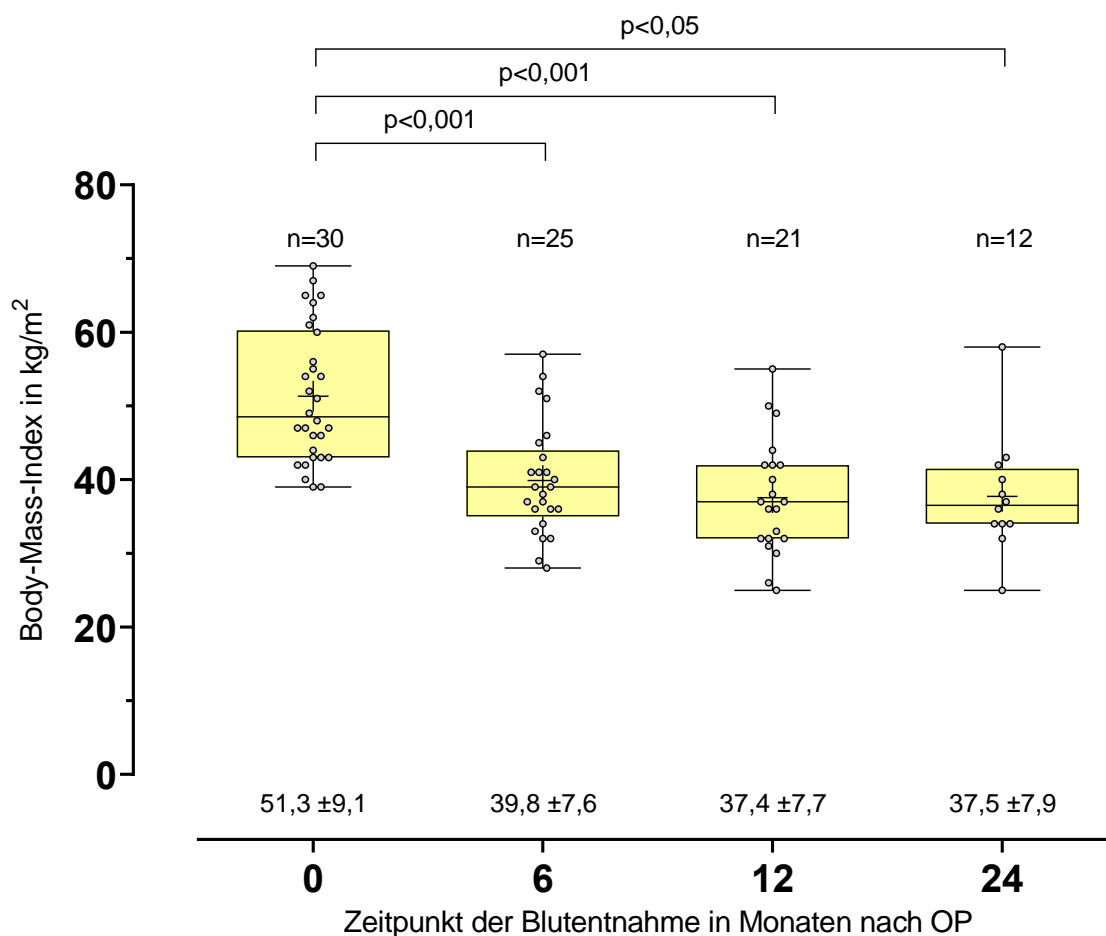


Abb.7: Body-Mass-Index der untersuchten Patienten zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach bariatrischer Operation. Darstellung als Boxplots mit arithmetischem Mittel (+), Interquartilsabstand (vertikale Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in kg/m². Jeweils unterhalb der Box sind Mittelwert und Standardabweichung sowie oberhalb die Patientenzahl n notiert.

4.2 ELISA-Ergebnisse

4.2.1 Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf die VEGF-A-Konzentration

Die Konzentration des VEGF-A im Serum der Patienten sinkt postoperativ ab. Nach einem präoperativen Ausgangswert von $189,5 \pm 94,1$ pg/ml fällt die Konzentration nach 6 Monaten um 26% auf $140,9 \pm 97,9$ pg/ml signifikant ab ($P=0,006$). Auch nach 12 Monaten ist ein signifikanter Unterschied der VEGF-A-Konzentration im Vergleich zum Ausgangswert (35%) auf $119,9 \pm 68,1$ pg/ml ($P=0,004$) zu erkennen. Nach 24 Monaten ist die Konzentration weiter gesunken, bis auf einen Wert von $110,8 \pm 66,3$ pg/ml ($P=0,017$). Insgesamt nimmt die Serum-VEGF-A-Konzentration nach 24 Monaten um 41% im Vergleich zum Zeitpunkt 0 ab. Die im zeitlichen Verhältnis stärkste Abnahme erfolgt innerhalb der ersten 6 Monate. Die Streuung der Werte steigt von präoperativ $SD \pm 94,1$ auf $SD \pm 97,9$ nach 6 Monaten, sinkt nach 12 Monaten auf $SD \pm 68,1$ und zum letzten Messzeitpunkt nach 24 Monaten auf einen Wert von $SD \pm 66,3$ ab. Zu beachten ist die Abnahme der Patientenzahl n im Verlauf.

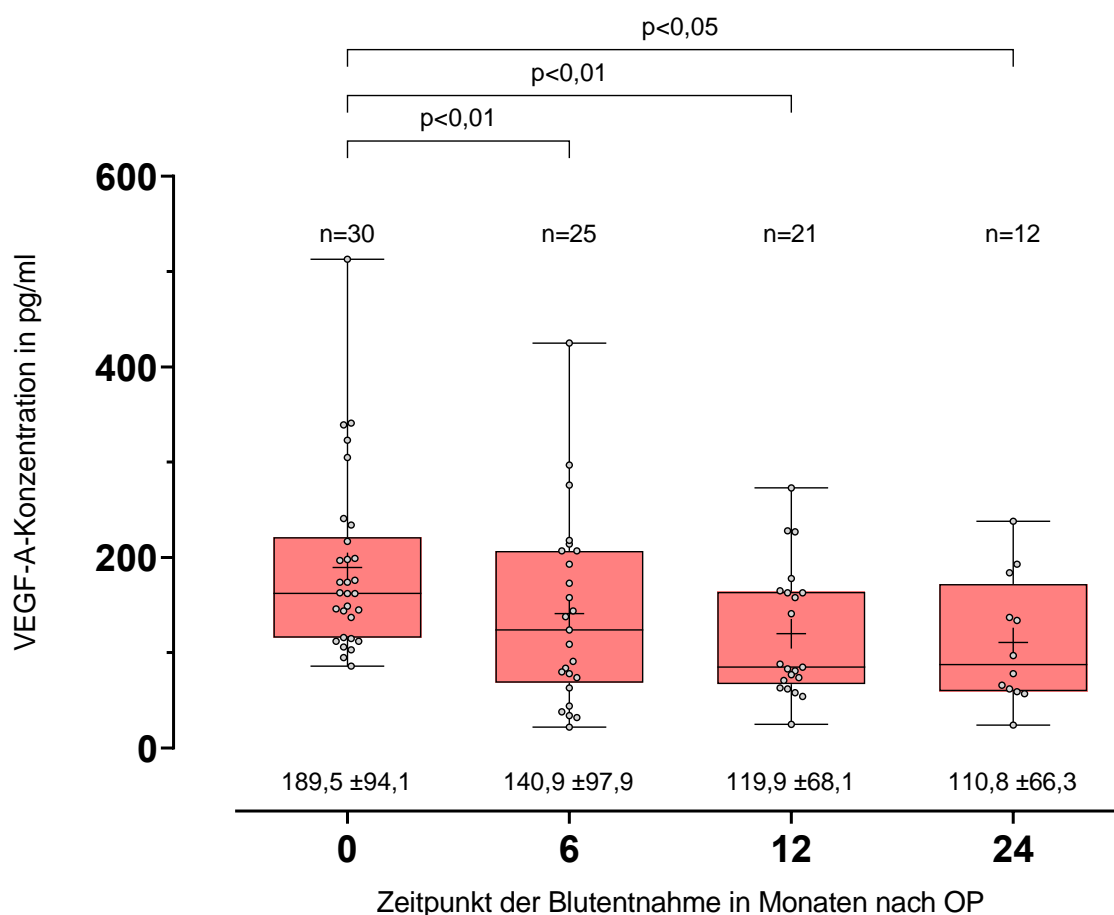


Abb.8: VEGF-A-Serumkonzentrationen der untersuchten Patienten zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach bariatrischer Operation. Darstellung als Boxplots mit arithmetischem Mittel (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Jeweils unterhalb der Box sind Mittelwert und Standardabweichung sowie oberhalb die Patientenzahl n notiert.

4.2.2 Lineare Regression von Patienten-BMI und VEGF-A-Konzentration

Im Rahmen einer Regressionsanalyse wurde geprüft, ob ein Zusammenhang zwischen der Änderung des BMI und der Änderung der Serum-VEGF-A-Konzentration besteht. Die entsprechenden Differenzen für die erwartete Zielgröße VEGF-A und die erwartete Einflussgröße BMI wurden jeweils zwischen dem gleichen postoperativen Zeitpunkt und dem Zeitpunkt 0 gebildet. Die Mehrheit der Patienten zeigt in den untersuchten Zeiträumen eine VEGF-Abnahme - den Punktwerten unter der Nulllinie entsprechend - bei wenigen Individuen zeigt sich jedoch ein mäßiger VEGF-Anstieg, was den Punktwerten über der Nulllinie entspricht.

Zwischen dem Zeitpunkt 0 und 6 Monaten besteht kein signifikanter Zusammenhang der Änderung von BMI und VEGF-A-Konzentration. Der F-Test zur Überprüfung, ob das Regressionsmodell insgesamt einen Beitrag zur Vorhersage der VEGF-A-Differenz durch die BMI-Differenz leistet, ist nicht signifikant ($P=0,139$). Die Analyse wurde daher nicht fortgesetzt. Es lässt sich anhand der graphischen Darstellung ein tendenziell positiver Zusammenhang zwischen VEGF-A- und BMI-Differenz innerhalb von Zeitpunkt 0 und 6 Monaten erkennen.

Zwischen dem Zeitpunkt 0 und 12 Monaten besteht ein signifikanter Zusammenhang der Änderung von BMI und VEGF-A-Konzentration. Der F-Test zur Überprüfung, ob das Regressionsmodell insgesamt einen Beitrag zur Vorhersage der VEGF-A-Differenz durch die BMI-Differenz leistet, ist signifikant ($P=0,036$). Der Test auf Signifikanz der Regressionskoeffizienten fällt für die BMI-Differenz signifikant aus ($T=2,258$; $P=0,036$). Der Regressionskoeffizient der BMI-Differenz beträgt daher nicht 0, was auf einen signifikanten Einfluss des BMI auf die VEGF-A-Konzentration hinweist. Es ergibt sich eine Regressionsgerade mit der Formel:

$$[\text{VEGF-A-Differenz in pg/ml}] = -2,445 + 4,715 \cdot [\text{BMI-Differenz in kg/m}^2]$$

Wenn der BMI um eine Einheit steigt, so nimmt die VEGF-A-Konzentration um 4,715 pg/ml zu. Das korrigierte Bestimmtheitsmaß r^2 beträgt 0,170. Es lassen sich daher 17% der Gesamtstreuung in den VEGF-A-Differenzen durch die BMI-Veränderung erklären. Der Korrelationskoeffizient r beträgt 0,460, was auf eine mittlere Effektstärke hindeutet.

Zwischen dem Zeitpunkt 0 und 24 Monaten besteht ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang der Änderung von BMI und VEGF-A-Konzentration. Der F-Test zur Überprüfung, ob das Regressionsmodell insgesamt einen Beitrag zur Vorhersage der VEGF-A-Differenz durch die BMI-Differenz leistet, ist signifikant ($P=0,024$). Der Test auf Signifikanz der Regressionskoeffizienten fällt für die BMI-Differenz signifikant aus ($T=2,663$; $P=0,024$). Der Regressionskoeffizient der BMI-Differenz beträgt daher nicht 0 und hat somit einen signifikanten Einfluss auf die VEGF-A-Konzentration. Es ergibt sich eine Regressionsgerade mit der Formel:

$$[\text{VEGF-A-Differenz}] = -25,377 + 4,698 \cdot [\text{BMI-Differenz}]$$

Wenn der BMI um eine Einheit steigt, so nimmt die VEGF-A-Konzentration um 4,698 pg/ml zu. Das korrigierte Bestimmtheitsmaß r_2 beträgt 0,356. Es lassen sich daher 35,6% der Gesamtstreuung in den VEGF-A-Differenzen durch die BMI-Veränderung erklären. Der Korrelationskoeffizient r beträgt 0,644. Es liegt eine hohe Effektstärke vor.

In Zusammenschau der Korrelationskoeffizienten r , des korrigierten Bestimmtheitsmaßes r_2 , der P-Werte sowie der graphischen Darstellungen (siehe unten) kann bei Betrachtung der Zeiträume zwischen 0 und 12 bzw. 0 und 24 Monaten formuliert werden: Je mehr der BMI eines Patienten nach bariatrischer Operation sinkt, desto stärker nimmt auch die VEGF-A-Konzentration im Serum ab. Es kann von einer positiven Beziehung zwischen Patienten-BMI und VEGF-A-Konzentration ausgegangen werden. Der beschriebene Zusammenhang zeigt innerhalb der drei untersuchten Zeiträume eine zunehmende Stärke, je länger die bariatrische Operation zurückliegt.

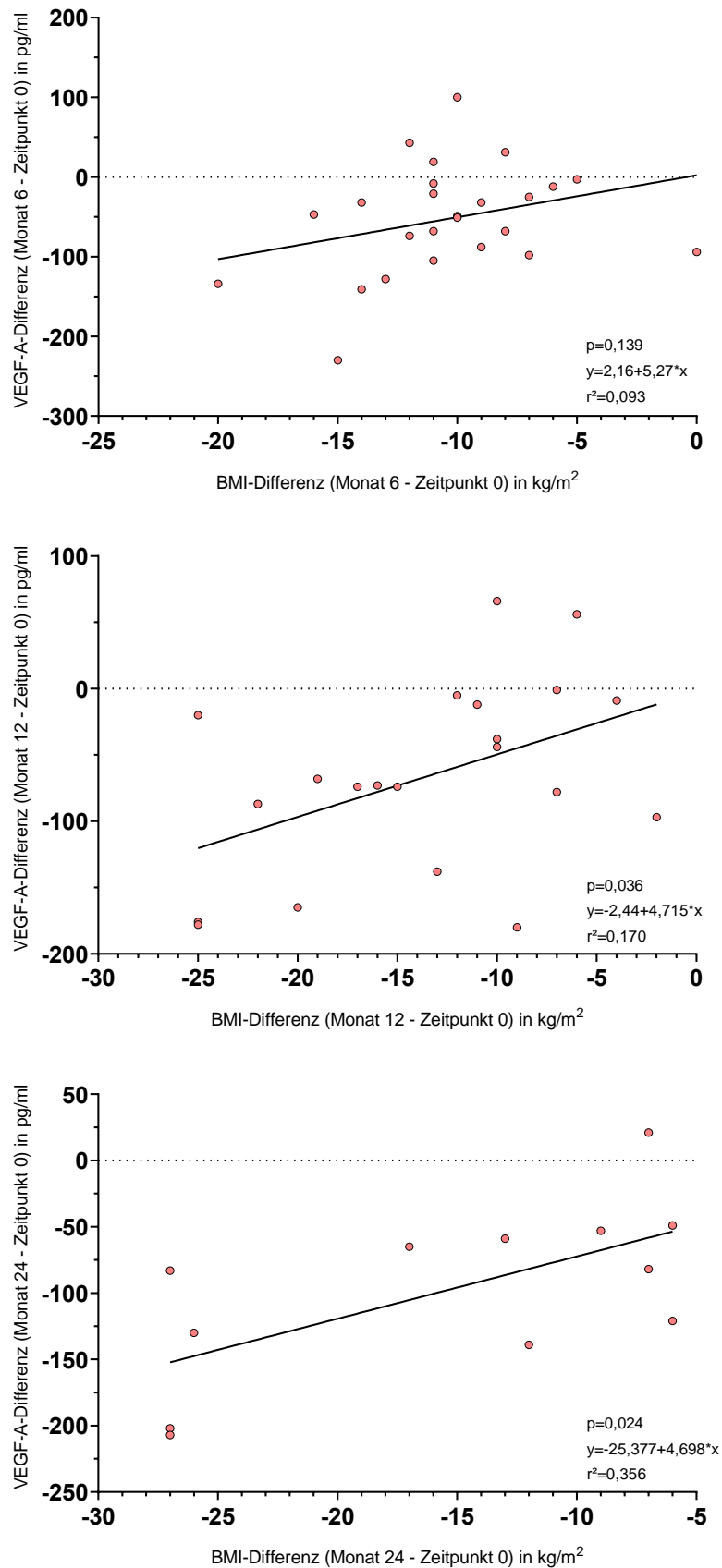


Abb.9: Regressionsanalysen der VEGF-A- und BMI-Differenzen der Messwerte nach 6, 12 und 24 Monaten und dem Zeitpunkt 0. Darstellung als lineare Regressionsgerade anhand der jeweils unten rechts angegebene Formel. Die Einzelwerte der abhängigen Variablen (VEGF-A-Differenzen) sind als Punktwolke dargestellt.

4.2.3 Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf die Apelin-12-Konzentration

Die Konzentration des Apelin-12 im Serum der Patienten steigt postoperativ an. Die vorliegenden Daten zeigen, dass die Konzentration mit $482,6 \pm 364,9$ pg/ml vor bariatrischer Operation in Relation zu den anderen Messzeitpunkten am niedrigsten ist. Die Änderung zu den Messzeitpunkten nach 6, 12 und 24 Monaten ist im Vergleich zum Ausgangswert jeweils signifikant. Die Serumkonzentration des Apelin-12 steigt nach OP signifikant um das 2,5-fache auf $1277,0 \pm 1035,4$ pg/ml ($P=0,004$) an. Nach 12 Monaten erfolgt ein Abfall auf einen Wert von $945,7 \pm 701,3$ pg/ml ($P=0,008$). Nach 24 Monaten steigt Konzentration um das 5-fache zum Zeitpunkt 0 auf $2458,3 \pm 1731,3$ pg/ml ($P=0,022$). Insgesamt steigt die Apelin-12-Konzentration um 80% nach 24 Monaten im Vergleich zum ersten Messzeitpunkt. Die Standardabweichung der Werte steigt von präoperativ $SD \pm 364,9$ auf $SD \pm 1035,4$ nach 6 Monaten und sinkt nach 12 Monaten auf $SD \pm 701,3$. Anschließend nimmt die Streuung nach 24 Monaten wieder auf $SD \pm 1731,3$ zu. Zu beachten ist die Abnahme der Patientenzahl n im Verlauf.

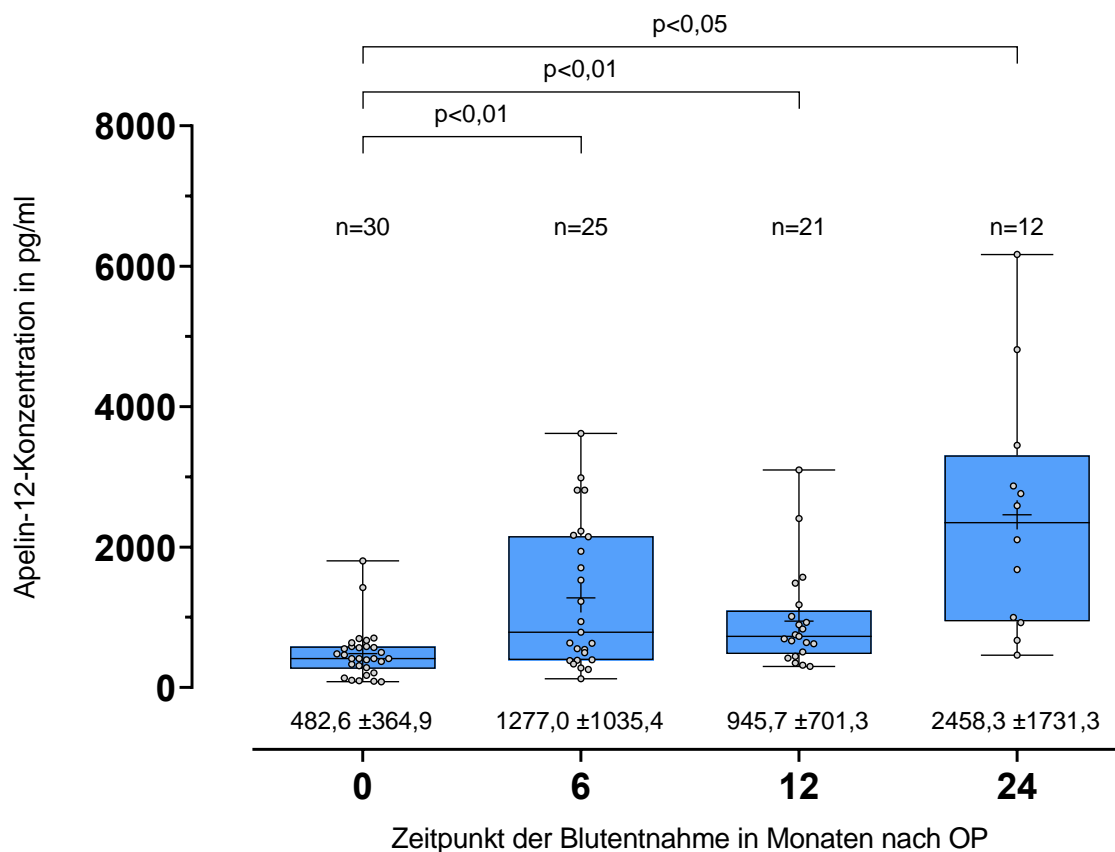


Abb.10: Apelin-12-Serumkonzentrationen der untersuchten Patienten zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach bariatrischer Operation. Darstellung als Boxplots mit arithmetischem Mittel (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Jeweils unterhalb der Box sind Mittelwert und Standardabweichung sowie oberhalb die Patientenzahl n notiert.

4.2.4 Regressionsanalyse von Patienten-BMI und Apelin-12-Konzentration

Im Rahmen einer Regressionsanalyse wurde geprüft, ob ein Zusammenhang zwischen der Änderung des BMI und der Änderung der Serum-Apelin-12-Konzentration besteht. Die entsprechenden Differenzen für die erwartete Zielgröße Apelin-12 und die erwartete Einflussgröße BMI wurden jeweils zwischen dem gleichen postoperativen Zeitpunkt und dem Zeitpunkt 0 gebildet. Die Mehrheit der Patienten zeigt in den untersuchten Zeiträumen eine Zunahme des Apelin - den Punktwerten über der Nulllinie entsprechend - bei wenigen Individuen zeigt sich jedoch eine mäßige Apelin-Abnahme, was den Punkten unter der Nulllinie entspricht.

Zwischen dem Zeitpunkt 0 und 6 Monaten besteht kein signifikanter Zusammenhang der Änderung von BMI und Apelin-12-Konzentration. Der F-Test zur Überprüfung, ob das Regressionsmodell insgesamt einen Beitrag zur Vorhersage der Apelin-12-Differenz durch die BMI-Differenz leistet, ist nicht signifikant ($P=0,417$). Die Analyse wurde daher nicht fortgesetzt. Es lässt sich anhand der graphischen Darstellung jedoch ein tendenziell negativer Zusammenhang zwischen Apelin- und BMI-Differenz erkennen.

Zwischen dem Zeitpunkt 0 und 12 Monaten besteht kein signifikanter Zusammenhang der Änderung von BMI und Apelin-12-Konzentration. Der F-Test zur Überprüfung, ob das Regressionsmodell insgesamt einen Beitrag zur Vorhersage der Apelin-12-Differenz durch die BMI-Differenz leistet, ist nicht signifikant ($P=0,530$). Die Analyse wird daher nicht fortgesetzt. Es lässt sich anhand der graphischen Darstellung jedoch ein tendenziell positiver Zusammenhang zwischen Apelin- und BMI-Differenz erkennen.

Zwischen dem Zeitpunkt 0 und 24 Monaten besteht kein signifikanter Zusammenhang der Änderung von BMI und Apelin-12-Konzentration. Der F-Test zur Überprüfung, ob das Regressionsmodell insgesamt einen Beitrag zur Vorhersage der Apelin-12-Differenz durch die BMI-Differenz leistet, ist nicht signifikant ($P=0,977$). Die Analyse wird daher nicht fortgesetzt. Es lässt sich anhand der graphischen Darstellung jedoch ein tendenziell positiver Zusammenhang zwischen Apelin- und BMI-Differenz erkennen.

In Zusammenschau der statistischen Analyse sowie anhand der graphischen Darstellungen (siehe unten) kann bei Betrachtung der Zeiträume zwischen 0 und 6, 0 und 12 sowie 0 und 24 Monaten formuliert werden: Es besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen der BMI- und Apelin-12-Differenz nach bariatrischer Operation. Es lässt sich grafisch ein tendenziell negativer Zusammenhang nach 6 Monaten erkennen, hingegen scheint nach 12 Monaten ein tendenziell positiver Zusammenhang zu bestehen. Nach 24 Monaten ist nahezu kein Effekt nachweisbar.

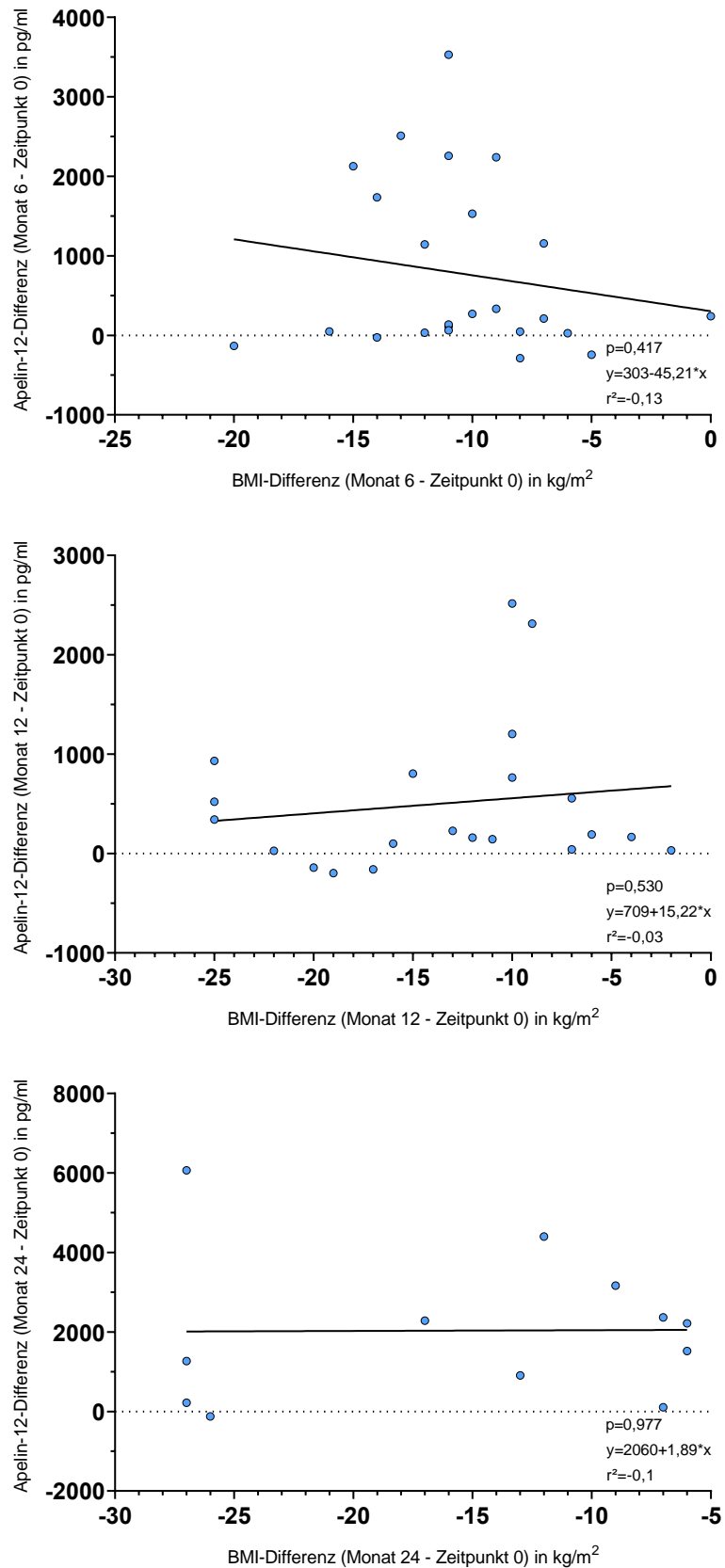


Abb.11: Regressionsanalysen der Apelin-12- und BMI-Differenzen der Messwerte nach 6, 12 und 24 Monaten und dem Zeitpunkt 0. Darstellung als lineare Regressionsgerade anhand der jeweils unten rechts angegebene Formel. Die Einzelwerte der abhängigen Variablen (VEGF-A-Differenzen) sind als Punktwolke dargestellt.

4.2.5 Vergleich der Patienten nach Komorbiditäten, Geschlecht und Operationstechnik.

Um zu untersuchen, ob sich die Serum-VEGF- und Apelin-Konzentration zwischen den Geschlechtern, Operationstechniken sowie den Patienten mit und ohne Vorliegen präoperativer Komorbiditäten unterscheidet, wurde ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Innerhalb einer Gruppe wurde der Verlauf mithilfe des Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben untersucht. Mittelwerte und Standardabweichung sind den jeweils zugehörigen Abbildungen zu entnehmen.

4.2.5.1 Vergleich der Patienten nach Vorliegen einer arteriellen Hypertension.

Beim Vergleich der Patienten mit und ohne arterielle Hypertension zum Zeitpunkt 0 zeigt sich in Bezug auf den BMI und die VEGF-Konzentration statistisch, kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Auffällig ist bei allen drei Parametern die zum Ausgangswert stets signifikante Abnahme der Messwerte in der Hypertensions-Gruppe, während in der Vergleichsgruppe jeweils keine signifikante Änderung nachzuweisen ist. Der BMI zeigt bei Nicht-Hypertonikern einen Wiederanstieg nach 12 und 24 Monaten. Dabei ist jedoch die niedrige Patientenzahl n in der normotonen Gruppe zu beachten. Es fällt auf, dass Hypertoniker postoperativ - jedoch nicht zum Zeitpunkt 0 - eine höhere Serum-Konzentration des Apelin-12 aufweisen als Patienten mit normalem Blutdruck. Nach 24 Monaten ist dieser Unterschied signifikant ($P=0,03$).

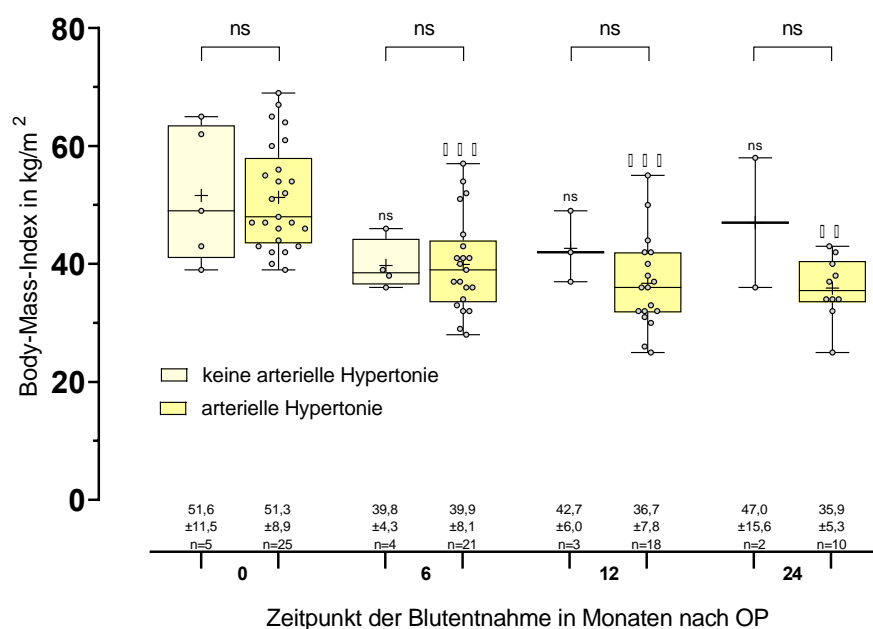


Abb.12: Vergleich des BMI (kg/m^2) der Patienten mit und ohne präoperativ bekannter arterieller Hypertension zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in kg/m^2 . Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$)

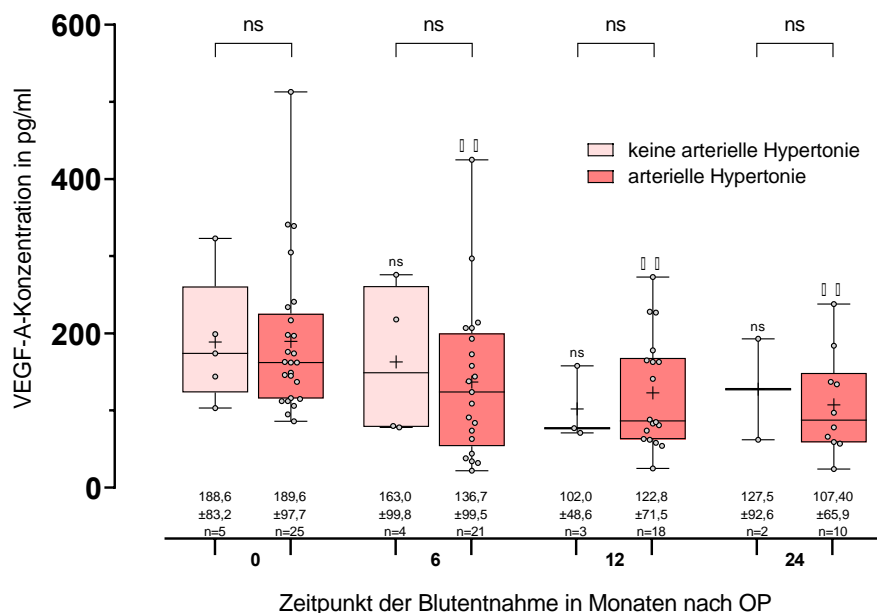


Abb.13: Vergleich der VEGF-A-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten mit und ohne präoperativ bekannter arterieller Hypertonie zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

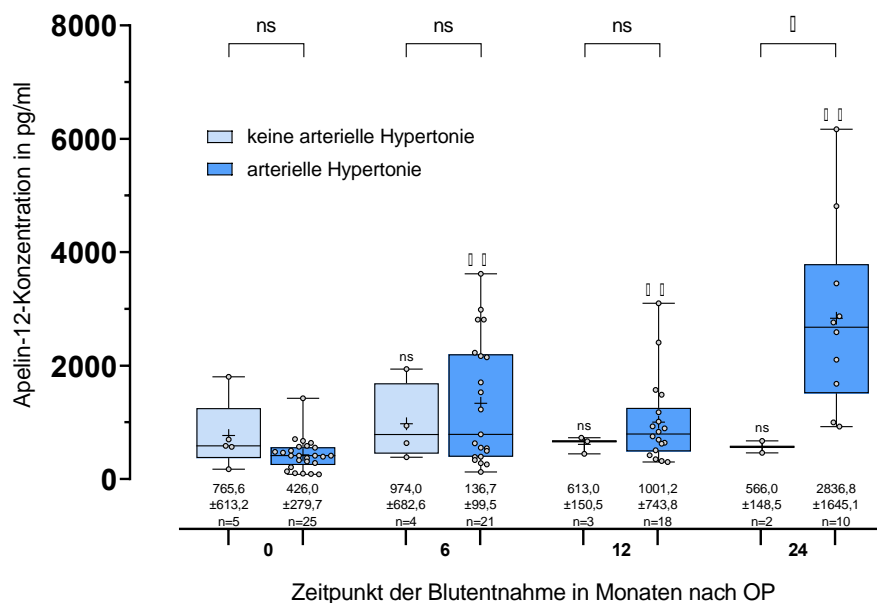


Abb.14: Vergleich der Apelin-12-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten mit und ohne präoperativ bekannter arterieller Hypertonie zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

4.2.5.2 Vergleich der Patienten nach Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2.

Beim Vergleich der Patienten mit und ohne Diabetes mellitus Typ 2 zeigt sich in Bezug auf den BMI, die VEGF- und Apelin-Konzentration statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Der BMI-Verlauf verhält sich in beiden Gruppen weitgehend ähnlich. Es fällt ein deutlicherer Abfall des VEGF in der Diabetes-Gruppe nach 6 Monaten auf. Nicht-Diabetiker zeigen eine kontinuierlichere Abnahme des VEGF, während die Konzentration bei Diabetikern nach 6 Monaten weitgehend stagniert. Apelin-12 zeigt nach 6 Monaten einen stärkeren Anstieg zum Zeitpunkt 0 als bei Diabetikern und ist nach 6 und 24 Monaten in Nicht-Diabetikern höher konzentriert, wobei nach 12 Monaten das Gegenteil der Fall ist.

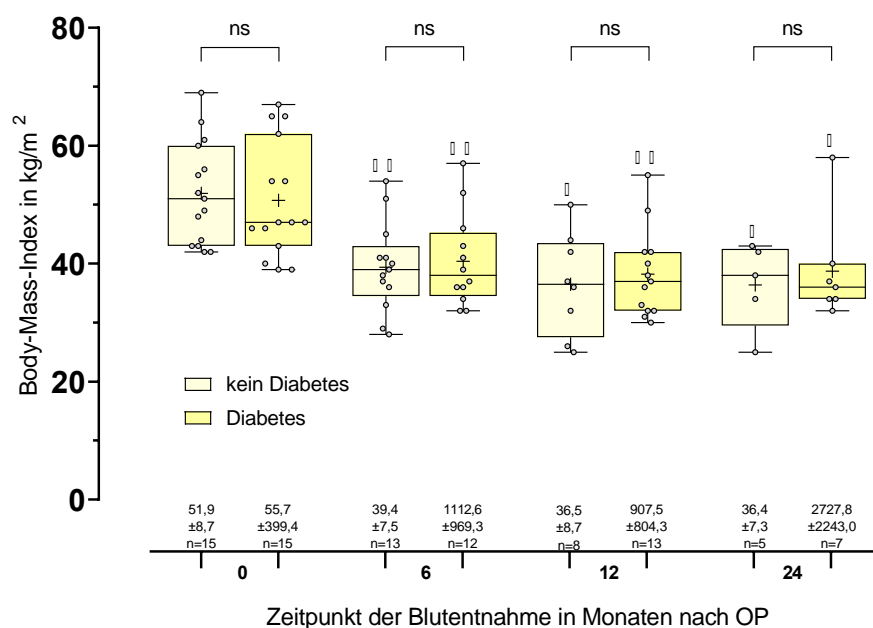


Abb.15: Vergleich des BMI (kg/m^2) der Patienten mit und ohne präoperativ bekanntem Diabetes mellitus Typ 2 zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in kg/m^2 . Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$)

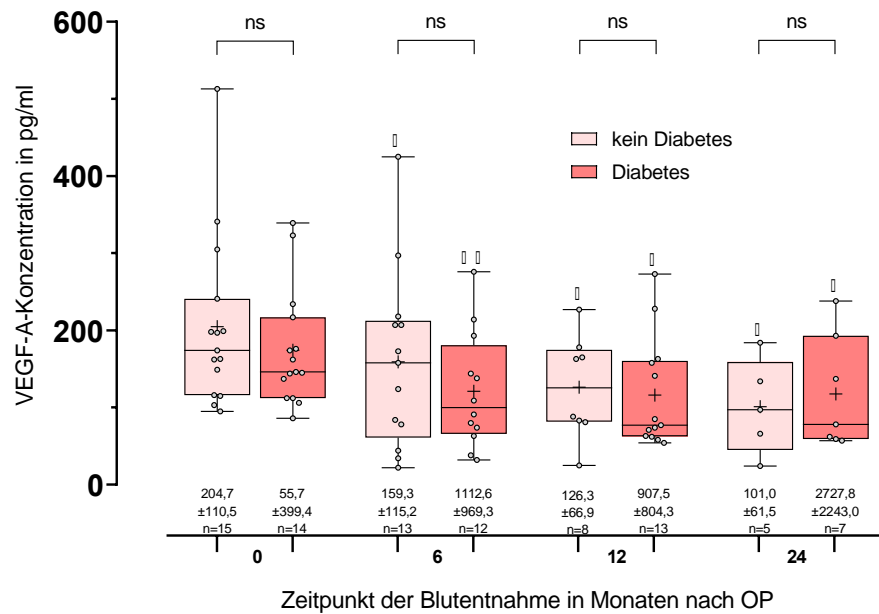


Abb.16: Vergleich der VEGF-A-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten mit und ohne präoperativ bekanntem Diabetes mellitus Typ 2 zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

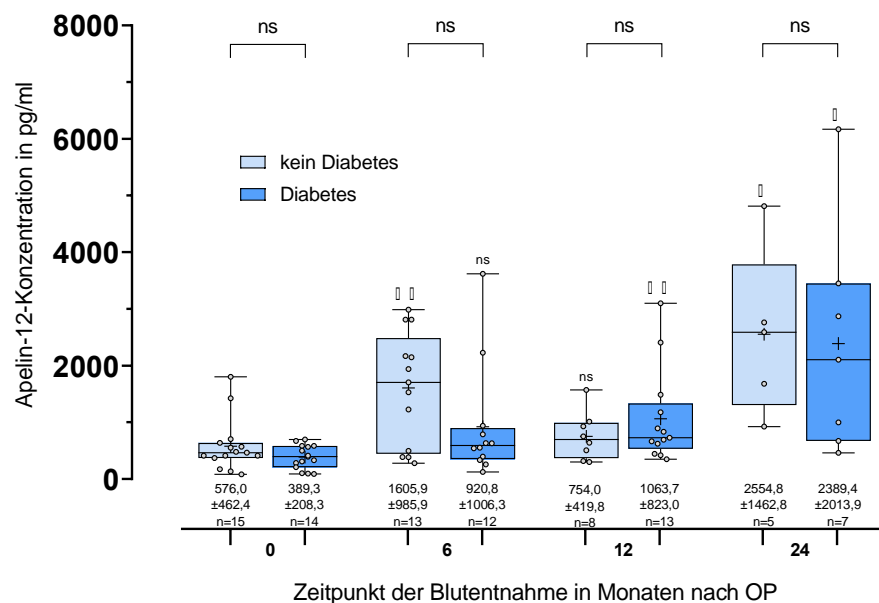


Abb.17: Vergleich der Apelin-12-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten mit und ohne präoperativ bekanntem Diabetes mellitus Typ 2 zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

4.2.5.3 Vergleich der Patienten nach Vorliegen einer Schlafapnoe.

Beim Vergleich der Patienten mit und ohne Schlafapnoe zeigt sich in Bezug auf die VEGF- und Apelin-Konzentration statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Lediglich der BMI ist zum Zeitpunkt null bei Schlafapnoe-Patienten signifikant erhöht ($P=0,013$). Auch im weiteren Verlauf weisen die Schlafapnoe-Patienten tendenziell höhere BMI-Werte als die Vergleichsgruppe auf. Die VEGF-Konzentration in Schlafapnoe-Patienten sinkt kontinuierlich, während sie bei der Vergleichsgruppe nach einem signifikanten Abfall tendenziell stagniert. Apelin-12 steigt in Patienten ohne Schlafapnoe im Gegensatz zur Vergleichsgruppe nach 6 Monaten signifikant an. Beide Gruppen zeigen einen signifikanten Anstieg des Apelin nach 12 und 24 Monaten.

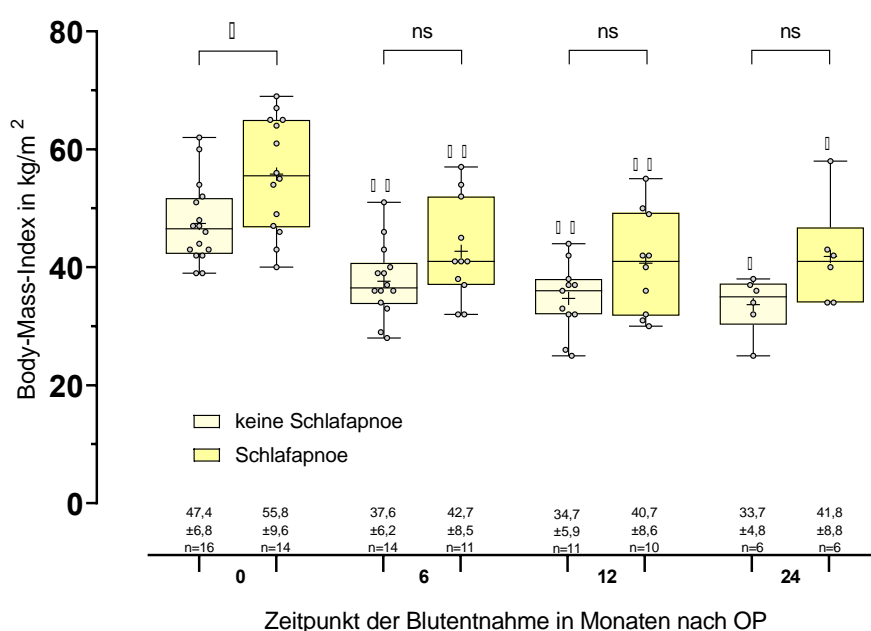


Abb.18: Vergleich des BMI (kg/m^2) der Patienten mit und ohne präoperativ bekannter Schlafapnoe zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in kg/m^2 . Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$)

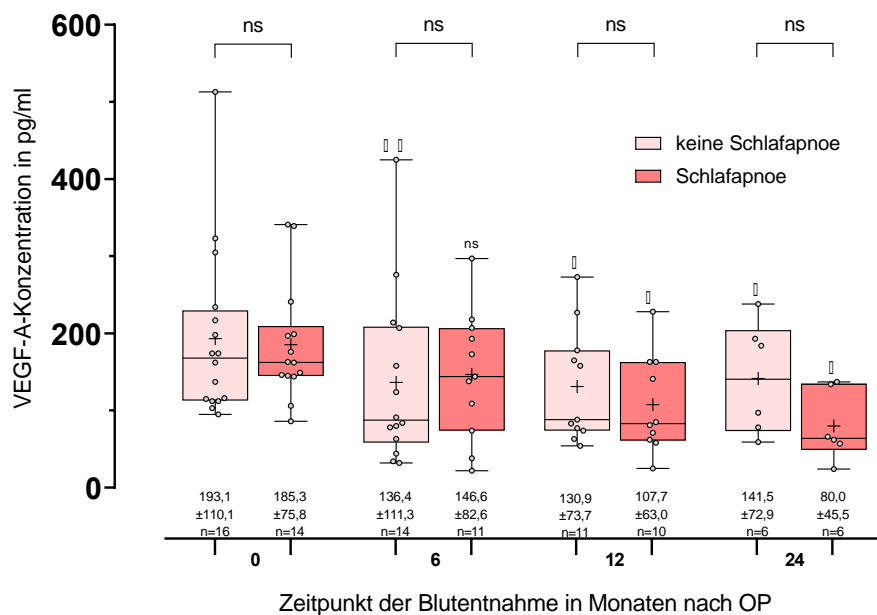


Abb.19: Vergleich der VEGF-A-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten mit und ohne präoperativ bekannter Schlafapnoe zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

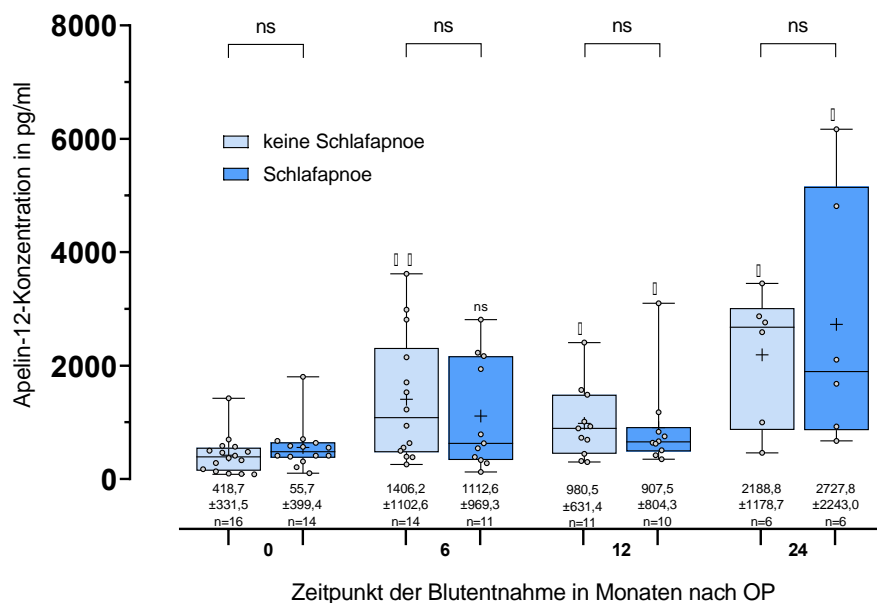


Abb.20: Vergleich der Apelin-12-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten mit und ohne präoperativ bekannter Schlafapnoe zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

4.2.5.4 Vergleich der Patienten nach Geschlecht.

Beim Vergleich der Patienten anhand des Geschlechtes zeigt sich in Bezug auf den BMI und die VEGF-Konzentration statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Zum Zeitpunkt 0 und nach 6 Monaten zeigt sich bei Männern ein tendenziell höherer BMI als bei Frauen, die Werte gleichen sich bis 24 Monate nach OP jedoch deutlich an. Sowohl weibliche, als auch männliche Probanden nehmen im Verlauf signifikant ab. Die VEGF-A-Konzentration bei Männern ist im Mittel zu allen Untersuchungszeitpunkten höher, nimmt jedoch im Verlauf nicht signifikant ab. Frauen hingegen zeigen eine statistisch signifikante Reduktion der VEGF-A-Konzentration zu allen Untersuchungszeitpunkten. Apelin-12 steigt in Männern und Frauen diskontinuierlich an. Nach 6 Monaten zeigt sich bei Frauen eine signifikant höhere Apelin-12-Konzentration als bei Männern ($P=0,044$). Nach einem initialen Anstieg der Apelin-12-Konzentration 6 Monate nach OP, sinken die Werte nach 12 Monaten in beiden Gruppen wieder ab. Während männliche Probanden nach 6 und 12 Monaten eine tendenziell niedrigere Apelin-12-Konzentration aufweisen, ist diese nach 24 Monaten gegenüber den weiblichen Probandinnen erhöht.

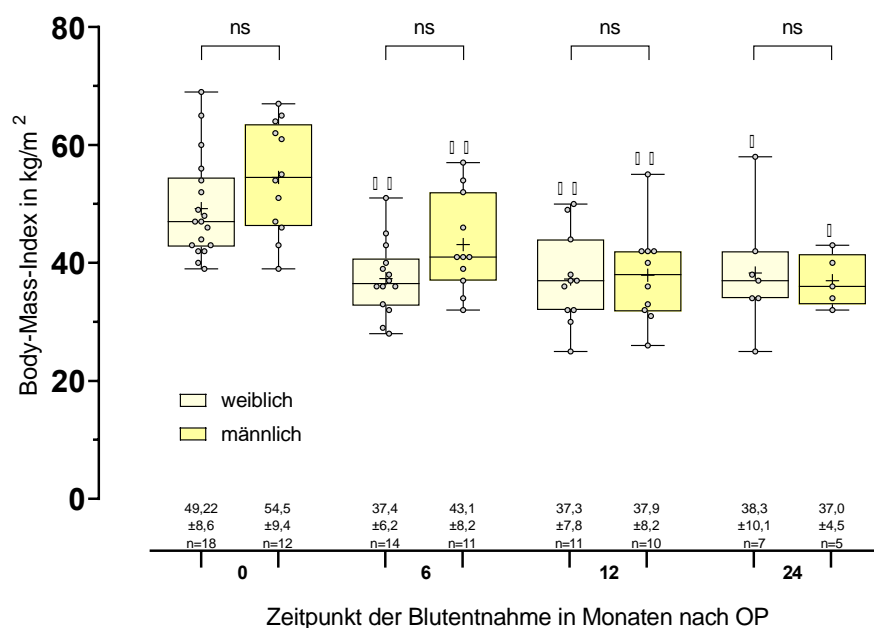


Abb.21: Vergleich des BMI (kg/m^2) der Patienten nach Geschlecht zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten in kg/m^2 . Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$)

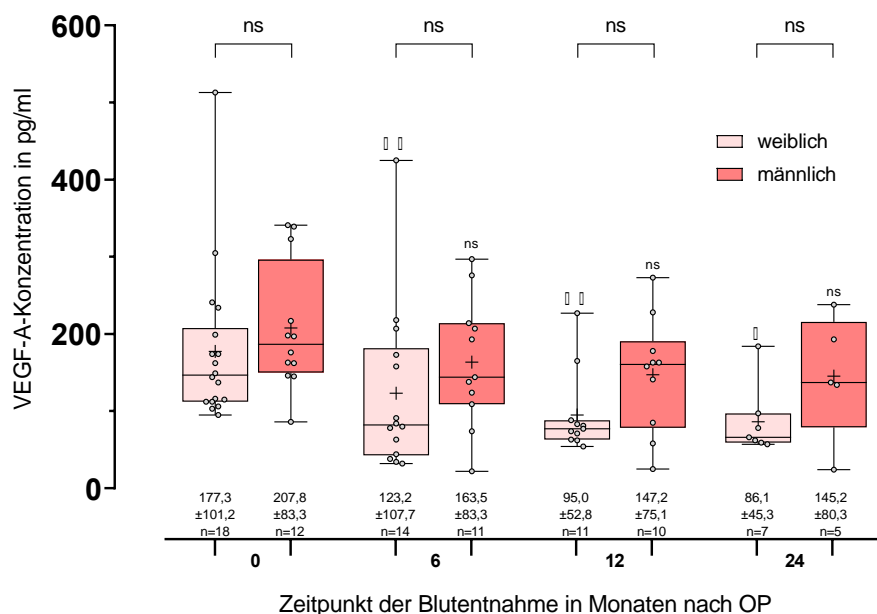


Abb.22: Vergleich der VEGF-A-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten nach Geschlecht zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

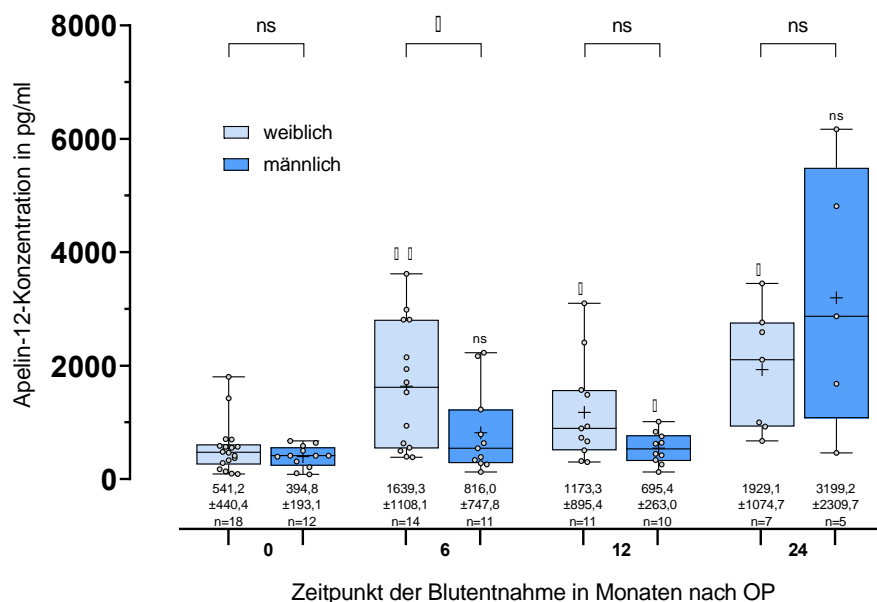


Abb.23: Vergleich der Apelin-12-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten nach Geschlecht zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

4.2.5.5 Vergleich der Patienten nach Operationstechnik.

Beim Vergleich der Patienten nach Operationstechnik (LSG und LGB) zeigt sich in Bezug auf den BMI, die VEGF- und Apelin-Konzentration statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. LSG-Patienten haben einen tendenziell höheren Ausgangs-BMI als die LGB-Patienten und weisen einen stärkeren und signifikanteren Abfall des BMI nach 6 Monaten auf. Nach 12 Monaten befinden sich beide Patienten-Gruppen auf etwa gleichem BMI-Niveau. Nach 24 Monaten weist die LGB-Gruppe im Vergleich zu LSG-Patienten erhöhte BMI-Werte sowie einen Wiederanstieg des BMI auf, während dieser bei LSG-Patienten stagniert. Die VEGF-Konzentration in LGB-Patienten stagniert auf etwa gleichem Niveau über den gesamten Untersuchungszeitraum. In LSG-Patienten ist sie zum Zeitpunkt 0 und nach 6 Monaten tendenziell höher als bei LGB-Patienten und fällt zudem kontinuierlich und signifikant ab. Die Apelin-12-Konzentration steigt - außer nach 12 Monaten - in beiden OP-Gruppen an. Dabei zeigen LSG-Patienten jedoch stets höhere Werte und einen im Gegensatz zur LGB-Gruppe zu allen präoperativen Zeitpunkten signifikanten Apelin-12-Anstieg zum Ausgangswert.

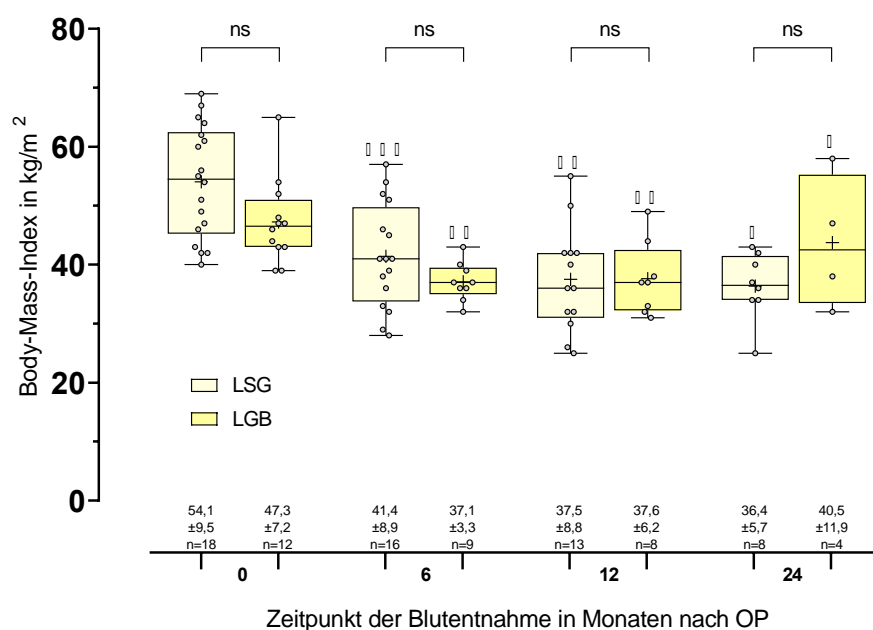


Abb.24: Vergleich des BMI (kg/m²) der Patienten nach Operationsart zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in kg/m². Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

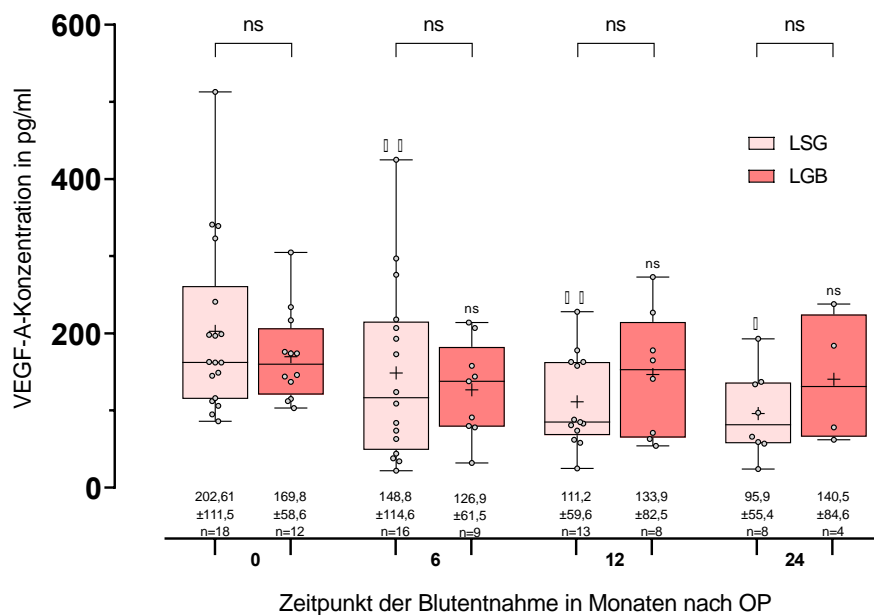


Abb.25: Vergleich der VEGF-A-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten nach Operationsart zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

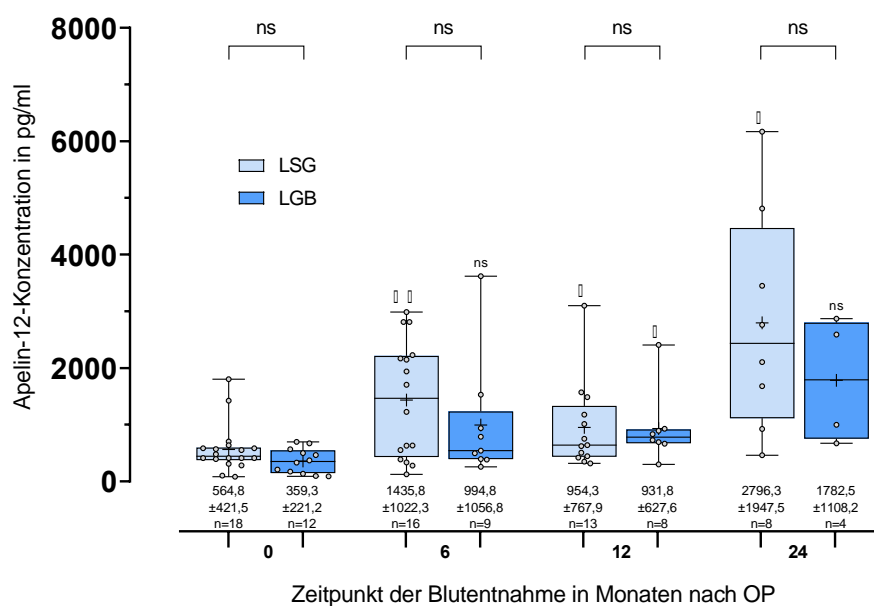


Abb.26: Vergleich der Apelin-12-Serumkonzentration (pg/ml) der Patienten nach Operationsart zum Zeitpunkt 0 sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP. Dargestellt als Boxplots mit Durchschnittswerten (+), Interquartilsabstand (Boxlänge), Median (horizontaler Strich durch die Box), Minimum/Maximum (Antennen) sowie den Einzelwerten als Punktwolke in pg/ml. Mit Klammern gekennzeichnet sind die Gruppenvergleiche (Mann-Whitney-U-Test). Symbole über den Antennen beziehen sich auf den Vergleich mit Zeitpunkt 0 (Wilcoxon-Test). Jeweils unter der Box sind Mittelwert, Standardabweichung und Patientenzahl n notiert. (ns = nicht signifikant; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

4.3 Zellkultur-Ergebnisse

Nach Betrachtung der Ergebnisse der ex-vivo ELISA-Studie wurde mittels Oil Red O Färbung untersucht, ob VEGF und Apelin-12 einen direkten Effekt auf die Adipogenese ausüben. Außerdem wurde die Wirkung der Peptide auf den zentralen Adipogeneseregulator PPAR γ , das für die Adipozytendifferenzierung relevante CHOP sowie das CSN im Western Blot analysiert. Die LiSa-2 Zelllinie diente als Adipogenese-Modell und wurde in jeweils unabhängigen Experimenten mit einem VEGF-A-Inhibitor, full-length-VEGF und Apelin-12 für einheitliche Zeiträume inkubiert. Die Experimente wurden jeweils einmalig durchgeführt.

4.3.1 Einfluss eines VEGF-A-Inhibitors auf die in-vitro-Adipogenese

4.3.1.1 Färbung der mit VEGF-A-Inhibitor inkubierten Adipozyten mit Oil Red O

In der Färbung mit Oil Red O zeigt sich nach jedem der dargestellten Inkubationszeiträume eine verminderte Färbung der mit VEGF-A-Inhibitor inkubierten Zellen im Vergleich zur jeweiligen Kontrolle. Die Lipidtröpfchen innerhalb der Adipozyten, die mit dem VEGF-A-Inhibitor inkubiert wurden, erscheinen in einem weniger intensiv roten Farbton und sind zudem weniger zahlreich als in der Kontrolle ohne Peptid. Insbesondere nach 15 Tagen ist dieser Unterschied zu erkennen. Die Adipozyten, welche ohne den VEGF-A-Inhibitor inkubiert wurden, sind relativ größer als jene, die unter Einfluss des Peptids wuchsen. Dies lässt auf eine verminderte Adipogenese bei den mit dem Inhibitor inkubierten Zellen schließen und lässt die Vermutung zu, dass der VEGF-A-Inhibitor einen hemmenden Einfluss auf die Adipogenese ausübt.

Tabelle 15: Lipidtröpfchenanzahl nach Färbung der mit VEGF-A-Inhibitor inkubierten LiSa-2-Zellen und Kontrollen.

| Lipidtröpfchenanzahl nach: | 1 d | 8 d | 15 d |
|-----------------------------------|------------|------------|-------------|
| Kontrolle | 47 | 98 | 195 |
| VEGF-A-Inhibitor | 29 | 42 | 162 |

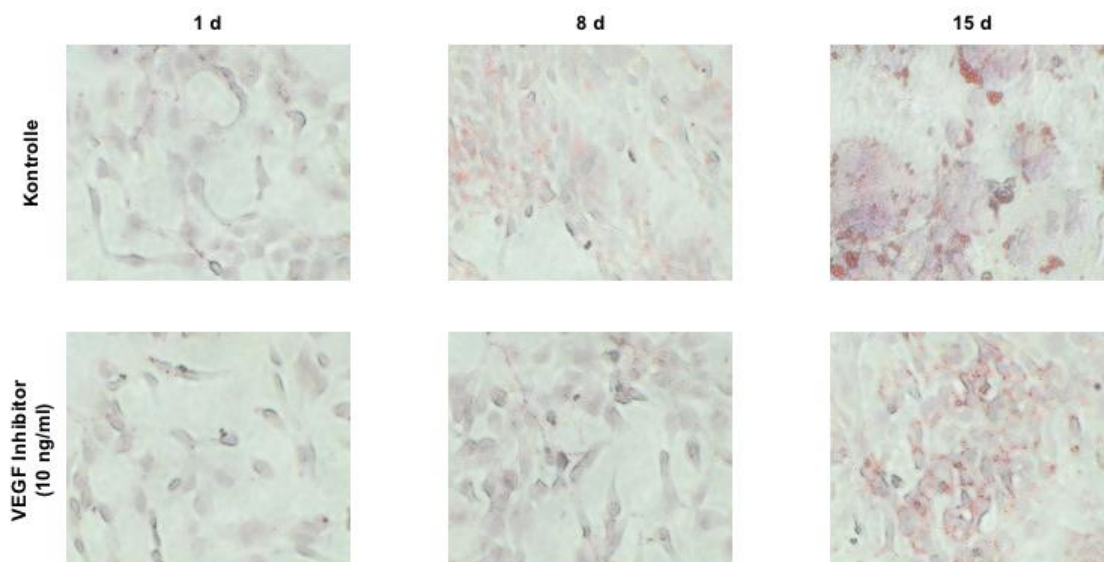


Abb.27: Inkubation von LiSa-2-Zellen für 1d, 8d und 15d mit VEGF-A-Inhibitor in einer Konzentration von 10 ng/ml. Kontrollen wurden ohne VEGF-A-Inhibitor inkubiert. Die Anfärbung erfolgte mit Oil Red O. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

4.3.1.2 Western Blot der mit VEGF-A-Inhibitor inkubierten Adipozyten

Mithilfe eines Western Blots sollte die Wirkung des VEGF-A-Inhibitors auf die Adipogenese untersucht werden. Die Adipozyten wurden für 1, 8 und 15 Tage mit dem Inhibitor inkubiert und anschließend lysiert. Außerdem wurde eine Negativ-Kontrolle mit Adipozyten ohne den Inhibitor für die jeweils gleichen Zeiträume inkubiert. Die zwei mit VEGF-A-Inhibitor versetzten Zellkulturen wurden in zwei verschiedenen Konzentrationen, 10 ng/ml und 100 ng/ml, inkubiert. Der Western Blot zeigt eine im Vergleich zur Kontrolle diskret verminderte Expression von PPAR γ , CSN7B und CSN8 bei einer Konzentration von 10 und 100 ng/ml nach 15 Tagen. Die Expression der CSN-Untereinheit CSN5 ist nach 15 Tagen im Vergleich zur Negativ-Kontrolle etwas deutlicher vermindert. Im Inkubationszeitraum von 8 Tagen lässt sich für CSN5 und CSN7B zwischen beimpften Proben und Kontrollen densitometrisch kein Unterschied feststellen. Die PPAR γ -Expression ist in den beimpften Zellen im Vergleich zur Kontrolle diskret reduziert, ebenso CSN8 bei einer Konzentration von 100 ng/ml. Zu allen drei Zeitpunkten fallen bei PPAR γ schwache Doppelbanden auf. Nach 1 Tag erscheint in der Negativ-Kontrolle die Expression von PPAR γ sowie der CSN-Untereinheiten CSN5, CSN7B und CSN8 in Relation zu den beimpften Proben erhöht. Mit Ausnahme von CSN7B zum Zeitpunkt nach 8 Tagen ist die Expression der untersuchten Proteine zu allen Zeitpunkten jeweils in der Negativ-Kontrolle am stärksten oder auf gleichem Niveau mit den beimpften Proben. Insbesondere nach 1 und 15 Tagen lässt sich densitometrisch eine tendenziell höhere Expression feststellen, je höher der Inhibitor konzentriert ist.

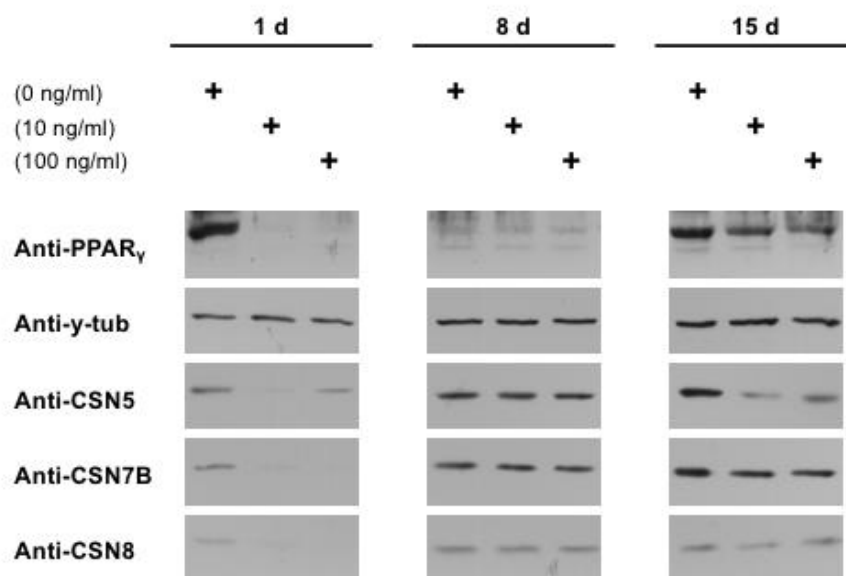


Abb.28: Inkubation von LiSa-2-Zellen mit VEGF-A-Inhibitor (+) in unterschiedlichen Konzentrationen für 1d, 8d und 15d mit VEGF-A-Inhibitor. Kontrollen wurden ohne VEGF-A-Inhibitor inkubiert. Die Zellen wurden lysiert und die Proteine im Western Blot untersucht. Der Anstieg der Proteine wurde mittels ImageJ Software densitometrisch analysiert. Als Ladekontrolle wurde γ -Tubulin verwendet. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

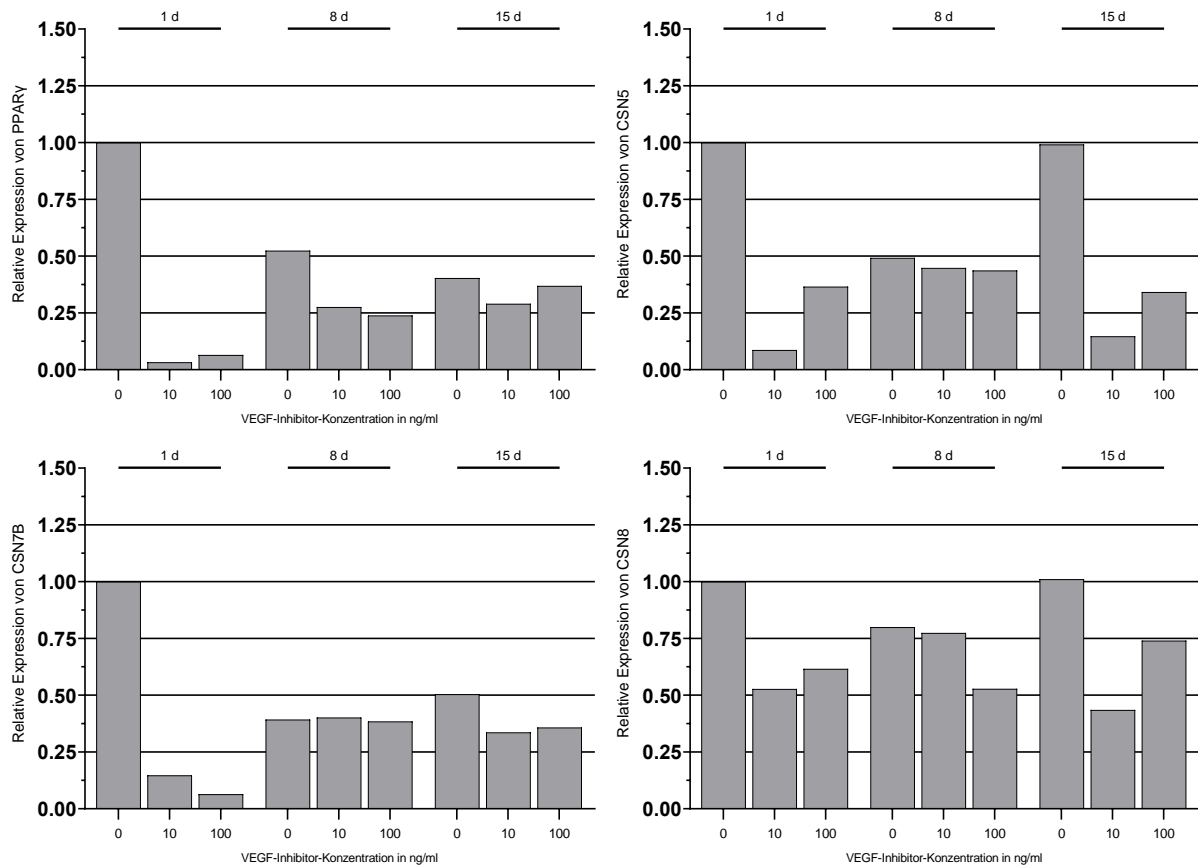


Abb. 29: Densitometrische Auswertung der mit VEGF-A-Inhibitor in unterschiedlichen Konzentrationen inkubierten LiSa-2-Zellen im Western-Blot (0, 10 und 100 ng/ml; 1d, 8d und 15d). Darstellung als relative Dichtewerte nach Auswertung mittels ImageJ-Software. Als Ladekontrolle wurde γ -Tubulin verwendet. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

4.3.2 Einfluss von full-length-VEGF-A auf die in-vitro-Adipogenese

4.3.2.1 Färbung der mit full-length-VEGF-A inkubierten Adipozyten mit Oil Red O

Die mit ORO gefärbten Zellen, welche mit VEGF-A inkubiert wurden, erscheinen nach 15 Tagen als große, voluminöse Adipozyten mit stark rot gefärbten Lipidtröpfchen. Die Lipidtröpfchen sind zahlreicher und voluminöser als in der Kontrolle ohne Peptid. Die Adipozyten, welche ohne das full-length-VEGF-A inkubiert wurden, sind relativ kleiner als jene, die unter Einfluss des Peptids wuchsen. Dies lässt auf eine vermehrte Adipogenese bei den mit dem VEGF-A inkubierten Zellen schließen und die Vermutung zu, dass VEGF-A einen stimulierenden Einfluss auf die Adipogenese ausübt.

Tabelle 16: Lipidtröpfchenanzahl nach Färbung der mit full-length-VEGF-A inkubierten LiSa-2-Zellen und Kontrollen.

| Lipidtröpfchenanzahl nach: | 1 d | 8 d | 15 d |
|----------------------------|-----|-----|------|
| Kontrolle | 64 | 227 | 298 |
| full-length-VEGF-A | 101 | 302 | 365 |

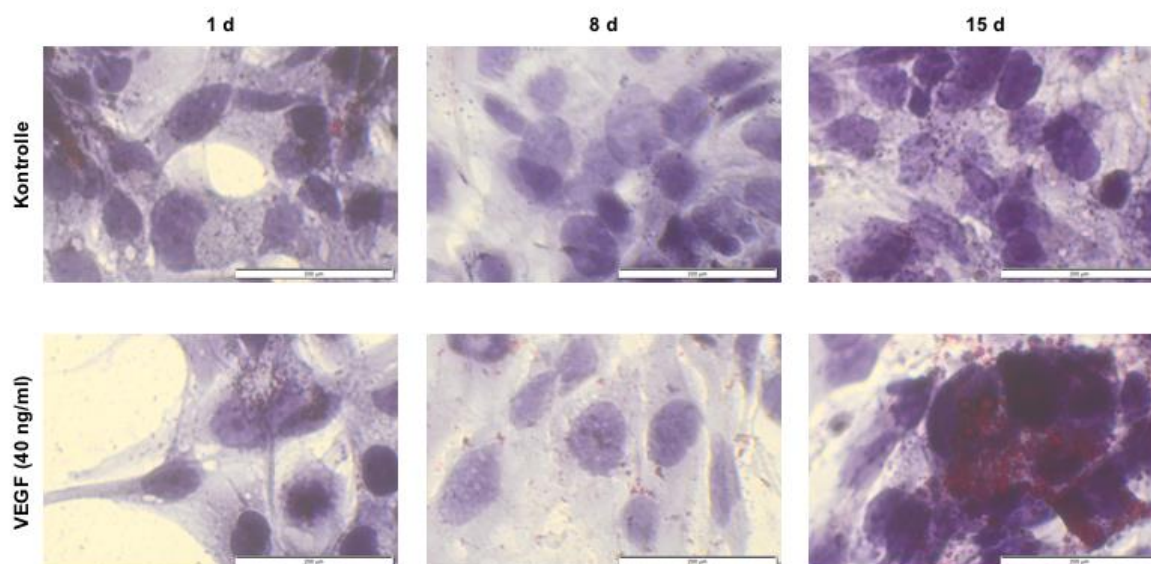


Abb.30: Inkubation von LiSa-2-Zellen für 1d, 8d und 15d mit full-length-VEGF-A in einer Konzentration von 40 ng/ml. Kontrollen wurden ohne full-length-VEGF-A inkubiert. Die Anfärbung erfolgte mit Oil Red O. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

4.3.2.2 Western Blot der mit full-length-VEGF-A inkubierten Adipozyten

Mithilfe eines Western Blots sollte die Wirkung des full-length-VEGF-A auf die Adipogenese untersucht werden. Die Adipozyten wurden für 1, 8 und 15 Tage mit dem VEGF-A in einer Konzentration von 40 ng/ml inkubiert und anschließend lysiert. Außerdem wurde eine Negativ-Kontrolle mit Adipozyten ohne das VEGF-A-Peptid für die jeweils gleichen Zeiträume inkubiert. Der Western Blot zeigt ein erhöhtes PPAR γ nach 15 Tagen im Vergleich zur Kontrolle. Densitometrisch sind außerdem die CSN-Untereinheiten CSN3, CSN8 und CHOP diskret gegenüber der Negativ-Kontrolle erhöht, optisch ist der Unterschied jedoch kaum abgrenzbar. CSN5 zeigt nach 15 Tagen keine Expressionsdifferenz. PPAR γ , CSN8 und CHOP sind gegenüber der Kontrolle nach 8 Tagen verstärkt exprimiert, CSN5 und CSN3 zeigen jedoch nahezu gleiche Proteinlevel. Zum Tag 1 imponieren PPAR γ , CSN3 und CSN5 deutlich erhöht. CHOP und CSN8 sind zur Kontrolle diskret vermindert exprimiert.

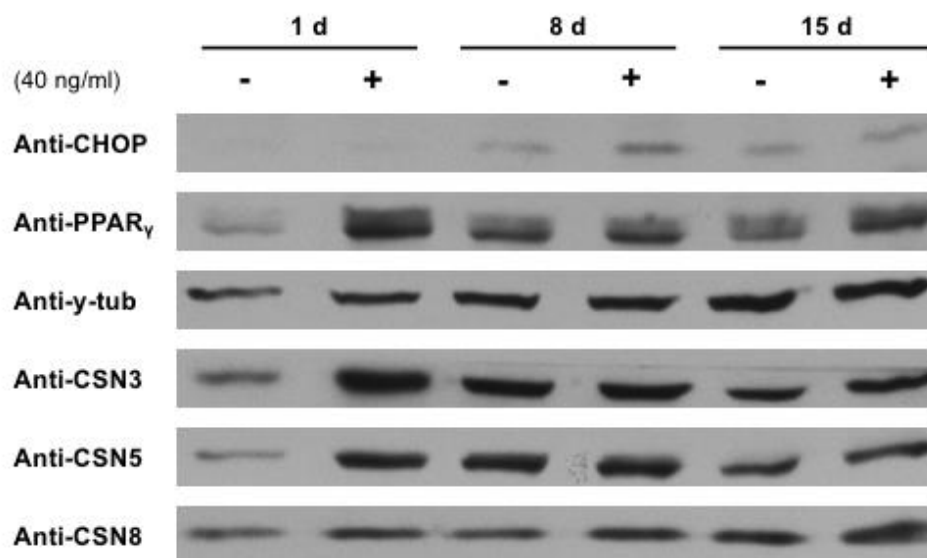


Abb.31: Inkubation von LiSa-2-Zellen mit full-length-VEGF-A (+) in einer Konzentration von 40 ng/ml für 1d, 8d und 15d. Kontrollen (-) wurden ohne full-length-VEGF-A inkubiert. Die Zellen wurden lysiert und die Proteine im Western Blot untersucht. Der Anstieg der Proteine wurde mittels ImageJ Software densitometrisch analysiert. Als Ladekontrolle wurde γ -Tubulin verwendet. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

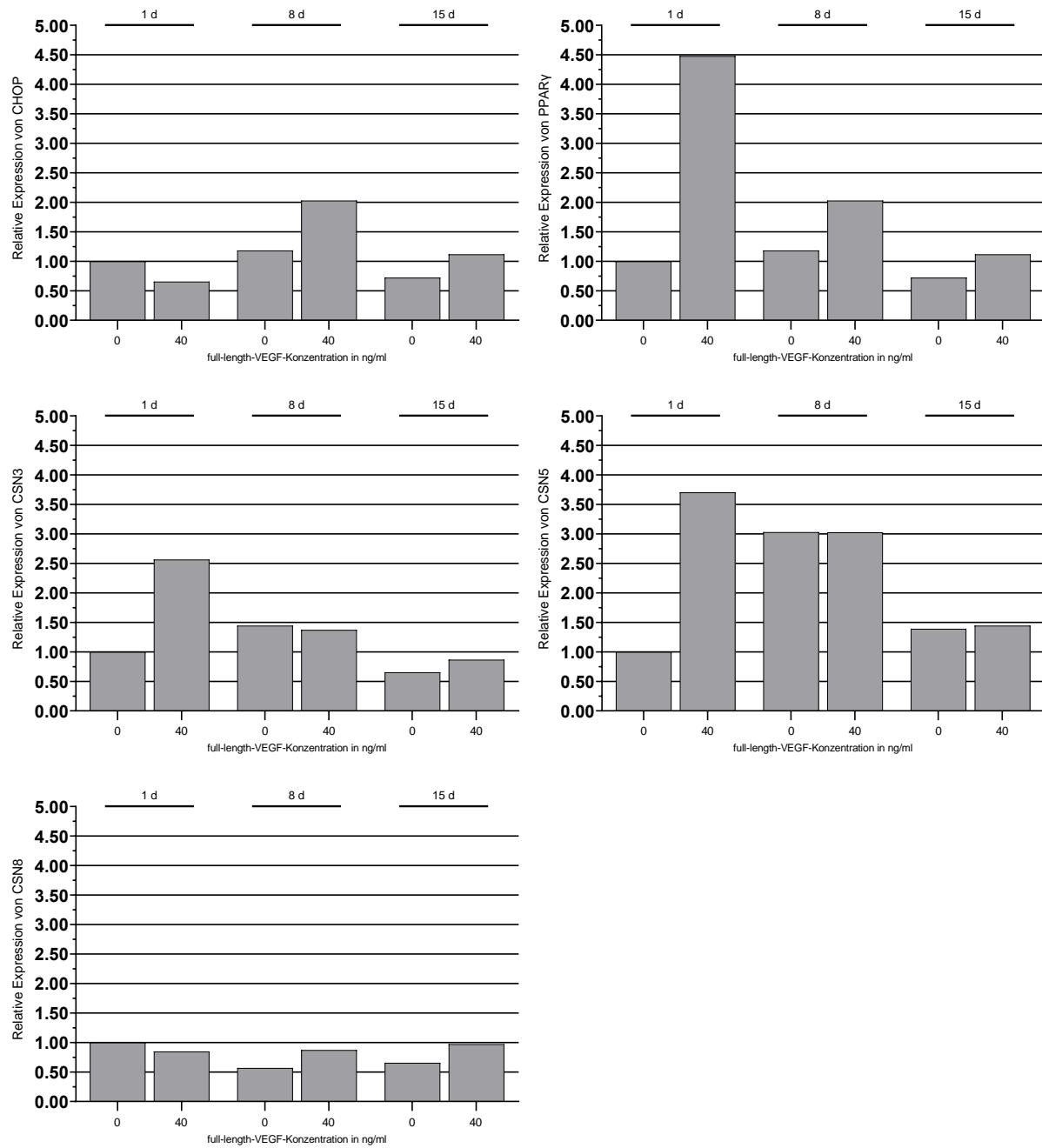


Abb.32: Densitometrische Auswertung der mit full-length-VEGF-A inkubierten LiSa-2-Zellen im Western-Blot (40 ng/ml; 1d, 8d und 15d). Darstellung als relative Dichtewerte nach Auswertung mittels ImageJ-Software. Als Ladekontrolle wurde γ -Tubulin verwendet. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

4.3.3 Einfluss von Apelin-12 auf die in-vitro-Adipogenese

4.3.3.1 Färbung der mit Apelin-12 inkubierten Adipozyten mit Oil Red O

Die mit Oil Red O gefärbten Zellen, welche mit Apelin-12 inkubiert wurden, zeigen ein ähnliches Wachstum der Adipozyten im Vergleich zur Kontrolle nach 15 Tagen. Die mit Apelin-12 inkubierten Zellen weisen jedoch tendenziell weniger angefärbte Lipidtröpfchen auf, die auch weniger zahlreich sind als in der Kontrolle. Nach 8 Tagen ist dieser Unterschied ebenfalls zu erkennen. Die tendenziell verminderte Adipogenese der mit Apelin-12 inkubierten Zellen lässt die Vermutung zu, dass Apelin-12 einen hemmenden Einfluss auf die Adipogenese ausübt.

Tabelle 17: Lipidtröpfchenanzahl nach Färbung der mit Apelin-12 inkubierten LiSa-2-Zellen und Kontrollen.

| Lipidtröpfchenanzahl nach: | 1 d | 8 d | 15 d |
|----------------------------|-----|-----|------|
| Kontrolle | 73 | 203 | 572 |
| Apelin-12 | 71 | 126 | 301 |

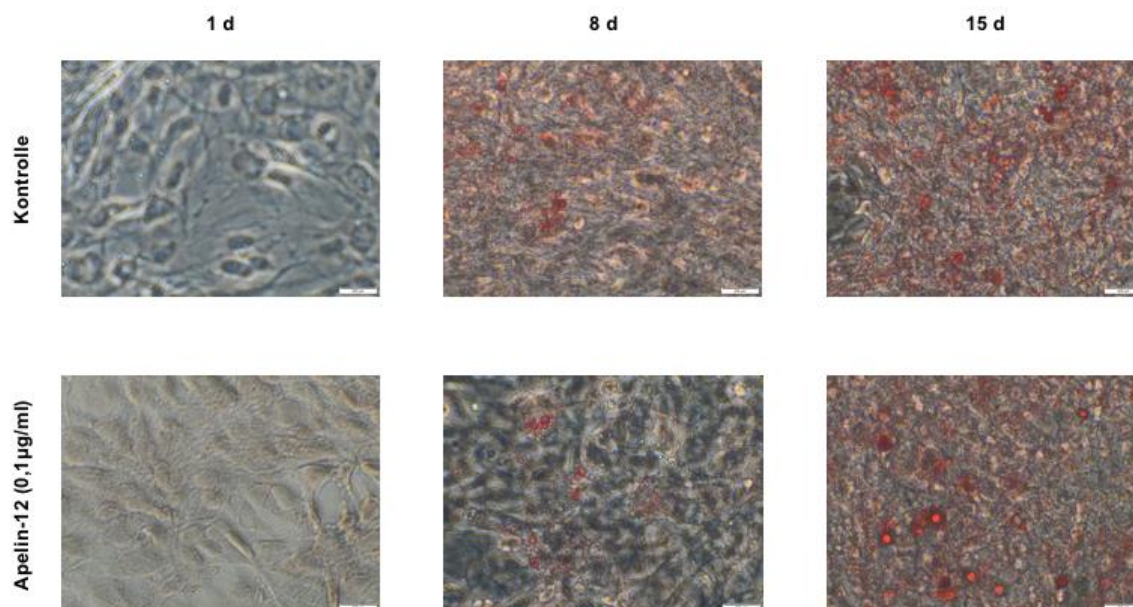


Abb.33: Inkubation von LiSa-2-Zellen für 1d, 8d und 15d mit Apelin-12 in einer Konzentration von 0,1 µg/ml. Kontrollen wurden ohne Apelin-12 inkubiert. Die Anfärbung erfolgte mit Oil Red O. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

4.3.3.2 Western Blot der mit Apelin-12 inkubierten Adipozyten

Mithilfe eines Western Blots sollte die Wirkung des Apelin-12 auf die Adipogenese untersucht werden. Die Adipozyten wurden für 1, 8 und 15 Tage mit dem Apelin-12 in einer Konzentration von 0,1 µg/ml inkubiert und anschließend lysiert. Außerdem wurde eine Negativ-Kontrolle mit Adipozyten ohne das Apelin-12-Peptid für die jeweils gleichen Zeiträume inkubiert. Der Western Blot zur in-vitro-Adipogenese mit Apelin-12 zeigt verminderte Proteinlevel für PPAR γ und CSN7B nach 15 Tagen im Vergleich zur Kontrolle. CHOP, die CSN-Untereinheit CSN5 sowie Cul1 und Cul3 sind gegenüber der Kontrolle tendenziell erhöht. CSN8 zeigt keinen Unterschied der Expression. Nach 8 Tagen ist CHOP in beiden Proben ähnlich stark exprimiert. PPAR γ hingegen erscheint in den mit Apelin-12 beimpften Zellen erhöht. CSN5, CSN8, CSN7B sowie Cul1 und Cul3 erscheinen gegenüber der Kontrolle diskret vermindert exprimiert. Nach 1 Tag imponiert PPAR γ vermindert exprimiert, die übrigen Proteinlevel erscheinen gegenüber der Kontrolle jedoch gering erhöht. Am deutlichsten ist dieser Unterschied bei Cul1 und Cul3 zu erkennen. Darüber hinaus fallen bei Cul1 und Cul3 doppelte Banden auf: die obere Bande ist neddyliertes Cullin, die untere ist deneddyliertes Cullin.

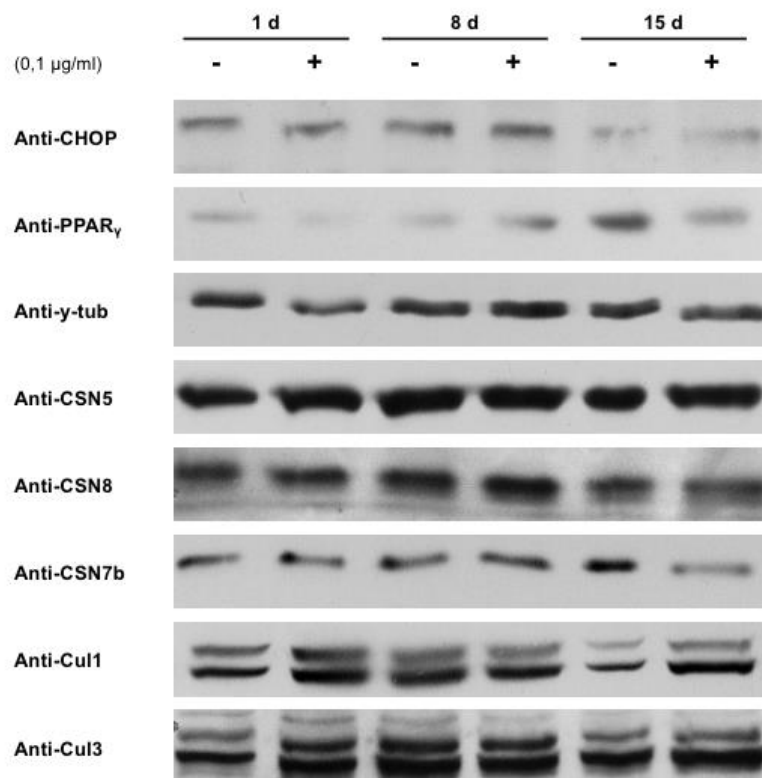


Abb.34: Inkubation von LiSa-2-Zellen mit Apelin-12 (+) in einer Konzentration von 0,1 µg/ml für 1d, 8d und 15d. Kontrollen (-) wurden ohne Apelin-12 inkubiert. Die Zellen wurden lysiert und die Proteine im Western Blot untersucht. Der Anstieg der Proteine wurde mittels ImageJ Software densitometrisch analysiert. Als Ladekontrolle wurde γ -Tubulin verwendet. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

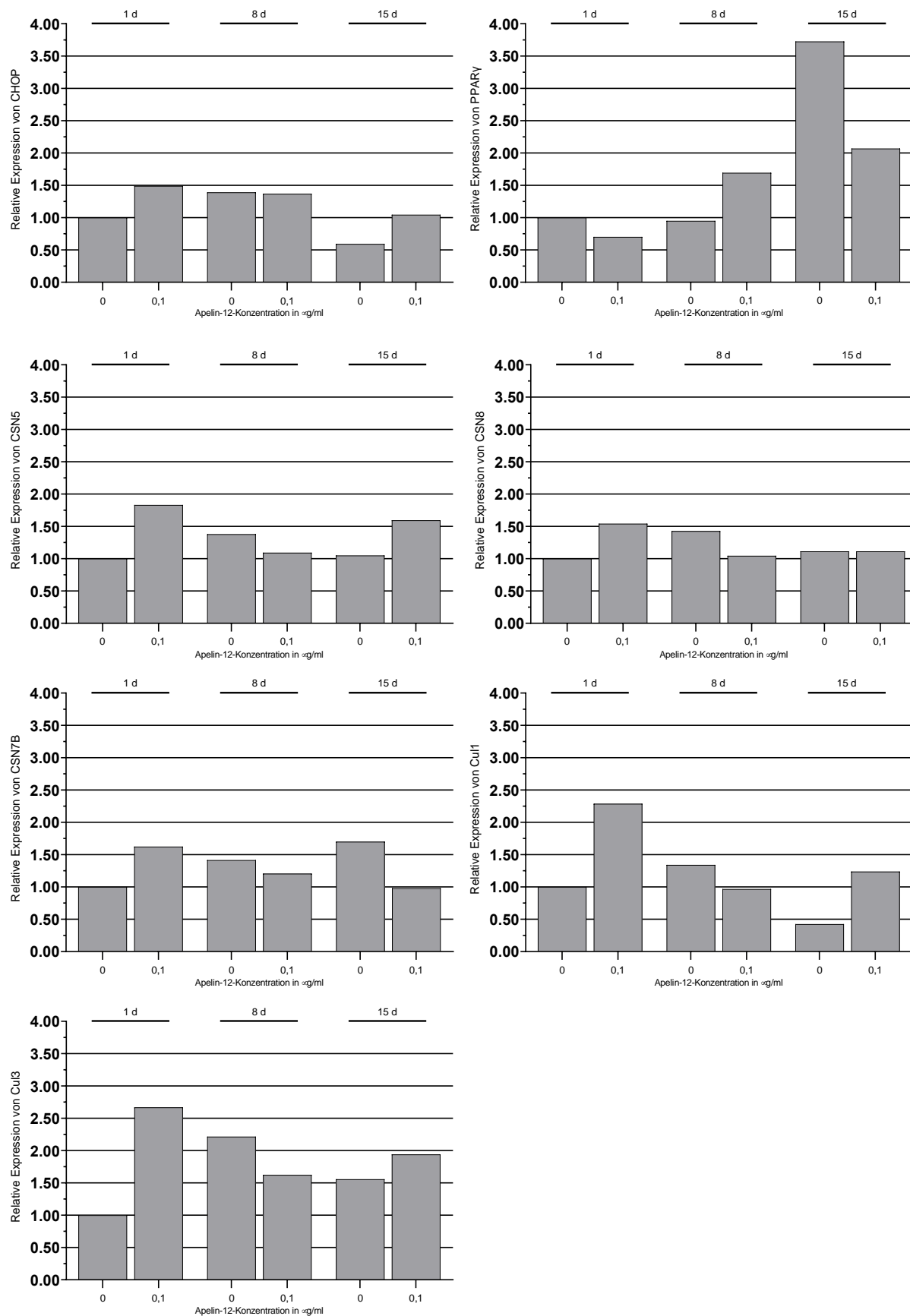


Abb.35: Densitometrische Auswertung der mit Apelin-12 inkubierten LiSa-2-Zellen im Western-Blot (0,1 µg/ml; 1d, 8d und 15d). Darstellung als relative Dichtewerte nach Auswertung mittels ImageJ-Software. Als Ladekontrolle wurde γ -Tubulin verwendet. Das Experiment wurde einmalig durchgeführt.

5 DISKUSSION

5.1 BMI-Verlauf nach bariatrischer Operation

5.1.1 Bariatrische Operationen führen zu einer signifikanten Abnahme des BMI

In der vorliegenden Arbeit wurde die Veränderung des BMI nach bariatrischer Operation untersucht. Es bestand die Annahme, dass der BMI nach dem chirurgischen Eingriff signifikant abnehmen würde. Diese Vermutung hat sich bestätigt. Nach 12 Monaten ist der BMI der Patienten rapide von $51,3 \pm 9,1$ kg/m² präoperativ auf $37,4 \pm 7,7$ kg/m² gesunken. Am Ende eines Untersuchungszeitraums von 24 Monaten steht ein signifikanter Rückgang des BMI um insgesamt 27%.

Eine prospektive randomisierte Studie von Paluszkiwicz et al. konnte ähnliche Reduktionen des BMI anhand einer morbid adipösen Studienpopulation aus 36 LGB und 36 LSG Patienten nachweisen. Charakteristika der Patientengruppe wie Durchschnittsalter, Geschlechterverteilung und Ausgangs-BMI gleichen denen der vorliegenden Arbeit. Der Follow-Up-Zeitraum bei Paluszkiwicz et al. beträgt postoperativ jedoch nur 12 Monate (Paluszkiwicz et al., 2012). Die Studienpopulation hingegen ist circa doppelt so groß. Eine beobachtete Gewichtsverminderung von durchschnittlich $14,05$ kg/m² nach 12 Monaten bestätigt die in dieser Studie beobachteten $13,9$ kg/m² BMI-Abnahme im gleichen Zeitraum. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Ergebnisse in einer größeren Ausgangspopulation reproduzierbar sind (Paluszkiwicz et al., 2012). Eine weitere prospektive, randomisierte Studie mit einer Population von 23 Patienten, bei denen allerdings zu Studienbeginn ein Diabetes mellitus ausgeschlossen wurde, kam zu ähnlichen Ergebnissen (Peterli et al., 2012). Eine umfassende systematische Zusammenfassung von 136 Studien hat 22094 bariatrisch operierte Patienten mit einem durchschnittlichen Ausgangs-BMI von $46,9$ kg/m² und unterschiedlichen zeitlichen Endpunkten untersucht (H. Buchwald et al., 2004). Bei 8232 Patienten dieser Population wurde der Gewichtsverlust als BMI in kg/m² angegeben. Er betrug im Durchschnitt $14,2$ kg/m² (H. Buchwald et al., 2004).

An den Ergebnissen der BMI-Veränderung fällt auf, dass die Streubreite der Werte nach 6 Monaten postoperativ erst stark von $\pm 9,1$ auf $\pm 7,6$ abfällt, anschließend jedoch leicht steigt bis auf einen Wert von $\pm 7,9$ nach 24 Monaten. Andere Studien zeigen im Vergleich dazu unterschiedliche Ergebnisse. Die Ergebnisse von Peterli et al. zeigen nach einem anfänglichen Abfall der SD nach 3 Monaten einen erneuten Anstieg bis zu einem Jahr nach OP (Peterli et al., 2012). Grund könnte hier die kleiner gewählte Patientenpopulation von 23 Patienten sein, die zu einer größeren Streuung der Werte führen kann. Die Patienten wurden mit einer Follow-Up-Rate von 100% nachverfolgt. Patientenindividuelle Besonderheiten in der Nachbehandlung und vom Patienten beeinflussbare Faktoren wie die Einhaltung eines Ernährungsplanes oder physische

Aktivität könnten zu einem langsamen Anstieg der Streubreite der Patienten-BMIs im Verlauf des Follow-Ups geführt haben (Christou, Look, & Maclean, 2006; Kim, Madan, & Fenton-Lee, 2014; Toussi, Fujioka, & Coleman, 2009).

Die Studie von Paluszkiwicz et al. mit einer untersuchten Gruppe von 72 Patienten und einer Follow-Up-Rate von 100% zeigt in Bezug auf die Streuung der Werte einen ähnlichen Trend (Paluszkiwicz et al., 2012). Im Gegensatz dazu ergeben sich in einer anderen randomisierten Studie mit 41 ausschließlich diabetischen Typ-2 Patienten und einem Follow-Up von circa 90% abweichende Ergebnisse (Keidar et al., 2013). Hier nimmt die Streuung nach dem Ausgangswert konstant ab und zeigt keinen Wiederanstieg wie in den beiden anderen Studien. Lässt man die oben genannten möglichen Einflussfaktoren auf das postoperative Ergebnis außer Acht, könnte angenommen werden, dass das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2 einen Einfluss auf die Effektivität der bariatrischen OP hat. Grundsätzlich könnte auch die größere Homogenität der Patientenpopulation durch die Vorauswahl anhand der Insulinresistenz bzw. Diabetes mellitus Typ 2, eine Ursache dafür sein, dass die BMI-Werte am Endpunkt der Studie von Keidar et al. weniger voneinander abweichen als in dieser Arbeit. Eine Frage, die sich hieraus ergibt ist, ob Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 nicht nur metabolisch, sondern auch in Bezug auf die Gewichtsreduktion mehr profitieren als Patienten ohne diese Erkrankung.

Anhand der vorgestellten Literatur konnte gezeigt werden, dass auch in ähnlichen Studien mit geringerer und höherer Patientenzahl ähnliche Veränderungen der BMI-Werte und deren Streubreite im Verlauf auftreten. In Bezug auf die vorliegende Arbeit könnten ebenfalls eine relativ kleine Patientenzahl ($n=30$), eine bezüglich Vorerkrankungen relativ inhomogene Kohorte sowie ein Verlust von Patienten im Follow-Up - neun Patienten nach 12 Monaten und 18 Patienten nach 24 Monaten - ursächlich für die Wiederzunahme des SD nach 6 Monaten sein. Dennoch sind die Unterschiede im BMI zwischen den einzelnen Messzeitpunkten und dem Ausgangswert jeweils stets signifikant. Die Abnahme des BMI zeigt in Anbetracht der Ergebnisse anderer Studien einen durchschnittlichen Verlauf (H. Buchwald et al., 2004). Es bleibt anzumerken, dass einer systematischen Zusammenfassung von Studien zufolge der präoperative BMI negativ mit dem postoperativen Gewichtsverlust korreliert (Livhits et al., 2012). Es kann daher davon ausgegangen werden, dass in einer Population mit vielen morbid adipösen, super adipösen und normal adipösen Patienten der relativ höhere Abnehmerfolg der weniger adipösen in dem der schwer adipösen untergeht. Außerdem trägt auch dieser Faktor zur Streuung der Werte bei. Um den Abnehmerfolg einer bestimmten Gruppe von Patienten, wie z. B. den morbid Adipösen genauer analysieren zu können, hätte in der vorliegenden Studie eine homogenere Gruppe von Patienten anhand eines enger eingegrenzten BMI-Bereichs sowie des Ein- oder Ausschlusses von Patienten mit bestimmten Komorbiditäten gewählt werden müssen.

Weiterhin bemerkenswert ist der in Relation schnellste Abfall des BMI innerhalb der ersten 6 Monate nach OP. Diese Entwicklung findet sich ebenfalls in anderen Studien wieder und ist im Ausmaß dabei mit den hier erhobenen Daten vergleichbar (Karamanakos et al., 2008; P. R. Schauer, Ikramuddin, Gourash, Ramanathan, & Luketich, 2000). In einer Studie mit 62 Patienten nach LSG und einem Ausgangs-BMI von durchschnittlich 41,4 kg/m² wurde eine im Vergleich dazu geringere BMI-Differenz von 9,4 kg/m² ermittelt (Roa et al., 2006).

Insgesamt kam es nach 24 Monaten zu einem Absinken des BMIs um 13,8 kg/m², was eine Abnahme um insgesamt 27% darstellt. Eine Meta-Analyse wies für LGB einen gemittelten BMI-Rückgang von 33% nach (Henry Buchwald et al., 2009). Schauer et al. zeigt für eine morbid adipöse und ausschließlich mit LGB behandelte Patientengruppe mit einem Ausgangs-BMI von 48,02 kg/m² einen Abfall um 43% nach zwei Jahren (P. R. Schauer et al., 2000). Eine weitere Arbeit weist anhand von 243 LGB-Patienten einen Rückgang des BMI um 41% in einem postoperativen Zeitraum von zwei Jahren nach (MacLean, Rhode, & Nohr, 2000). Im Unterschied zu diesen Studien konnten in der vorliegenden Arbeit, unter anderem durch das prospektive Studiendesign bedingt, nicht alle Patienten bis zum letzten Messzeitpunkt von 24 Monaten nachverfolgt werden. Am Ende des Untersuchungszeitraums sind von den ursprünglich 30 Patienten nur noch 12 übrig. Dies könnte eine Ursache für den im Verhältnis zu anderen Studien geringeren BMI-Rückgang nach 24 Monaten sein. Es ist bekannt, dass bariatrische Patienten nach OP eine geringere Compliance bei der Einhaltung der Kontrolltermine sowie den ärztlichen Vorgaben zur Gewichtsreduktion und körperlichen Betätigung zeigen als vor dem Eingriff (Poole et al., 2005). Zahlreiche Studien deuten darauf hin, dass eine hohe Compliance in der Einhaltung von Follow-Up-Terminen nach OP bei diesen Patienten zu statistisch erfolgreicherem Gewichtsverlust führt (Compher, Hanlon, Kang, Elkin, & Williams, 2012; Gould, Beverstein, Reinhardt, & Garren, 2007; Kim et al., 2014). Dieser Feststellung nach müssten die erwähnten 12 übrigen Patienten einen eher überdurchschnittlichen Gewichtsverlust zeigen. Andererseits besteht 24 Monate nach bariatrischer Operation ein allgemeiner Trend zur Wiederaufnahme von Gewicht (Christou et al., 2006; Livhits et al., 2011; Magro et al., 2008). Diese Tendenz erklärt am ehesten den verhältnismäßig geringen BMI-Rückgang nach 24 Monaten sowie das Stagnieren bzw. die leichte Zunahme des BMI zwischen 12 und 24 Monaten in der vorliegenden Arbeit.

Die Ergebnisse dieser Studie werden durch eine Meta-Analyse randomisierter Studien aus dem Jahr 2017 bestätigt (Osland, Yunus, Khan, Memon, & Memon, 2017). Die Arbeit vergleicht LGB mit LSG und beobachtet einen Rückgang des BMI um 12,7 kg/m² (LSG) und 13,0 kg/m² (LGB) nach 12 Monaten. In Studien mit drei Jahren Follow-Up wird eine BMI-Reduktion von 11,2 kg/m² (LSG) und 12,3 kg/m² (LGB) ermittelt. Auffällig ist, dass die in der vorliegenden Studie beobachtete Tendenz zur Stabilisierung des BMI nach 24 Monaten mit leichtem Aufwärtstrend in

der erwähnten Meta-Analyse ebenfalls auftritt. Zwischen ein und drei Jahren nach OP wird für LSG eine Gewichtszunahme von 0,5 bis 1,5 kg/m² und von 0,5 bis 1,3 kg/m² für LGB festgestellt. Dieser Trend setzt sich in einer der untersuchten Studien sogar bis zu fünf Jahre nach OP fort (Osland et al., 2017). Grund für den Wiederanstieg des BMI nach 12 Monaten könnten anatomische Veränderungen in der postoperativen Phase sein, wie eine Erweiterung des Pouchs bzw. des Durchmessers der Gastrojejunostomie oder eine gastrogastrale Fistelbildung, welche die Restriktion vermindern (W. J. Lee & Almulaifi, 2015; Noah J Switzer, 2014). Zudem wurde in einer Arbeit festgestellt, dass in der Ernährungs-Nachbetreuung nach zwei Jahren postoperativen Follow-Ups nur noch wenige Patienten regelmäßig erscheinen, sodass nach fünf Jahren nur noch 3% der Ausgangskohorte nachverfolgt werden können (Freire, Borges, Alvarez-Leite, & Correia, 2012). Desweiteren werden hormonelle Anpassungsprozesse wie ein Wiederanstieg des appetitanregenden Hormons Ghrelin als Ursache für einen Wiederanstieg des Gewichts nach OP diskutiert (Noah J Switzer, 2014). Die Meta-Analyse von Osland et al. beobachtet in den Studien mit einem Follow-Up von drei bis fünf Jahren ebenfalls einem Verlust von Patienten, der von 32 bis 95% reicht (Osland et al., 2017). Da ein nachhaltiges Follow-Up mit besseren Ergebnissen in der Gewichtsreduktion assoziiert zu sein scheint, ist eine durchgängige Nachverfolgung von Patienten dringend notwendig für die Qualität neuer Studien (Spaniolas, Kasten, Celio, Burruss, & Pories, 2016).

5.1.2 Einfluss von Komorbiditäten, Geschlecht und Operationsart auf den BMI.

Die Ergebnisse des Gruppenvergleichs sind in Bezug auf die arterielle Hypertension unter dem Vorbehalt zu betrachten, dass die Patientenzahlen in dieser Kategorie deutlich ungleichmäßig verteilt sind. Wird dies außer Acht gelassen, kann ein tendenzieller Wiederanstieg des BMI unter den normotonen Individuen nach 12 und 24 Monaten beobachtet werden. Außerdem fällt der BMI in der normotonen Gruppe zu keinem der postoperativen Zeitpunkte signifikant unter den Ausgangswert. Demgegenüber sinkt der BMI bei hypertonen Patienten kontinuierlich und signifikant ab. Die ungleichmäßige Verteilung der Patienten ist der Tatsache geschuldet, dass über die Indikation zur bariatrischen Operation hinaus keine interindividuellen Faktoren wie Geschlecht, Operationstechnik oder Komorbiditäten Einfluss auf die Patientenauswahl hatten. Der Überhang an Patienten mit arterieller Hypertension ist am ehesten damit zu erklären, dass viszerale Adipositas als ein Hauptrisikofaktor für Bluthochdruck eng mit diesem assoziiert ist und daher die Mehrheit der untersuchten Patienten diese Komorbidität aufweist. (J. E. Hall, 2003). Mögliche Ursache für den relativen Misserfolg der bariatrischen Operation in den normotonen Individuen könnte sein, dass diese zur Gruppe der metabolisch gesunden Adipösen gehören. Diese Patienten akkumulieren zwar Körperfett im Überschuss, weisen dabei jedoch keine oder weniger metabolische Folgeerscheinungen der Adipositas auf, was sich z.B. in einer verhältnismäßig hohen Insulinsensitivität, fehlendem Bluthochdruck und einem normalen

Blutlipidprofil äußern kann (Karelis et al., 2005). Es ist beschrieben, dass diese Individuen, welche bis zu 30% der Adipositaspatienten ausmachen, durch gewichtsreduzierende Maßnahmen metabolisch nicht profitieren. (Brochu et al., 2001; Karelis et al., 2005; Wildman et al., 2008). Metabolische Unterschiede könnten auch Ursache für die geringere Gewichtsabnahme und des Wiederanstiegs des BMI in der normotonen Gruppe sein (Karelis et al., 2005). Beim Vergleich von Diabetikern und Nicht-Diabetikern zeigt sich statistisch und grafisch kein eindrücklicher Unterschied zwischen den Gruppen. Beide erreichen eine kontinuierliche Gewichtsabnahme auf etwa gleichem Niveau. Jedoch zeigt die Literatur sowohl für herkömmlichen Methoden der Gewichtsreduktion als auch bariatrische Eingriffe, dass Diabetiker gegenüber Nicht-Diabetikern eine verminderte Gewichtsreduktion aufweisen (Carbonell et al., 2008; Wing, Marcus, Epstein, & Salata, 1987). Die vorliegende Arbeit weist anhand einer kleinen Studienpopulation nach, dass Diabetiker und Nicht-Diabetiker gleichsam von der Operation profitieren. Der Vergleich von Patienten mit und ohne Schlafapnoe ergibt, dass etwas weniger als die Hälfte der Patienten zum Zeitpunkt 0 von der Erkrankung betroffen sind. Die Prävalenz der Schlafapnoe scheint unter Adipositaspatienten sehr variabel und reicht je nach Studie von 15 bis 90 Prozent (Frey & Pilcher, 2003; Marshall et al., 2011; O'Keeffe & Patterson, 2004). Es fällt auf, dass die Schlafapnoe-Patienten sowohl zum Zeitpunkt 0, als auch zu den postoperativen Untersuchungszeitpunkten jeweils höhere BMI-Werte aufweisen, als die Vergleichsgruppe. Dabei ist der Unterschied nur zum Zeitpunkt 0 signifikant. Beide Gruppen nehmen über den gesamten Untersuchungszeitraum signifikant ab. Die erhöhten BMI-Werte der Schlafapnoe-Gruppe lassen sich anhand mehrerer Studien erklären welche die Adipositas als wichtigsten Risikofaktor für das Auftreten der Schlafapnoe formulieren (Jehan et al., 2017; Malhotra & White, 2002). Demzufolge führt verminderte Schlafqualität aufgrund von Schlafapnoe bei Adipositas zur Imbalance zirkadianer Rhythmen und hormoneller Regelkreise wie z.B. des Leptin oder Ghrelin. Dies kann Adipositas-förderliches Verhalten begünstigen, das Übergewicht sowie die metabolischen Komorbiditäten auf endokrinem Wege verstärken und so möglicherweise den stets höheren BMI in der Schlafapnoe-Gruppe erklären (Jehan et al., 2018; Jehan et al., 2017). Im Vergleich der Geschlechter fällt ein tendenziell höherer BMI der Männer zu 0 und 6 Monaten auf. Global gesehen gibt es mehr adipöse Frauen als Männer, besonders in den Industrienationen und so auch in der vorliegenden Arbeit, stellt sich die Geschlechterverteilung der Adipositas jedoch umgekehrt dar (Kanter & Caballero, 2012). Stroh et al. untersuchten eine große Patientenpopulation aus der German-Bariatric-Surgery-Registry und kamen ebenfalls zu dem Ergebnis, dass Männer im Durchschnitt einen höheren Ausgangs-BMI aufweisen und nach OP geringfügig weniger an Gewicht verlieren als Frauen. Männer zeigen darüber hinaus eine geringere postoperative Remission der Komorbiditäten als Frauen (Stroh et al., 2014). In der vorliegenden Arbeit scheinen Männer und Frauen bezüglich des Gewichtsverlustes in ähnlicher Weise zu profitieren. Im Vergleich der Operationstechniken fällt auf, dass LSG-Patienten einen

höheren Ausgangs-BMI als die LGB-Patienten aufweisen. Bis 12 Monate nach OP gleichen sich die Werte allmählich an. Nach 24 Monaten jedoch wiegen LGB-Patienten wieder fast so viel wie vor der OP und deutlich mehr als Patienten nach LSG. Grundsätzlich zeigen große randomisierte Studien, dass beide OP-Verfahren einen ähnlichen Abnehmerfolg aufweisen (Arterburn & Gupta, 2018; Peterli et al., 2017). Mehrere Arbeiten berichten für LGB jedoch auch über eine Wiedezunahme des BMI nach 2 Jahren (Cooper, Simmons, Webb, Burns, & Kushner, 2015; Magro et al., 2008). Am ehesten ist der Gewichtsverlauf in der vorliegenden Studie mit der geringeren Patientenzahl zu erklären. Darüber hinaus könnte jedoch auch eine Rolle spielen, dass im Rahmen der LGB-Operation im Gegensatz zu LSG keine Ghrelin-produzierenden Zellen reseziert werden, was langfristig eine Minderung des Appetitgefühls und damit einen nachhaltigen Gewichtsverlust fördern würde (Karamanakos et al., 2008). Die vorliegende Arbeit ergibt eine tendenziell nachhaltigere BMI-Reduktion für Patienten nach LSG-Operation.

5.2 VEGF-A-Serumkonzentration nach bariatrischer Operation

5.2.1 Nach bariatrischer Operation nimmt die VEGF-A-Serumkonzentration ab.

Ein Absinken des VEGF nach bariatrischer Operation sowie ein Abfall des BMI waren Ausgangspunkt der Erwartungen dieser Studie. Der nach der Operation angestoßene Abbau des vaskularisierten Fettgewebes lässt die Vermutung zu, dass es zu Änderungen in der Konzentration gefäßrelevanter Peptide kommt. Dabei wurde insbesondere auf das VEGF fokussiert, welches eine bedeutsame Rolle in der Bildung von Blutgefäßen einnimmt (Ferrara & Bunting, 1996). Der erwartete Effekt der OP auf die Serumspiegel des Peptids konnte als signifikant nachgewiesen werden. Es wurde ein positiver Zusammenhang zwischen Patienten-BMI und Serum-VEGF-A-Konzentration festgestellt.

Es ist bekannt, dass morbid adipöse Patienten erhöhte Serum-Spiegel des VEGF-A im Vergleich zu gesunden Kontrollen aufweisen (Garcia de la Torre et al., 2008). VEGF-A wird in Fettgewebe stark exprimiert. Während der Adipogenese nimmt diese Expression weiter zu (Q. X. Zhang et al., 1997). So sind die erhöhten präoperativen VEGF-A-Konzentrationen der morbid adipösen Patienten vor der Operation erklärbar. In 45 morbid adipösen Frauen wurde bei ähnlichem Ausgangs-BMI nach bariatrischem Eingriff im Vergleich dazu höhere präoperative VEGF-A-Werte im Serum ermittelt (Garcia de la Torre et al., 2008). Eine Studie mit 15 untersuchten Patienten, bei einem Ausgangs-BMI von 42,3 kg/m² ergab eine Baseline VEGF-A-Konzentration im Plasma von 129,6 pg/ml (Farey et al., 2017). Der signifikante Abfall der Werte in Serum und Plasma nach Operation findet sich ebenfalls in der Literatur wieder (Farey et al., 2017; Garcia de la Torre et al., 2008). Es ist bekannt, dass abdominal-chirurgische Eingriffe wie LGB mehrere Tage nach der Operation die Plasma-Spiegel von VEGF erhöhen können, wobei offene gegenüber laparoskopischen Verfahren einen größeren Effekt haben (Belizon et al., 2006).

Die unterschiedlichen Ergebnisse verschiedener Studien zur postoperativen Konzentration von VEGF im Blut können verschiedene Gründe haben. Es wird diskutiert, ob Plasma oder Serum zur Messung von VEGF genutzt werden sollte. Banks et al. statuiert, dass ausschließlich innerhalb von 1 h nach Abnahme hergestelltes Citrat-Plasma zur Messung von VEGF im Blut geeignet sei (Banks et al., 1998). Bei der Messung von VEGF in herkömmlich gewonnenem Plasma und Serum wurde festgestellt, dass im Serum die Konzentrationen insgesamt höher und auch gestreuter waren als in Plasma. Als Ursache dafür nennt Banks et al. die lokale Freisetzung von VEGF aus den Thrombozyten während der Blutgerinnung. Da die Blutproben zur Gewinnung von Serum zuerst zur Koagulation gebracht und anschließend zentrifugiert werden, könnte der beschriebene Mechanismus die im Verhältnis zu Plasma erhöhten Serum-VEGF-Werte erklären. Im Gegensatz hierzu argumentiert George et al., dass VEGF-Konzentrationen in Plasma und Serum miteinander positiv korrelieren. Plasma sei jedoch aufgrund zu nah an der

Nachweisgrenze liegenden Konzentrationen des Faktors weniger für die ELISA-Methode geeignet als Serum. Es wird deshalb eine Normalisierung des Serum-VEGFs mithilfe der Thrombozytenzahl empfohlen (George, Eccles, Tutton, Abulafi, & Swift, 2000). Unabhängig davon, ob Serum oder Plasma genutzt wurde, zeigen Studien, welche die VEGF-Konzentrationen im Blut nach bariatrischer Operation untersucht haben, ähnliche Trends (Farey et al., 2017; Garcia de la Torre et al., 2008). Es sollte also bedacht werden, dass studienspezifische Unterschiede der Ausgangswerte des VEGF durch patientenindividuelle Blutzusammensetzung aber auch methodische Differenzen wie z.B. bei der Serumgewinnung bedingt sein können.

Das VEGF im Serum fällt von einem präoperativen Ausgangswert von $189,5 \pm 17,2$ pg/ml nach 6 Monaten auf $140,9 \pm 19,6$ pg/ml. Nach 12 Monaten fällt der Wert signifikant um 35% im Vergleich zum Ausgangswert auf $119,9 \pm 14,9$ pg/ml. Die oben erwähnte Studie von Garcia de la Torre et al untersuchte u. a. 17 morbid adipöse Frauen 9 bis 12 Monate nach LGB. Diese wurden jedoch alle in einem offenen Verfahren operiert (Garcia de la Torre et al., 2008). Eine offene Operationstechnik ist assoziiert mit erhöhten Plasma-VEGF-Werten wenige Tage nach OP (Belizon et al., 2006). Allerdings liegen in der Literatur bisher keine Daten zur Entwicklung der VEGF-A-Konzentration nach Wochen, Monaten und Jahren vor. Hierin liegt u.a. der Erkenntnisgewinn der vorliegenden Studie. Es zeigt sich eine kontinuierliche Abnahme der Serumkonzentration des VEGF bis 24 Monate nach OP. Verglichen mit der Studie von Garcia de la Torre et al., bei der es nach 9 bis 12 Monaten zu einem Abfall des Serum-VEGF um nur 8,7% kommt, ist in der vorliegenden Studie ein deutlich stärkerer Abfall um 35% nach 12 Monaten zu verzeichnen. In Anbetracht der Erkenntnisse von Belizon et al., kann vermutet werden, dass die offene operative Vorgehensweise von Garcia de la Torre et al. ein Grund für die langsamere Abnahme der Werte in jener Studie ist. Neben dem größeren intraoperativ gesetzten Trauma bei offenen Verfahren werden die Inzisionslänge, Gewebeischämie, Luftexposition, peritoneale Austrocknung, CO₂-Zufuhr und der Operateur-spezifische Umgang mit den Geweben als Ursache für erhöhtes VEGF diskutiert (Belizon et al., 2006). Der VEGF-Anstieg wird in der Studie allerdings nur bis maximal drei Tage nach OP untersucht. Es bleibt offen, ob sich dieser Effekt bis in die ersten postoperativen Monate fortsetzt und damit tatsächlich die langsamere Abnahme des VEGF bis zu 12 Monaten bei de la Torre et al. erklären kann.

Die Streuung der Werte in der vorliegenden Studie steigt von präoperativ $SD \pm 17,2$ auf $SD \pm 19,6$ nach 6 Monaten. Die Standardabweichung sinkt nach 12 Monaten auf $SD \pm 14,9$ und nimmt bis zum letzten Messzeitpunkt nach 24 Monaten wieder bis zu einem Wert von $SD \pm 19,1$ zu. Der leichte Anstieg der Streuung 6 Monate nach OP findet sich auch in einer anderen Studie wieder, welche LSG-Patienten 12 Wochen postoperativ untersucht hat (Farey et al., 2017). Eine weitere Studie weist eine Abnahme des Interquartilsabstands nach 9-12 Monaten nach (Garcia de la

Torre et al., 2008). Die VEGF-Konzentrationen im Serum der bariatrisch operierten Adipositaspatienten in der vorliegenden Arbeit fallen bis 24 Monate nach OP im Vergleich zum präoperativ erhobenen Wert um 41% ab. Obwohl der Großteil der VEGF-Senkung schon in den ersten 6 Monaten erfolgt, besteht selbst 12 bis 24 Monate postoperativ immer noch eine Tendenz kontinuierlicher Abnahme. Dies deutet auf einen Langzeiteffekt der Operation hin, der hiermit in Bezug auf VEGF erstmalig für einen Zeitraum von zwei Jahren nachgewiesen wird. VEGF ist als Stimulator der Angiogenese nicht nur für die Ausbildung von Blutgefäßen im Fettgewebe sondern bspw. auch von Metastasen bei Krebserkrankungen relevant (Ferrara & Bunting, 1996). Die bariatrische Chirurgie könnte somit das Risiko des Neuauftretens und der Progression von Krebserkrankungen reduzieren (Gong, Agalliu, Lin, Stanford, & Kristal, 2007; Porter, Inglis, Wood, & Veugelers, 2006).

Verschiedene Metaanalysen und epidemiologische Studien zeigen eine positive Korrelation der Adipositas mit der Inzidenz verschiedener Krebsarten (Dobbins, Decorby, & Choi, 2013; Renehan et al., 2010). Außerdem wird ein erhöhter BMI mit schlechterem Outcome und erhöhten Remissions- und Mortalitätsraten bei Tumorerkrankungen in Verbindung gebracht (Riondino et al., 2014). Kohortenstudien und randomisierte kontrollierte Studien mit bariatrischen Interventionen bei Adipositaspatienten zeigen eine relativ schnelle Reduktion der Krebsinzidenz nach beabsichtigter Gewichtsabnahme (Ungefroren, Gieseler, & Lehnert, 2015). Ein Review-Artikel kommt zu dem Schluss, dass sowohl die Inzidenz von Krebserkrankungen als auch die Konzentration krebsrelevanter Mediatoren im Blut der bariatrisch operierten Patienten postoperativ reduziert werden (Byers & Sedjo, 2011). Eine klinische Studie untersuchte den prädiktiven Wert des BMIs für das Ansprechen von Patienten mit metastasiertem kolorektalem Karzinom auf eine Behandlung mit Bevacizumab (Guiu et al., 2010). Bevacizumab ist ein monoklonaler Antikörper, welcher an VEGF bindet und somit die Bindung an den VEGF-Oberflächenrezeptor verhindert. Damit kann die Bildung neuer Blutgefäße z. B. in Tumorgewebe inhibiert und dessen Blutversorgung eingeschränkt werden (Shih & Lindley, 2006). Es konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung des BMI mit Zunahme des subkutanen und viszeralen Fettgewebes signifikant mit einem Nicht-Ansprechen auf die Anti-VEGF Bevacizumab-Therapie assoziiert ist. Time-to-Progression und Gesamtüberleben waren bei Patienten mit erhöhtem BMI kürzer als bei Normalgewichtigen (Guiu et al., 2010). Es ist außerdem bekannt, dass VEGF-A in die Produktion von IL-8 involviert ist (Pae, Oh, Choi, Kim, & Chung, 2005). Dieses Zytokin weist unter anderem atherogene Eigenschaften auf. Es ist in adipösen Individuen erhöht und korreliert positiv mit dem BMI, dem Körperfettanteil und der Fettmasse (Straczkowski et al., 2002). VEGF-A könnte daher auch indirekt für einen Anstieg des kardiovaskulären Risikos in adipösen Patienten verantwortlich sein (Garcia de la Torre et al., 2008).

Es deutet sich an, dass die proangiogenen Prozesse, welche durch Adipositas angestoßen werden, reversibel sind und durch die OP karzinogene Prozesse einen milderen Verlauf nehmen, was die bariatrische Chirurgie zukünftig eine größere Rolle in der Krebsprävention einnehmen lassen könnte (Farey et al., 2017). Dabei scheint eine Abnahme angiogener Faktoren wie des VEGF-A mit einem reduzierten Krebsrisiko einherzugehen.

5.2.2 Es besteht ein Zusammenhang zwischen dem Verlauf des BMI und der VEGF-A-Serumkonzentration nach bariatrischer Operation.

Im Rahmen der Regressionsanalyse zur Untersuchung des Zusammenhangs der postoperativen Änderung des BMI und der VEGF-A-Konzentration wurde eine positive Beziehung zwischen diesen Variablen festgestellt. Für die Differenzen beider Parameter zwischen Zeitpunkt 0 und 12 Monaten sowie Zeitpunkt 0 und 24 Monaten kann formuliert werden: Je mehr der BMI postoperativ sinkt, desto stärker nimmt auch die Serum-Konzentration des VEGF ab.

Mehrere Studien haben gezeigt, dass die bariatrische Chirurgie und der damit einhergehende Gewichts- und Fettmasseverlust mit einem reduzierten Risiko für Krebserkrankungen assoziiert ist (Adams et al., 2009; Christou, Lieberman, Sampalis, & Sampalis, 2008; Maret-Ouda et al., 2017; McCawley, Ferriss, Geffel, Northup, & Modesitt, 2009; Sjostrom et al., 2009). Es bleibt jedoch bisher unklar, ob die Risikoreduktion auf die bariatrische Operation selbst oder den Gewichtsverlust zurückzuführen ist, welcher durch die Prozedur induziert wird (D. P. Schauer et al., 2017). Die vorliegende Literatur weist zwar grundsätzlich auf einen Zusammenhang zwischen VEGF- und dem BMI hin, bisher konnte jedoch keine positive Korrelation der Parameter im postoperativen Verlauf nach bariatrischem Eingriff gezeigt werden. Die vorliegende Arbeit weist diesen Zusammenhang erstmalig nach.

In einer experimentellen Studie von Loebig et al. wurde in 15 normalgewichtigen und 15 übergewichtigen männlichen Individuen eine positive Korrelation zwischen dem BMI und der Plasma-VEGF-Konzentration nachgewiesen (Loebig et al., 2010). Eine andere Studie zeigte bei ähnlichem Design keinen Zusammenhang zwischen dem BMI und VEGF, dafür jedoch eine positive Korrelation mit dem ebenfalls endothelial wirksamen Wachstumsfaktor HGF (Rehman et al., 2003). In Patienten mit bekanntem Kolonkarzinom korreliert die Gewichtsreduktion im Rahmen der tumorassoziierten Kachexie positiv mit der Baseline-Konzentration des VEGF (Kemik et al., 2010). Mehrere Arbeitsgruppen fanden keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der VEGF-Konzentration und dem BMI nach bariatrischer Operation (Bodi et al.; Cottam et al., 2010; Garcia de la Torre et al., 2008). Im Fall von Garcia de la Torre et al. könnte eine Ursache sein, dass neben LGB-Patienten auch Patienten mit Magenband-OP und biliopankreatischer Diversion eingeschlossen wurden. Insbesondere das Magenband ist im

Vergleich zu anderen bariatrischen Verfahren bei der postoperativen Gewichtsabnahme weniger effektiv und könnte daher den Abnehmerfolg und damit auch die Korrelation negativ beeinflusst haben (Sjostrom et al., 2004). Außerdem könnte der untersuchte postoperative Zeitraum von nur maximal 12 Monaten Grund für die abweichenden Ergebnisse sein (Cottam et al., 2010; Garcia de la Torre et al., 2008). In der vorliegenden Arbeit ist der stärkste Zusammenhang erst nach 24 Monaten nachweisbar, während nach 6 Monaten kein signifikanter Zusammenhang besteht. Letzterer könnte mit der vergleichsweise hohen Streuung der VEGF-A-Werte in den ersten 6 Monaten zusammenhängen. Diese kann wie oben beschrieben durch das variable Ausmaß des Operationstraumas, der metabolischen Veränderungen im Rahmen bestehender Komorbiditäten oder einen verzögerten Abnehmerfolg in diesem Zeitraum erklärt werden. (Belizon et al., 2006; Gozal, Lipton, & Jones, 2002; Jehan et al., 2018) Es lässt sich ableiten, dass der langfristig förderliche Effekt der Risikoreduktion für Tumorerkrankungen und der mit Adipositas assoziierten Komorbiditäten vor allem nach dem ersten postoperativen Jahr greift.

5.2.3 Einfluss von Komorbiditäten, Geschlecht und Operationsart auf die VEGF-A-Konzentration.

Im Vergleich der Patienten mit und ohne Vorliegen einer arteriellen Hypertension fällt sowohl statistisch, als auch grafisch kein signifikanter Unterschied der VEGF-Konzentrationen auf. Hypertonie-Patienten zeigen zwar im Gegensatz zu normotonen Patienten einen signifikanten Abfall der VEGF-Konzentration zu allen postoperativen Messzeitpunkten, dieser ist jedoch am ehesten auf die deutlich höhere Patientenzahl in der Hypertoniegruppe zurückzuführen. Diabetiker weisen im Vergleich zu Nicht-Diabetikern niedrigere VEGF-Konzentrationen zum Zeitpunkt 0 und 6 Monate postoperativ auf. Dabei zeigen Nicht-Diabetiker eine kontinuierlichere Abnahme des VEGF, während die Konzentration bei Diabetikern nach 6 Monaten weitgehend stagniert. Es liegen bis dato in der Literatur keine Referenzwerte zur Serum-VEGF-A-Konzentration bei Diabetikern vor. Erwartungsgemäß sind die Werte jedoch präoperativ gegenüber gesunden Patienten in beiden Gruppen erhöht (Q. X. Zhang et al., 1997). Darüber hinaus zeigt das VEGF in beiden Gruppen einen dem BMI ähnlichen Verlauf, was den in der Regressionsanalyse dieser Arbeit nachgewiesenen Zusammenhang beider Parameter bestätigt (Kemik et al., 2010; Loebig et al., 2010; Rehman et al., 2003). Bei Betrachtung der Patienten mit Schlafapnoe zeigt sich eine zur Vergleichsgruppe konstante Abnahme der VEGF-Konzentration, während bei Patienten ohne Schlafapnoe die Serumkonzentration eher stagniert. Die Schlafapnoe wird mit erhöhtem Serum-VEGF assoziiert (Gozal et al., 2002). Zwar weisen beide Gruppen zum Zeitpunkt 0 weitgehend ähnliche Werte auf, der deutlichere Abfall in der Schlafapnoe-Gruppe könnte jedoch ein Hinweis sein, dass bei diesen Patienten mutmaßlich Schlafapnoe-bedingte proangiogene und inflammatorische Prozesse, insbesondere durch den Gewichtsverlust vermindert werden (Parish, 2012). Beim Vergleich der VEGF-Konzentration zwischen den Geschlechtern fällt auf, dass diese bei Männern gegenüber Frauen zu allen Messzeitpunkten erhöht ist. In der Literatur ist nicht eindeutig beschrieben, ob Männer höhere Serum-VEGF-Spiegel aufweisen als Frauen (Kimura et al., 2007; Sandhofer et al., 2009). Jedoch ist bekannt, dass Männer durchschnittlich mehr viszerales Fett akkumulieren als Frauen (Lemieux et al., 1994). Die Produktion von VEGF ist assoziiert mit der viszeralen Fettakkumulation (Miyazawa-Hoshimoto, Takahashi, Bujo, Hashimoto, & Saito, 2003). Eine mögliche Erklärung für die bei den adipösen Männern erhöhten Serum-VEGF-Werte, könnte daher das geschlechtsspezifische Fettverteilungsmuster sein. Zudem ist eine Assoziation mit dem BMI anzunehmen, welcher einen ähnlichen Verlauf nimmt. Den Ergebnissen zufolge scheinen Frauen gegenüber Männern bezüglich der Reduktion des VEGF-A mehr von der OP zu profitieren. Der stärkere VEGF-Abfall in der LSG-Gruppe gegenüber LGB-Patienten könnte ebenfalls mit dem initial höheren BMI der LSG-Patienten und des im späteren Verlauf wieder zunehmenden BMI in der LGB-Gruppe zusammenhängen. Auffällig ist hierbei, dass VEGF trotz signifikanter BMI-Senkung nach LGB keine signifikante Änderung aufweist, während dies bei LSG zu allen

Zeitpunkten der Fall ist. Anhand der vorliegenden Daten scheint LSG bezüglich der Reduktion der VEGF-Expression und der damit assoziierten Komorbiditäten günstigere Ergebnisse zu produzieren als der LGB. In der Literatur findet sich ein solches Ergebnis jedoch bislang nicht wieder. In Bezug auf die Remission der Komorbiditäten sind sich LSG und LGB in der bisherigen Literatur weitgehend ebenbürtig (Farey et al., 2017; Garcia de la Torre et al., 2008; N. Zhang et al., 2013). Die Unterschiede sind am ehesten auf die in der vorliegenden Studie kleineren Stichproben zurückzuführen.

5.3 Apelin-12-Serumkonzentration nach bariatrischer Operation

5.3.1 Nach bariatrischer Operation steigt die Apelin-12-Konzentration.

Apelin hat sich als ein Regulator der kardiovaskulären Hämostase, des Flüssigkeitshaushalts, der Nahrungsaufnahme, Zellproliferation und Angiogenese herausgestellt. Der entdeckte Zusammenhang des Apelin mit verschiedenen metabolischen Störungen wie Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 bietet Anlass dazu, die Beziehung zwischen Apelin und dem BMI von bariatrisch operierten Patienten genauer zu beleuchten (Castan-Laurell et al., 2011).

Um festzustellen, ob die Gewichtsabnahme nach bariatrischer Operation einen Einfluss auf die Konzentration von Apelin-12 im Serum der Patienten hat, wurde diese mithilfe eines ELISAs präoperativ, sowie 6, 12 und 24 Monate nach OP ermittelt. Die Konzentration des Apelin-12 im Serum der Patienten steigt postoperativ signifikant an. Insgesamt nimmt der Wert um das 5-fache nach 24 Monaten im Vergleich zum postoperativen Ausgangswert zu. Es wurde jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen Apelin-12 und dem Patienten-BMI festgestellt.

Die Konzentration von Apelin in Serum und Plasma wird mit verschiedenen metabolischen Vorgängen assoziiert. Die genaue Funktionsweise des Peptids und seiner Subtypen, zu denen auch das Apelin-12 gehört, bleiben bisher allerdings unklar (Szokodi et al., 2002). Es ist bekannt, dass Apelin und APJ mRNA ubiquitär in peripheren Geweben und verschiedenen Regionen des zentralen Nervensystems sowie vom Fettgewebe als Adipokin exprimiert werden (Castan-Laurell et al., 2011; Hosoya et al., 2000; Kawamata et al., 2001; D. K. Lee et al., 2000; O'Carroll et al., 2000). Mehrere Studien stellen fest, dass Apelin im Plasma und Serum von Adipositaspatienten, Patienten mit Hyperinsulinämie und morbid adipösen Patienten gegenüber gesunden Kontrollen erhöht ist (Ba et al., 2014; Boucher et al., 2005; Heinonen et al., 2005). Dies konnte ebenfalls für Patienten mit gestörter Glukosetoleranz und solchen mit Diabetes mellitus Typ 2 nachgewiesen werden (L. Li et al., 2006). Allerdings wurden in Adipositaspatienten mit unbehandeltem Diabetes mellitus Typ 2 im Vergleich zu solchen ohne Diabetes reduzierte Apelin-Werte beschrieben (Erdem, Dogru, Tasci, Sonmez, & Tapan, 2008; R. Zhang et al., 2009). Vergleicht man in verschiedenen Studien an morbid adipösen Patienten die gemessenen Apelin-Konzentrationen im Blut mit denen der vorliegenden Arbeit, fällt auf, dass diese sich mitunter deutlich unterscheiden (Castan-Laurell et al., 2011).

Der postoperative Anstieg des Apelin-12 könnte mit einem Absinken der Insulinresistenz infolge der durch die bariatrische OP ausgelösten metabolischen Veränderungen zu begründen sein. In einer Population von 100 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, welche über 14 Wochen mit jeweils einem Antidiabetikum, Rosiglitazone oder Metformin, behandelt wurden, ist ein Anstieg der Apelin-12-Konzentration im Plasma sowie eine signifikant inverse Korrelation zwischen

Insulinresistenz und Apelin sowie BMI und Apelin beschrieben worden (Kadoglou et al., 2010). Rosiglitazone und Metformin sind Medikamente, welche der Insulin-Resistenz bei Diabetes mellitus Typ 2 durch Kontrolle des Blutzuckerspiegels entgegenwirken (Cusi & DeFronzo, 1998; Kalaitzidis, Sarafidis, & Bakris, 2009). Sie wirken zudem auf Fettgewebe, indem sie dysregulierte Adipokin-Profile bei Patienten mit Insulin-Resistenz verbessern (Jakubowska et al., 2008; Pflutzner et al., 2008). Neben der herkömmlichen Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 wie z.B. mit oben genannten Medikamenten wird die bariatrische Chirurgie schon länger als potentiell effektivere Therapie dieser Form des Diabetes diskutiert. Ein systematisches Review kam bei einer untersuchten Patientenpopulation von 19543 Patienten über einen Follow-Up-Zeitraum von 57,8 Monaten zu dem Ergebnis einer Remission des Diabetes mellitus Typ 2 bei 73% der bariatrisch operierten Patienten (Vest, Heneghan, Agarwal, Schauer, & Young, 2012). In einer noch umfangreicheren Meta-Analyse mit 135246 Patienten kam es zu einer kompletten Resolution des Typ 2 Diabetes bei 78%, bei 87% der Population kam es zur Verbesserung oder Resolution (Henry Buchwald et al., 2009).

Die Ergebnisse der Forschung bezüglich der Frage, inwieweit das Apelin-12 mit dem Grad der Insulinresistenz korreliert, sind bisher teils widersprüchlich. Bei einer Kohorte von 33 Patienten mit Hyper-LDL-Cholesterinämie wurde mittels ELISA und RIA (Radio Immune Assay) eine positive Korrelation zwischen Plasma-Apelin-12 und dem Grad der Insulinresistenz ermittelt (Tasci et al., 2007). Eine ähnliche Studie mit 41 unter metabolischem Syndrom leidenden Patienten ergab ebenfalls eine positive Korrelation von Serum-Apelin-12 und der Insulinresistenz (Karbek et al., 2014). Im Gegensatz dazu konnte an 40 Patienten mit neu diagnostiziertem aber noch unbehandeltem Diabetes mellitus Typ 2 eine negative Korrelation zwischen Apelin-12 und Nüchtern-Blutglukose sowie der Insulinresistenz ermittelt werden (Erdem et al., 2008). Eine experimentelle Arbeit von Higuchi et al. wies in Mäusen, denen Apelin-13 intraperitoneal injiziert wurde, nach der Behandlung einen signifikanten Rückgang des Fettgewebes und Serum-Insulins nach (Higuchi et al., 2007). Bei einer Gruppe von 39 adipösen Kindern konnte nach einjähriger Lifestyle-Intervention mit signifikanter Gewichtsabnahme keine Assoziation des Serum-Apelin mit der signifikant zurückgegangenen Insulinresistenz gezeigt werden (Reinehr, Woelfle, & Roth, 2011). Es ist zu erwähnen, dass in vielen Studien zwar die Messung von Apelin mittels ELISA angegeben wird, nicht jedoch der Apelin-Subtyp bzw. ob Plasma oder Serum zur Messung verwendet wurde (Dimitriadis et al., 2007; L. Li et al., 2006). In vielen Studien weist das ELISA laut Hersteller Kreuzreaktivität mit mehreren Subtypen wie Apelin-36 und Apelin-13 auf (Caron-Cantin et al., 2013; Cavallo et al., 2012; Krist et al., 2013; Reinehr et al., 2011). Im Gegensatz dazu wurde in der hier vorliegenden Arbeit ein ELISA-Kit ohne signifikante Kreuzreaktivität mit Analogenen des Apelin genutzt.

In vitro und in vivo besteht zwischen Apelin und Insulin eine enge Beziehung (Boucher et al., 2005). Es kann also vermutet werden, dass der signifikante Anstieg der Apelin-Konzentration im Serum der bariatrisch operierten Patienten in der vorliegenden Studie mit der Verbesserung der diabetischen Stoffwechsellage, also sinkender Insulinresistenz, in Verbindung steht. Ein erhöhter Serumspiegel des Apelin-12 wäre folglich mit einer verbesserten Glukosestoffwechsellage assoziiert, was ähnlich bereits in Medikamentenstudien gezeigt worden ist (Kadoglou et al., 2010). Dies würde tendenziell für einen Einsatz der bariatrischen Chirurgie als Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 sprechen. Es ist bei 15 der 30 einbezogenen Patienten präoperativ ein Diabetes Typ 2 festgestellt worden. Leider liegen keine patientenspezifischen Daten über eine Remission oder das Weiterbestehen der Erkrankung im Verlauf vor.

Im Rahmen der Regressionsanalyse zur Untersuchung des Zusammenhangs der postoperativen Änderung des BMI und der Apelin-12-Konzentration wurde keine signifikante Beziehung zwischen diesen Variablen festgestellt. Die Daten reihen sich damit weitgehend in die Ergebnisse anderer Studien ein, in denen für Apelin eine positive oder gar keine Korrelation mit dem BMI bzw. ein Absinken der Apelin-Serumkonzentrationen nach bariatrischer Operation oder anderer Gewichtsreduktion beobachtet wurde (Arica et al., 2018; Ba et al., 2014; Krist et al., 2013). Grundsätzlich ist der Einfluss von Gewichtsverlust auf die Apelin-12-Konzentration in der Literatur nicht klar beschrieben. Studien berichten ein Absinken oder Stagnieren des Serum-Apelin nach Gewichtsabnahme bzw. bariatrischer Operation (Caron-Cantin et al., 2013; Castan-Laurell et al., 2008; Khajeh et al., 2017; Krist et al., 2013; Soriguer et al., 2009). Krist et al. zeigt, dass nach LGS bzw. LGB das Apelin-12 in Adipositaspatienten nach 12 Monaten signifikant sinkt und dass eine positive Korrelation zwischen Apelin-12 und BMI in Individuen mit Diabetes Type-2 besteht. Zwei weitere Studien zeigten keinen Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf Apelin nach 6 Monaten bzw. einem Jahr (Caron-Cantin et al., 2013; Cavallo et al., 2012). Die Frage, wie Gewichtsverlust durch bariatrische Operationen die Konzentration des Apelin beeinflusst, bleibt weiterhin kontrovers. Zudem zeigen die meisten Studien eine positive oder keine signifikante Korrelation zwischen Apelin-12 und dem BMI (Cavallo et al., 2012; Krist et al., 2013; Soriguer et al., 2009). Bezogen auf die Isoform Apelin-12 jedoch wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals ein signifikanter Anstieg bis 24 Monate nach bariatrischer Operation festgestellt (Weidlich et al., 2017).

Klinische Studien beschreiben ein weites Spektrum an Apelin-Konzentrationen im Blut von Patienten mit verschiedenen Pathologien und in gesunden Kontrollen (Castan-Laurell et al., 2011). In Plasma-Proben gesunder Individuen, die auf fünf Isoformen des Apelin mittels Standard-Immunoassay positiv getestet wurden, konnte in Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung keine der Isoformen nachgewiesen werden (Mesmin, Dubois,

Becher, Fenaille, & Ezan, 2010). Dies stellt die Konzentration und allgemeine Natur des Apelin aber auch die Spezifität der bisher für den klinischen Einsatz verfügbaren Immunoassays in Frage (Mesmin et al., 2010).

Auch wenn klinische Studien am Patienten teils abweichende Ergebnisse zeigen, können in-vitro-Experimente wie die von Than et al. die hier gesammelten Beobachtungen auf zellulärer Ebene untermauern. Die Gruppe zeigt am in-vitro Modell, dass Apelin einen inhibitorischen Effekt auf die Adipogenese besitzt (Than et al., 2012). Dies ist eine mögliche Erklärung für die Fähigkeit des Apelins, die Masse des weißen Fettgewebes in Mäusen zu reduzieren (Higuchi et al., 2007). Es scheint wahrscheinlich, dass Apelin autokrin über ein negatives Feedback die Adipogenese einschränkt, da der Progress der Adipogenese bzw. die Zunahme des Fettgewebes zu einer erhöhten Apelin-Sekretion führt (Than et al., 2012). Es wäre denkbar, dass Adipositas aufgrund einer Unterbrechung der inhibitorischen Regulation der Adipogenese durch Apelin befördert wird (Than et al., 2012). Diese Vermutung geht mit der Beobachtung konform, dass die Körperfettmasse in Apelin-Knock-Out-Mäusen bedeutend erhöht ist (Yue et al., 2011). Apelin-Knock-Out-Mäuse unter einer High-Fat-Diät zeigen einen adipösen Phänotyp sowie abnormal wachsende Lymph- und Blutgefäße. Während die Fettsäuren der High-Fat-Diet eine Hyperpermeabilität der Endothelzellen induzieren und die Adipozytendifferenzierung fördern, bewirkt Apelin eine vaskuläre Stabilisierung und damit der Adipogenese entgegen (Sawane et al., 2013).

Zwischen in-vitro, in-vivo und klinischen Studien scheinen Störfaktoren zu liegen, welche die unterschiedliche Einschätzung der Funktion des Apelin im jeweiligen Setting bedingen. Es sollte künftig im klinischen Rahmen besonders darauf geachtet werden, Patienten nach Komorbiditäten, Medikationen und Parametern der Körperzusammensetzung zu gruppieren, um diese Störfaktoren der klinischen Realität zu reduzieren und die Funktion des Apelin genauer untersuchen zu können.

5.3.2 Einfluss von Komorbiditäten, Geschlecht und Operationstechnik auf die Apelin-12-Konzentration.

Beim Vergleich der Patienten mit normalem Blutdruck und arterieller Hypertonie fällt auf, dass Hypertoniker postoperativ - jedoch nicht zum Zeitpunkt 0 - eine höhere Serum-Konzentration des Apelin-12 aufweisen als Patienten mit normalem Blutdruck. Nach 24 Monaten ist dieser Unterschied signifikant. Auch wenn die aktuelle Studienlage nicht eindeutig ist, weisen mehrere Arbeiten auf eine blutdrucksenkende Wirkung des Apelin-12 hin (Jia et al., 2006; Zhu et al., 2013). Die Apelin-Konzentration bei Hypertonikern ist gegenüber gesunden Individuen vermindert (Papadopoulos et al., 2013). Diese Beobachtungen könnten in der Hypertoniegruppe die zur

Vergleichsgruppe niedrigen Apelin-12-Level zum Zeitpunkt 0 sowie deren Anstieg im postoperativen Verlauf erklären. Denkbar wäre auch, dass die Adipositas endokrin eine Suppression des Apelin-12 bewirkt, welche durch die OP aufgehoben wird. Interessant wäre dabei die Frage, ob die Patienten gegen Ende des Untersuchungszeitraums tatsächlich normale Blutdruckwerte erreichen. Diese Information ist im Rahmen der vorliegenden Arbeit jedoch nicht ermittelt worden und sollte Bestandteil künftiger Studien sein. Bei Betrachtung der Apelin-Level bei Diabetikern und Nicht-Diabetikern zeigen sich nach 6 und 24 Monaten jeweils höhere Konzentrationen in der Gruppe der Nicht-Diabetiker. Ein möglicher Grund könnte die positive Korrelation hoher Apelin-12-Werte mit der Insulinsensitivität sein (Higuchi et al., 2007). Da anzunehmen ist, dass sich der Insulinstoffwechsel nach bariatrischer Operation normalisiert, würde dies erklären, weshalb der Apelin-Anstieg bei Nicht-Diabetikern - mit bereits physiologischerem Insulinstoffwechsel - steiler verläuft und bei Diabetikern eher kontinuierlich (P. R. Schauer et al., 2012). Insgesamt sind die Ergebnisse mit einer Normalisierung des Insulinstoffwechsels vereinbar und suggestiv für eine einflussreiche Rolle des Apelins, die allgemeine Studienlage ist jedoch nicht eindeutig (Krist et al., 2013; Rao, Yanagisawa, & Kini, 2012). Im Vergleich der Patienten mit und ohne Schlafapnoe fällt grafisch kein deutlicher Unterschied zwischen den Gruppen auf, beide zeigen jedoch einen signifikanten Anstieg des Apelin nach 12 und 24 Monaten. Für Schlafapnoe-Patienten ist beschrieben, dass die Plasma-Apelin-Konzentration nach CPAP-Therapie (continuous positive airway pressure) signifikant sinkt (Henley et al., 2009). Möglich ist, dass bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten postoperativ mehrheitlich keine Remission der Schlafapnoe einsetzt. Der Verlauf der Apelin-Konzentration ließe sich in diesem Fall eher durch andere, regulierende Faktoren erklären (Higuchi et al., 2007; Zhu et al., 2013). Apelin-12 steigt in Männern und Frauen diskontinuierlich an. Nach 6 Monaten zeigen sich signifikant höhere und nach 12 Monaten zumindest tendenziell höhere Apelin-12-Konzentrationen bei Frauen gegenüber Männern. Erhöhte Apelin-Werte könnten jeweils in Zusammenhang mit einer Risikoreduktion gegenüber kardiovaskulären Erkrankungen wie Bluthochdruck und Diabetes stehen (Higuchi et al., 2007; Zhu et al., 2013). Dabei hat das Geschlecht bekanntermaßen einen Einfluss auf Art und Ausprägung kardiovaskulärer Erkrankungen (Mendelsohn & Karas, 2005). Es scheinen jedoch weitere Einflussfaktoren zu existieren, welche die Schwankungen der Werte im Verlauf erklären könnten. Der diskontinuierliche Verlauf der Apelin-Konzentration lässt sich in Betracht der derzeitigen Studienlagen jedoch nicht eindeutig wegweisend interpretieren. LSG-Patienten weisen zu allen Zeitpunkten höhere Apelin-Konzentrationen auf, als LGB-Patienten. Dies kann als ein Vorteil der LSG in der Normalisierung der Insulinsensitivität und des Blutdrucks interpretiert werden, die Studienlage deutet diesbezüglich jedoch insgesamt auf einen gleichwertigen Effekt beider Verfahren hin (Higuchi et al., 2007; P. R. Schauer et al., 2012; Zhu et al., 2013).

5.4 Haben VEGF-A und Apelin-12 einen Einfluss auf die in-vitro-Adipogenese von LiSa-2-Zellen?

Wenn Fettgewebe expandiert, wird seine Gefäßversorgung und damit die Oxygenierung des Gewebes zunehmend insuffizient. Hypoxie und oxidativer Stress führen zu einer Überproduktion von Zytokinen (Braun, Bitton-Worms, & LeRoith, 2011). Hypoxie initiiert kompensatorisch eine inflammatorische und angiogene Antwort, die der eines wachsenden Tumors ähnelt (Braun et al., 2011). Der Adipozyt selbst ist dabei zentraler Mediator der Entzündungsantwort, welche von besonderer Relevanz für die Pathogenese von Karzinomen wie z. B. dem kolorektalen Karzinom ist (Fontana, Eagon, Trujillo, Scherer, & Klein, 2007). Das chronisch inflammatorische und pro-angiogene Milieu bei viszeraler Adipositas sorgt somit für vorteilhafte Bedingungen für die Tumorentwicklung (Riondino et al., 2014). Der durch bariatrische Chirurgie angestoßene Verlust von Fettgewebe könnte diesen Prozess inhibieren bzw. umkehren (Farey et al., 2017). Das bisherige Verständnis von der Beziehung zwischen überschüssigem Körperfett und Krebserkrankungen ist, dass metabolisch aktives viszerales Fettgewebe molekulare Pathways hochreguliert, die für Inflammation, Insulinresistenz, Angiogenese und die Expression von Adipokinen und Wachstumsfaktoren verantwortlich sind (Farey et al., 2017; Khandekar, Cohen, & Spiegelman, 2011; Park, Morley, Kim, Clegg, & Scherer, 2014). Da viele der Endprodukte dieser Pathways für das prokanzerogene Milieu im Gewebe verantwortlich gemacht werden, bietet die bariatrische Chirurgie Einblick in die mögliche Reversibilität dieser Prozesse (Farey et al., 2017). Es sollte Ziel sein, die durch bariatrische Eingriffe erreichte Reduktion des Krebsrisikos und der Mortalität im Rahmen der mit Adipositas assoziierten Komorbiditäten molekularbiologisch zu erklären (Adams et al., 2007; Christou et al., 2008; Farey et al., 2017; Sjostrom et al., 2009).

5.4.1 VEGF-A-Inhibitor

Im Rahmen eines Zellkulturexperiments sollte ergründet werden, welchen Einfluss in-vitro appliziertes VEGF-A, ein VEGF-A-Inhibitor und Apelin-12 auf die Adipogenese haben. Hierzu wurde die humane Liposarkom-Zelllinie LiSa-2 als Modell für die Adipozytendifferenzierung genutzt (Wabitsch et al., 2000). Meine vorläufigen Beobachtungen lassen die Vermutung zu, dass der VEGF-Inhibitor einen hemmenden Einfluss auf die Adipogenese hat, welcher sich durch verringerte Lipid-Akkumulation in der Färbung mit Oil Red O zeigt. Im Western Blot wird sichtbar, dass die Expression von PPAR γ , CSN5, CSN7B und CSN8 bei einer Konzentration von 10 und 100 ng/ml nach 15 Tagen leicht vermindert ist. PPAR γ ist ein nukleärer Hormonrezeptor, der essentiell für die Adipogenese ist (X. Huang et al., 2012; Koppen & Kalkhoven, 2010; White & Stephens, 2010). Das CSN ist maßgeblich in die Adipogenese involviert (Rogalla et al., 2010). Permanente Herunterregulierung des CSN verzögert die Adipogenese und Inhibitoren des CSN

blockieren die VEGF-Produktion in Adipozyten sowie auch in Tumorzellen (Braumann, Tangermann, Jacobi, Muller, & Dubiel, 2008; Pollmann et al., 2001; Rogalla et al., 2010).

Während der Adipogenese werden viele Signalwege und Transkriptionsfaktoren durch PPAR γ kontrolliert, darunter die Expression des kompletten adipogenen Programms mit der Produktion der Adipokine (Farmer, 2005). Am Mausmodell konnte mittels intravitaler Mikroskopie nachgewiesen werden, dass bei Inhibition der Adipozytendifferenzierung durch mit dominant-negativem PPAR γ -DNA-Konstrukt transfizierten Präadipozyten nicht nur die Bildung von Fettgewebe aufgehoben, sondern auch die Angiogenese reduziert wird (Fukumura et al., 2003). Wird die Angiogenese in murinen Präadipozyten durch einen VEGF-Rezeptor-Antikörper inhibiert, reduziert dies sowohl die Angiogenese als auch die Präadipozytendifferenzierung insgesamt (Fukumura et al., 2003). Die Inkubation mit dem VEGF-A-Inhibitor in der vorliegenden Arbeit führt zu einer relativ verminderten Konzentration von PPAR γ und mehrerer CSN-Untereinheiten im Western Blot der lysierten Zell-Kulturen. Da eine Inhibition von PPAR γ sowohl Adipo- als auch Angiogenese behindert und PPAR γ -Liganden die VEGF-A-Expression in Präadipozyten fördern, kann vermutet werden, dass die Signalwege von PPAR γ und VEGF-A miteinander verknüpft sind (Asano, Irie, & Saito, 2001; Emoto et al., 2001) und dass die Blockade des VEGF-Rezeptors ebenfalls zu einer Herunterregulation des CSN und von PPAR γ führt. Die vorläufigen Ergebnisse müssen in zukünftigen Experimenten bestätigt werden.

5.4.2 Full-length-VEGF-A

Nach der Inkubation der LiSa-2-Zellen mit full-length-VEGF-A zeigen sich in der Adipozytenfärbung mit Oil Red O zahlreiche, stark rot gefärbte Adipozyten. Die Kontrollen, welche ohne VEGF gewachsen sind, zeigen weniger zahlreiche und geringer gefärbte Adipozyten. Diese vorläufigen Ergebnisse lassen eine Steigerung der Adipogenese durch das extern applizierte VEGF-A vermuten. Der Einfluss des VEGF-A auf die Adipogenese wurde bereits anhand des Adipozytenmodells 3T3-F442A-Zellen in-vitro mit einer Konzentration von 50 ng/ml untersucht (Fukumura et al., 2003). Allerdings wurde kein sichtbarer Effekt auf die Adipogenese nach Oil Red O Färbung festgestellt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen in-vitro auf einen tendenziell förderlichen Effekt des VEGF-A auf die Adipogenese hin, müssen jedoch in der Zukunft bestätigt werden.

Im Western Blot zeigt sich nach 15 Tagen eine zur Negativ-Kontrolle diskret verstärkte Proteinkonzentration des PPAR γ sowie der CSN-Untereinheiten CSN3 und CSN8. Während der Adipozytendifferenzierung dient PPAR γ als Wegbereiter verschiedener Signalwege, welche z. B. die Sekretion der Adipokine ermöglichen (Farmer, 2005). Da in-vivo applizierte VEGF-Rezeptorantikörper in Mäusen nicht nur die Adipozytendifferenzierung sondern auch die Angiogenese behindern, scheint VEGF eine wichtige Rolle bei der Adipogenese zu spielen (Fukumura et al., 2003). Eine mögliche Erklärung der vorliegenden Ergebnisse ist eine Induktion der PPAR γ - und CSN-Expression durch das VEGF. Zur genauen Klärung sind weiterführende Experimente erforderlich.

PPAR γ und VEGF rücken somit als mögliches Ziel anti-angiogener bzw. anti-adipogener Therapie in den Fokus (Cao, 2010). So ist bspw. das Antidiabetikum Rosiglitazone als PPAR-Aktivator beschrieben, welcher durch erhöhte Expression von VEGF-A die Angiogenese im Fettgewebe stimuliert (Gealekman et al., 2008). PPAR-Inhibitoren könnten diesen Effekt möglicherweise umkehren. Mäuse mit diätinduzierter Adipositas, welche mit einem VEGF-Rezeptor-2-Antikörper behandelt werden, zeigen nach fünf bis sechs Wochen eine verringerte Gewichtszunahme im Vergleich zu ebenfalls induziert fettleibigen Kontrollen ohne Antikörper-Therapie (Tam et al., 2009). Die beschriebenen Prozesse sind assoziiert mit einer Reduktion der Gefäßdichte und Apoptose der Endothelzellen im Fettgewebe (Brakenhielm et al., 2004; Rupnick et al., 2002; Tam et al., 2009).

5.4.3 Apelin-12

Nach Inkubation der LiSa-2-Zellen mit Apelin-12 zeigte sich in der Adipozytenfärbung nach 15 Tagen im Vergleich zur Kontrolle eine leicht verminderte Zahl angefärbter Lipidtröpfchen. Der Durchmesser der angefärbten Lipidtröpfchen scheint bei den mit Apelin behandelten Zellen jedoch im Vergleich zur Kontrolle vergrößert. PPAR γ , CHOP sowie Cul1 und Cul3 waren nach diesem Inkubationszeitraum im Vergleich zur Kontrolle erhöht. CSN7B war im Vergleich zur Kontrolle vermindert. Diese vorläufigen Ergebnisse müssen in zukünftigen Experimenten bestätigt werden.

Zum jetzigen Zeitpunkt ist nur wenig über die Wirkung von Apelin und seine Funktion während der Adipogenese bekannt. 3T3-L1-Präadipozyten, die mit Pyr-Apelin13 inkubiert werden, zeigen im Verlauf der Differenzierung verminderte Expressionslevel des für die Adipogenese bedeutenden Transkriptionsfaktors PPAR γ (Rosen et al., 2002; Than et al., 2012). In diesem Kontext wird eine inhibitorische Regulation der Adipogenese durch Apelin vermutet (Than et al., 2012). Auch in der Färbung mit Oil Red O zeigen diese 3T3-L1-Zellen auf Inkubation mit Pyr-Apelin13 hin eine dosisabhängig verminderte Bildung von Lipidtröpfchen (Than et al., 2012). Es wird eine autokrine Regulation des Apelin über einen negativen Feedback-Mechanismus vermutet (Than et al., 2012). Obwohl exogen appliziertes Apelin die Zahl differenzierter Adipozyten vermindert, scheint die Größe der Lipidtröpfchen innerhalb differenzierter Adipozyten erhöht (Than et al., 2012). Letzteres konnte ebenfalls im hier durchgeführten Experiment beobachtet werden. Dies könnte auf eine durch Apelin herbeigeführte Inhibition der basalen Lipolyse zurückzuführen sein und steht im Einklang mit der Beobachtung, dass eine Apelin-Dauerinfusion in Apelin-Null-Mäusen die Serumkonzentration freier Fettsäuren und Glycerol reduziert (Than et al., 2012; Yue et al., 2011).

In braunem Fettgewebe wirkt Apelin allerdings stimulierend auf die Differenzierung und basale Aktivität der Adipozyten, wobei die Expression von PPAR γ unter Apelin-Behandlung im Vergleich zu Kontrollen erhöht ist (Than et al., 2015). In vitro und in vivo ist Apelin dazu in der Lage, weißes Fettgewebe dazu anzuregen, vermehrt Eigenschaften des braunen Fettgewebes anzunehmen (Than et al., 2015). Diese Zellen werden dann Beige-Zellen genannt und zeichnen sich durch multilokuläre Lipidtröpfchen, dunkelbraune Farbe und Expression thermogener und anderer spezifischer Gene aus (Harms & Seale, 2013). Makroskopisch fallen mit Apelin behandelte Mäuse durch ein reduziertes Gewicht des viszeralen Fettgewebes auf (Than et al., 2015). Hoch dosierte PPAR γ -Agonisten fördern in braunem Fettgewebe die Annahme von Eigenschaften des weißen Fettgewebes, gekennzeichnet durch verstärkte Lipogenese sowie helle, vergrößerte Adipozyten mit hohem Lipidgehalt und großen Lipidtröpfchen (Festuccia et al., 2009; Than et al.,

2015). Auch im vorliegenden Adipozytenmodell LiSa-2-Zellen könnte die im Vergleich zur Negativ-Kontrolle verminderte PPAR γ -Konzentration nach 15 Tagen ein Hinweis auf die Umprogrammierung der Zelle auf braune Eigenschaften durch Apelin-12 sein. Im Organismus könnte dies ein Schutzmechanismus vor Hyperplasie des Fettgewebes und den daraus resultierenden metabolischen Risiken sein (Bartelt & Heeren, 2014; Harms & Seale, 2013). Dieser Prozess wäre über den erhöhten Energieverbrauch des Organismus durch stimulierte metabolische Aktivität der Adipozyten zu erklären, was die Masse des weißen Fettgewebes reduzieren würde (Higuchi et al., 2007; Than et al., 2015).

Ein Grund für die abweichenden Ergebnisse bezüglich der PPAR γ -Konzentration nach 15 Tagen im Vergleich zu ähnlichen Experimenten mit 3T3-L1-Zellen könnte die genetische Ausstattung des Adipozytenmodells LiSa-2-Zellen sein. Von 30 untersuchten Genen haben neun mindestens 50% geringere Expression in LiSa-2-Zellen im Vergleich zu isolierten Adipozyten (van Beek et al., 2008). Dabei sind die meisten der genannten Gene für den Lipidmetabolismus verantwortlich, was besondere Vorsicht bei der Übertragung von Ergebnissen aus LiSa-2-Zellen auf isolierte Adipozyten erfordert (van Beek et al., 2008). Abweichungen im Zellwachstum bei in-vitro im Vergleich zu in-vivo-Experimenten könnten durch die mangelnde Eigenschaft der Adipozyten begründet sein, sich in-vitro vollständig zu unilokulären Adipozyten mit einem einzelnen großen Lipidtröpfchen zu entwickeln (van Beek et al., 2008). Stattdessen zeigen differenzierte LiSa-2-Zellen multiple kleine Lipidtröpfchen (van Beek et al., 2008). Zusätzlich muss bei Betrachtung von LiSa-2-Zellen ihre Immortalität beachtet werden, welche in-vivo-Adipozyten physiologisch nicht aufweisen (van Beek et al., 2008). Unterschiede in der Expression Lipidmetabolismus-relevanter Gene zwischen Zelllinien wie LiSa-2 und isolierten Adipozyten könnten darin begründet liegen, dass ein in-vitro Kulturmedium zu wenig essentielle Nährstoffe, Signalmoleküle oder andere Faktoren aufweist, die in-vivo jedoch vorhanden sind (van Beek et al., 2008). Genaue Aussagen können aber erst gemacht werden, wenn die vorliegenden Ergebnisse statistisch abgesichert worden sind.

Die Expression des C/EBP homologous protein (CHOP) ist in den Apelin-behandelten Zellen erhöht. Wird CHOP durch Piceatannol oder permanente Überexpression in LiSa-2-Zellen induziert, blockiert es die Adipozytendifferenzierung in Form von gehemmter Lipidtröpfchenbildung und verringerter Produktion von VEGF (X. Huang et al., 2012). CHOP inhibiert den Differenzierungsprozess und wird bei metabolischem Stress vermehrt exprimiert (Batchvarova et al., 1995). Die tendenziell erhöhte CHOP-Konzentration könnte ein Hinweis auf die inhibitorische Wirkung des Apelin-12 auf die Adipogenese sein.

CSN5 ist nach 15 Tagen in den behandelten Zellen vermehrt exprimiert, für CSN8 lässt sich jedoch kein Unterschied in der Expression feststellen. Außerdem zeigt sich für beide Untereinheiten innerhalb des untersuchten Zeitraums kein sichtbarer Anstieg, so wie es für CSN5 und CSN8 beschrieben ist (Dubiel et al., 2015). An dieser Stelle scheint ein inhibitorischer Effekt des Apelin möglich.

CSN7B, eine Isoform der CSN7-Untereinheit, steigt während der Adipogenese an und bewirkt bei Überexpression eine Stimulierung der Adipogenese (X. H. Huang, J. Ordemann, J. Pratschke, & W. Dubiel, 2016). Im vorliegenden Experiment wurde eine eher gleichbleibende Expression von CSN7B über 15 Tage beobachtet. An Tag 15 ist in den Lysaten der mit Apelin-12 inkubierten Zellen im Vergleich zur Kontrolle eine verminderte Konzentration der CSN-Untereinheit 7B zu erkennen. Es kann vermutet werden, dass Apelin-12 eine spezifische Herunterregulierung des CSN7B bewirkt und somit die Adipogenese auf molekularer Ebene hemmt. Dafür spricht auch das zum gleichen Messzeitpunkt im Vergleich zur Kontrolle vermindert exprimierte PPAR γ (Farmer, 2005).

Eine Herunterregulierung von Cul3 blockiert die Bildung von Lipidtröpfchen, Markern der Adipogenese und Organellen der Lipidspeicherung (Dubiel, Bintig, Kahne, Dubiel, & Naumann, 2017). An Tag 15 ist Cul3 im Vergleich zur Kontrolle stärker exprimiert, was eher gegen die These sprechen würde, dass Apelin-12 einen hemmenden Einfluss auf die Adipogenese ausübt. Generell ist die fortschreitende Adipogenese in LiSa-2-Zellen mit einem Anstieg von Cullin 3 und dem COP9 Signalosom assoziiert, wobei Cul1 eher gleichbleibend exprimiert wird (Dubiel et al., 2015). Cul1 ist an Tag 15 ebenfalls stärker exprimiert als in der Kontrolle ohne Apelin-12. Dies könnte im Zusammenhang mit der verminderten Expression von CSN7B in den mit Apelin-12 behandelten Zellen stehen (X. Huang et al., 2016). Für eine definitive Aussage, ist jedoch die Bestätigung der vorliegenden Ergebnisse in zukünftigen Experimenten erforderlich.

5.5 Ist die VEGF-A-Konzentration im Patienten-Serum ein geeigneter Parameter für die Evaluierung des Erfolgs der bariatrischen Chirurgie?

VEGF-A ist sowohl für physiologische, als auch pathologische Angiogenese bedeutsam und damit unter anderem für die Versorgung von Fettgewebe im Rahmen der Adipogenese (Ferrara & Bunting, 1996). Um VEGF-A als Marker für den Erfolg der bariatrischen Chirurgie nutzen und interpretieren zu können, müssen physiologische und pathologische Einflüsse auf den VEGF-A-Spiegel in die Betrachtung einbezogen werden. So können bspw. das Wachstum eines Tumors im Organismus, welcher durch Angiogenese seine Gefäßversorgung sichert, die mit der Adipositas assoziierten Komorbiditäten oder Gewebeschäden wie OP-Traumata für erhöhte Werte sorgen, während eine Antikörpertherapie wie z. B. mit Bevacizumab die Werte senkt (Belizon et al., 2006; Del Vecchio et al., 2010; Hayashi et al., 2014; Karayiannakis et al., 2002; Loupakis et al., 2011). Klar ist jedoch, dass VEGF-A bei Adipositaspatienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöht ist, positiv mit der Expansion des Fettgewebes korreliert und nach bariatrischer OP signifikant sinkt (Farey et al., 2017; Garcia de la Torre et al., 2008; Weidlich et al., 2017; Q. X. Zhang et al., 1997). Da sich die Absolutwerte des VEGF-A im Serum zwischen Patienten und verschiedenen Studien stark unterscheiden und keine offiziellen Referenzwerte für Serum-VEGF-A existieren, sollte zur Beurteilung einer erfolgreichen Senkung der VEGF-A-Konzentration nach bariatrischer OP für jeden Patienten ein relativer Vergleich der Werte vor und nach OP angestrebt werden (Farey et al., 2017; Garcia de la Torre et al., 2008). Auf lange Sicht wäre es sinnvoll, mittels großer randomisierter Studien Normalwerte für das VEGF-A in objektiv gesunden Patienten zu ermitteln, um diese mit Messwerten aus Patienten mit verschiedenen Pathologien vergleichen zu können. Um feststellen zu können, ob und wie stark sich die VEGF-A-Konzentration im Serum nach bariatrischer OP verändert, sollten mindestens Wochen bis Monate zwischen der ersten präoperativen Blutentnahme und den späteren Untersuchungszeitpunkten vergehen, da intraoperativ gesetztes Trauma über mehrere Tage die Angiogenese und damit die Konzentration von VEGF-A im Serum verstärken kann (Belizon et al., 2006). In verschiedenen Tumorerkrankungen ist ein erhöhtes Serum-VEGF-A mit vermindertem Gesamtüberleben assoziiert und gilt als unabhängiger Risikofaktor (Broll et al., 2001; Hefler et al., 2006). Zudem scheint es wahrscheinlich, dass Mediatoren des durch Adipositas aufrecht erhaltenen pro-inflammatorischen Milieus, wie z. B. VEGF-A, das Risiko für Tumorerkrankungen erhöhen (Riondino et al., 2014). Gleichzeitig wird VEGF-A als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen in Erwägung gezogen (Garcia de la Torre et al., 2008). Viszerale Adipositas kann die Therapie von Karzinomen mit Anti-VEGF-A-Antikörpern erschweren, z. B. bei metastasiertem kolorektalem Karzinom (Guiu et al., 2010). In Zusammenschau der mit chronisch erhöhtem Serum-VEGF-A assoziierten Risikofaktoren scheint es sinnvoll, dieses Peptidhormon in die Evaluierung des "metabolischen" Erfolgs der bariatrischen Chirurgie mit einzubeziehen. Zudem zeigt die hier vorliegende Arbeit, dass LSG und LGB eine langfristige Reduzierung des Serum-

VEGF-A bis 24 Monate nach OP bewirken, die in positivem Zusammenhang mit dem BMI steht. Im in-vitro-Experiment konnten Hinweise auf eine tendenzielle Adipogenesesteigerung durch VEGF-A und eine tendenzielle Inhibierung der Adipogenese durch einen VEGF-A-Rezeptorinhibitor gefunden werden. Für eine genauere Aussage zur molekularbiologischen Wirkung des VEGF-A im Rahmen der Adipogenese sollten die in-vitro-Experimente jedoch wiederholt und statistisch abgesichert werden.

VEGF-A sollte künftig als Teil eines Messwerte-Panels von metabolisch risikoassoziierten Adipokinen nach bariatrischer OP diskutiert werden, um den Rückgang des metabolischen Risikos der Erkrankung Adipositas und damit den Erfolg bariatrischer Eingriffe zu evaluieren. Gleichzeitig rücken VEGF-A und seine Rezeptoren als Ziel einer Anti-Adipositas-therapie in den Fokus weiterer Forschung, die bisher schon in-vitro und im Tiermodell Erfolge zeigte (Cao, 2010; Fukumura et al., 2003; Tam et al., 2009).

5.6 Ist die Apelin-12-Konzentration im Patienten-Serum ein geeigneter Parameter für die Evaluierung des Erfolgs der bariatrischen Chirurgie?

Apelin ist noch immer ein relativ unerforschtes Peptidhormon (Szokodi et al., 2002). Ihm werden verschiedene metabolische Wirkungen in verschiedenen Geweben zugeschrieben (Castan-Laurell et al., 2011). Dabei wird zwischen mehreren Isoformen des Apelins unterschieden, welche verschiedene Aktivität aufweisen (Castan-Laurell et al., 2011; Mesmin et al., 2010). Aufgrund seiner Assoziation mit dem Glucose- und Insulinstoffwechsel sowie dem Diabetes, welcher erfolgreich durch bariatrische Chirurgie behandelt werden kann, tritt das Apelin als Marker für den Erfolg der metabolischen Chirurgie in den Fokus (Bertrand et al., 2015; Henry Buchwald et al., 2009). Die Ergebnisse klinischer Studien bezüglich der Frage, inwieweit die Apelin-Konzentration im Blut mit dem Grad der Insulinresistenz korreliert, liefern widersprüchliche Ergebnisse (Erdem et al., 2008; Karbek et al., 2014; Reinehr et al., 2011; Tasci et al., 2007). Experimentelle Arbeiten an der Maus und in-vitro-Modellen zeigen jedoch, dass Apelin negativ mit dem Grad der Insulinresistenz korreliert und einen inhibitorischen Effekt auf die Adipogenese besitzt (Higuchi et al., 2007; Sawane et al., 2013; Than et al., 2012; Yue et al., 2011). In der hier vorliegenden Arbeit wurde erstmals ein signifikanter Anstieg des Apelin-12 im Patientenserum bis 24 Monate nach OP und an einem in-vitro-Modell eine tendenzielle Hemmung der Adipogenese durch Apelin-12 beobachtet. Da Apelin bereits als potentieller Biomarker für Diabetes mellitus Typ 2 diskutiert wird, könnte es zukünftig auch als Marker zur Evaluation des metabolischen Erfolgs der bariatrischen Chirurgie in Frage kommen (Olivera Santa-Catalina et al., 2017). Bis dahin sollte jedoch der kausale Zusammenhang zwischen Apelin und der Insulinresistenz sowie der Gewichtsabnahme nach bariatrischer OP geklärt und anhand großer randomisierter Studien empirisch bestätigt werden. Auch für Apelin liegen keine Referenzwerte der normalen Serumkonzentration vor. Deshalb sollte auch hier eher ein relativer Vergleich der prä- und postoperativen Werte stattfinden als eine Fixierung auf Absolutwerte. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen für die These, dass Apelin-12 im Blutserum nach bariatrischer Operation ansteigt. Die aktuelle Studienlage deutet an, dass dies mit einem Rückgang der Insulinresistenz und einer Konsolidierung des Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert ist. Für eine genauere Aussage zur molekularbiologischen Wirkung des Apelin-12 im Rahmen der Adipogenese sollten die in-vitro-Experimente der vorliegende Arbeit wiederholt und statistisch abgesichert werden.

5.7 Limitationen

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden 30 Patienten ausgewählt, bei denen eine Indikation zur bariatrischen Operation bestand. Grundsätzlich ist die Population der Adipositaspatienten ausgesprochen heterogen, da Patienten unterschiedliche Vor- und Folgeerkrankungen aufweisen. Bei einem relativ kleinen Patientenkollektiv wie in der vorliegenden Arbeit wäre daher eine genauere Vorauswahl der Patienten anhand von Alter, Geschlecht, Komorbiditäten, Operationstechnik und erfolgreichem Follow-Up sinnvoll gewesen. Außerdem hätte eine gesunde Kontrollgruppe in die Studie eingeschlossen werden können. Auch im Rahmen der angestellten Gruppenvergleiche wäre es vorteilhaft gewesen, homogenere Gruppen mit im besten Fall höheren Patientenzahlen zu bilden. Dabei wäre die Verlaufskontrolle bekannter Komorbiditäten - insbesondere deren Remission - ein nützlicher Anhaltspunkt gewesen. Die Interpretation der Ergebnisse wäre aufgrund der damit reduzierbaren Störfaktoren erleichtert worden. Andererseits bildet das in der vorliegenden Arbeit gewählte Patientenkollektiv ein realistisches Abbild der klinischen Realität. Zukünftigen klinischen und experimentellen Studien wird ermöglicht, erhobene Messwerte, ihre Schwankungsbreite und mögliche Assoziationen untereinander mit dieser Arbeit abzugleichen und anhand dessen die Planung und Durchführung künftiger Studien zu optimieren. Die in-vitro-Adipogenese-Experimente mit dem LiSa-2-Zell Modell sind eine erste Sondierung und müssen in der Zukunft mehrfach wiederholt werden um eine statistisch abgesicherte Aussage zu ermöglichen. In zukünftigen Experimenten muss die Färbung der LiSa-2-Zellen mit Oil Red O für eine photometrische Messung zur quantitativen Analyse herangezogen werden. Mehrere Banden in den erstellten Western Blots haben aufgrund ihrer Übersättigung oder zu geringen Abgrenzbarkeit eine eingeschränkte Aussagekraft. Die Ergebnisse der in-vitro-Studie sind daher als vorläufig zu betrachten. Die zugrundeliegenden Zusammenhänge sollten in zukünftigen Studien unter angepassten Bedingungen erneut betrachtet werden.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- Adams, T. D., Stroup, A. M., Gress, R. E., Adams, K. F., Calle, E. E., Smith, S. C., Halverson, R. C., Simper, S. C., Hopkins, P. N., & Hunt, S. C. (2009). Cancer incidence and mortality after gastric bypass surgery. *Obesity (Silver Spring)*, *17*(4), 796-802.
- Adler, A. S., Lin, M., Horlings, H., Nuyten, D. S., van de Vijver, M. J., & Chang, H. Y. (2006). Genetic regulators of large-scale transcriptional signatures in cancer. *Nat Genet*, *38*(4), 421-430.
- Afshin, A., Forouzanfar, M. H., Reitsma, M. B., Sur, P., Estep, K., Lee, A., Marczak, L., Mokdad, A. H., Moradi-Lakeh, M., Naghavi, M., Salama, J. S., Vos, T., Abate, K. H., Abbafati, C., Ahmed, M. B., Al-Aly, Z., Alkerwi, A., Al-Raddadi, R., Amare, A. T., Amberbir, A., Amegah, A. K., Amini, E., Amrock, S. M., Anjana, R. M., Arnlov, J., Asayesh, H., Banerjee, A., Barac, A., Baye, E., Bennett, D. A., Beyene, A. S., Biadgilign, S., Biryukov, S., Bjertness, E., Boneya, D. J., Campos-Nonato, I., Carrero, J. J., Cecilio, P., Cercy, K., Ciobanu, L. G., Cornaby, L., Damtew, S. A., Dandona, L., Dandona, R., Dharmaratne, S. D., Duncan, B. B., Eshrati, B., Esteghamati, A., Feigin, V. L., Fernandes, J. C., Furst, T., Gebrehiwot, T. T., Gold, A., Gona, P. N., Goto, A., Habtewold, T. D., Hadush, K. T., Hafezi-Nejad, N., Hay, S. I., Horino, M., Islami, F., Kamal, R., Kasaeian, A., Katikireddi, S. V., Kengne, A. P., Kesavachandran, C. N., Khader, Y. S., Khang, Y. H., Khubchandani, J., Kim, D., Kim, Y. J., Kinfu, Y., Kosen, S., Ku, T., Defo, B. K., Kumar, G. A., Larson, H. J., Leinsalu, M., Liang, X., Lim, S. S., Liu, P., Lopez, A. D., Lozano, R., Majeed, A., Malekzadeh, R., Malta, D. C., Mazidi, M., McAlinden, C., McGarvey, S. T., Mengistu, D. T., Mensah, G. A., Mensink, G. B. M., Mezgebe, H. B., Mirrakhimov, E. M., Mueller, U. O., Noubiap, J. J., Obermeyer, C. M., Ogbo, F. A., Owolabi, M. O., Patton, G. C., Pourmalek, F., Qorbani, M., Rafay, A., Rai, R. K., Ranabhat, C. L., Reinig, N., Safiri, S., Salomon, J. A., Sanabria, J. R., Santos, I. S., Sartorius, B., Sawhney, M., Schmidhuber, J., Schutte, A. E., Schmidt, M. I., Sepanlou, S. G., Shamsizadeh, M., Sheikhbahaei, S., Shin, M. J., Shiri, R., Shiue, I., Roba, H. S., Silva, D. A. S., Silverberg, J. I., Singh, J. A., Stranges, S., Swaminathan, S., Tabares-Seisdedos, R., Tadese, F., Tedla, B. A., Tegegne, B. S., Terkawi, A. S., Thakur, J. S., Tonelli, M., Topor-Madry, R., Tyrovolas, S., Ukwaja, K. N., Uthman, O. A., Vaezghasemi, M., Vasankari, T., Vlassov, V. V., Vollset, S. E., Weiderpass, E., Werdecker, A., Wesana, J., Westerman, R., Yano, Y., Yonemoto, N., Yonga, G., Zaidi, Z., Zenebe, Z. M., Zipkin, B., & Murray, C. J. L. (2017). Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med*, *377*(1), 13-27.
- Aggarwal, B. B. (2010). Targeting inflammation-induced obesity and metabolic diseases by curcumin and other nutraceuticals. *Annu Rev Nutr*, *30*, 173-199.
- Alappat, L., & Awad, A. B. (2010). Curcumin and obesity: evidence and mechanisms. *Nutrition Reviews*, *68*(12), 729-738.
- American Diabetes Association. (2013). Standards of medical care in diabetes--2013. *Diabetes Care*, *36* Suppl 1, S11-66.
- Amling, C. L., Riffenburgh, R. H., Sun, L., Moul, J. W., Lance, R. S., Kusuda, L., Sexton, W. J., Soderdahl, D. W., Donahue, T. F., Foley, J. P., Chung, A., & McLeod, D. G. (2004). Pathologic variables and recurrence rates as related to obesity and race in men with prostate cancer undergoing radical prostatectomy. *Journal of Urology*, *171*(4), 116-117.
- Arbiser, J. L., Klauber, N., Rohan, R., van Leeuwen, R., Huang, M. T., Fisher, C., Flynn, E., & Byers, H. R. (1998). Curcumin is an in vivo inhibitor of angiogenesis. *Mol Med*, *4*(6), 376-383.
- Arica, P. C., Aydin, S., Zengin, U., Kocael, A., Orhan, A., Zengin, K., Gelisgen, R., Taskin, M., & Uzun, H. (2018). The Effects on Obesity Related Peptides of Laparoscopic Gastric Band Applications in Morbidly Obese Patients. *J Invest Surg*, *31*(2), 89-95.
- Arterburn, D., & Gupta, A. (2018). Comparing the Outcomes of Sleeve Gastrectomy and Roux-en-Y Gastric Bypass for Severe Obesity. *Jama-Journal of the American Medical Association*, *319*(3), 235-237.

- Asano, A., Irie, Y., & Saito, M. (2001). Isoform-specific regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) family mRNA expression in cultured mouse brown adipocytes. *Mol Cell Endocrinol*, 174(1-2), 71-76.
- AVIVA SYSTEMS BIOLOGY. (2014). Instruction Manual for Human VEGF ELISA KIT. Retrieved from <http://www.avivasysbio.com/media/catalog/product/SU/KIT/OKAA00029.pdf> (letzter Zugriff: 28.08.2018, 17:04 Uhr)
- Ba, H. J., Chen, H. S., Su, Z., Du, M. L., Chen, Q. L., Li, Y. H., & Ma, H. M. (2014). Associations between Serum Apelin-12 Levels and Obesity-Related Markers in Chinese Children. *PLoS ONE*, 9(1).
- Banks, R. E., Forbes, M. A., Kinsey, S. E., Stanley, A., Ingham, E., Walters, C., & Selby, P. J. (1998). Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer*, 77(6), 956-964.
- Bartelt, A., & Heeren, J. (2014). Adipose tissue browning and metabolic health. *Nature Reviews Endocrinology*, 10(1), 24-36.
- Batchvarova, N., Wang, X. Z., & Ron, D. (1995). Inhibition of Adipogenesis by the Stress-Induced Protein Chop (Gadd153). *Embo Journal*, 14(19), 4654-4661.
- Bech-Otschir, D., Kraft, R., Huang, X., Henklein, P., Kapelari, B., Pollmann, C., & Dubiel, W. (2001). COP9 signalosome-specific phosphorylation targets p53 to degradation by the ubiquitin system. *Embo Journal*, 20(7), 1630-1639.
- Bech-Otschir, D., Seeger, M., & Dubiel, W. (2002). The COP9 signalosome: at the interface between signal transduction and ubiquitin-dependent proteolysis. *J Cell Sci*, 115(Pt 3), 467-473.
- Becton Dickinson GmbH. (2017). Produktkatalog PAS Kapitel venöse Blutentnahme. Retrieved from http://www.bd.com/Documents/bd-legacy/catalogue/microbiology-solutions/DS_BD-Diagnostics-Preanalytical-Systems_CT_DE.pdf (letzter Zugriff: 28.08.2018, 17:37 Uhr)
- Belizon, A., Balik, E., Feingold, D. L., Bessler, M., Arnell, T. D., Forde, K. A., Horst, P. K., Jain, S., Cekic, V., Kirman, I., & Whelan, R. L. (2006). Major abdominal surgery increases plasma levels of vascular endothelial growth factor: open more so than minimally invasive methods. *Ann Surg*, 244(5), 792-798.
- Benavoli, A., Corani, G., & Mangili, F. (2016). Should We Really Use Post-Hoc Tests Based on Mean-Ranks? *Journal of Machine Learning Research*, 17.
- Berg, A. H., & Scherer, P. E. (2005). Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation Research*, 96(9), 939-949.
- Bertrand, C., Valet, P., & Castan-Laurell, I. (2015). Apelin and energy metabolism. *Front Physiol*, 6, 115.
- Bodi, V., Husser O Fau - Sanchis, J., Sanchis J Fau - Nunez, J., Nunez J Fau - Monmeneu, J. V., Monmeneu Jv Fau - Lopez-Lereu, M. P., Lopez-Lereu Mp Fau - Bosch, M. J., Bosch Mj Fau - Rumiz, E., Rumiz E Fau - Minana, G., Minana G Fau - Garcia, C., Garcia C Fau - Diago, J. L., Diago JI Fau - Chaustre, F., Chaustre F Fau - Moratal, D., Moratal D Fau - Gomez, C., Gomez C Fau - Aguilar, J., Aguilar J Fau - Chorro, F. J., Chorro Fj Fau - Llacer, A., & Llacer, A. Prognostic implications of dipyridamole cardiac MR imaging: a prospective multicenter registry. (1527-1315 (Electronic)).
- Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., Gesta, S., Guigne, C., Mazzucotelli, A., Castan-Laurell, I., Tack, I., Knibiehler, B., Carpene, C., Audigier, Y., Saulnier-Blache, J. S., & Valet, P. (2005). Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 146(4), 1764-1771.
- Bouloumie, A., Lolmede, K., Sengenès, C., Galitzky, J., & Lafontan, M. (2002). Angiogenesis in adipose tissue. *Annales D Endocrinologie*, 63(2), 91-95.
- Brakenhielm, E., Cao, R., Gao, B., Angelin, B., Cannon, B., Parini, P., & Cao, Y. (2004). Angiogenesis inhibitor, TNP-470, prevents diet-induced and genetic obesity in mice. *Circ Res*, 94(12), 1579-1588.

- Braumann, C., Tangermann, J., Jacobi, C. A., Muller, J. M., & Dubiel, W. (2008). Novel anti-angiogenic compounds for application in tumor therapy - COP9 signalosome-associated kinases as possible targets. *Mini Rev Med Chem*, 8(5), 421-428.
- Bray, M. S., Loos, R. J. F., McCaffery, J. M., Ling, C., Franks, P. W., Weinstock, G. M., Snyder, M. P., Vassy, J. L., Agurs-Collins, T., & Grp, C. W. (2016). NIH Working Group Report-Using Genomic Information to Guide Weight Management: From Universal to Precision Treatment (vol 24, pg 14, 2016). *Obesity*, 24(3), 757-757.
- Brochu, M., Tchernof, A., Dionne, I. J., Sites, C. K., Eltabbakh, G. H., Sims, E. A. H., & Poehlman, E. T. (2001). What are the physical characteristics associated with a normal metabolic profile despite a high level of obesity in postmenopausal women? *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(3), 1020-1025.
- Broll, R., Erdmann, H., Duchrow, M., Oeverman, E., Schwandner, O., Markert, U., Bruch, H. P., & Windhovel, U. (2001). Vascular endothelial growth factor (VEGF) - a valuable serum tumour marker in patients with colorectal cancer? *European Journal of Surgical Oncology*, 27(1), 37-42.
- Buchwald, H., Avidor, Y., Braunwald, E., Jensen, M. D., Pories, W., Fahrbach, K., & Schoelles, K. (2004). Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 292(14), 1724-1737.
- Buchwald, H., Estok, R., Fahrbach, K., Banel, D., Jensen, M. D., Pories, W. J., Bantle, J. P., & Sledge, I. (2009). Weight and Type 2 Diabetes after Bariatric Surgery: Systematic Review and Meta-analysis. *The American Journal of Medicine*, 122(3), 248-256.e245.
- Buchwald, H., & Oien, D. M. (2013). Metabolic/Bariatric Surgery Worldwide 2011. *Obes Surg*, 23(4), 427-436.
- Buzga, M., Zavadilova, V., Holeczy, P., Svagera, Z., Svorc, P., Foltys, A., & Zonca, P. (2014). Dietary intake and ghrelin and leptin changes after sleeve gastrectomy. *Videosurgery and Other Miniinvasive Techniques*, 9(4), 554-561.
- Byers, T., & Sedjo, R. L. (2011). Does intentional weight loss reduce cancer risk? *Diabetes Obes Metab*, 13(12), 1063-1072.
- Byrne, A. M., Bouchier-Hayes, D. J., & Harmey, J. H. (2005). Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med*, 9(4), 777-794.
- Cao, Y. (2010). Adipose tissue angiogenesis as a therapeutic target for obesity and metabolic diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 9(2), 107-115.
- Carbonell, A. M., Wolfe, L. G., Meador, J. G., Sugerman, H. J., Kellum, J. M., & Maher, J. W. (2008). Does diabetes affect weight loss after gastric bypass? *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 4(3), 441-444.
- Caron-Cantin, S.-M., Martin, J., Bastien, M., Munkonda, M. N., Lu, H., Cianflone, K., Moustarah, F., Biertho, L., Marceau, S., Hould, F.-S., Bussi eres, J., & Poirier, P. (2013). Acute and Chronic Effects of Biliopancreatic Diversion with Duodenal Switch Surgery on Plasma Visfatin and Apelin Levels in Patients with Severe Obesity. *Obes Surg*, 23(11), 1806-1814.
- Castan-Laurell, I., Dray, C., Attane, C., Duparc, T., Knauf, C., & Valet, P. (2011). Apelin, diabetes, and obesity. *Endocrine*, 40(1), 1-9.
- Castan-Laurell, I., Vitkova, M., Daviaud, D., Dray, C., Kovacicova, M., Kovacova, Z., Hejnova, J., Stich, V., & Valet, P. (2008). Effect of hypocaloric diet-induced weight loss in obese women on plasma apelin and adipose tissue expression of apelin and APJ. *Eur J Endocrinol*, 158(6), 905-910.
- Castellot, J. J., Karnovsky, M. J., & Spiegelman, B. M. (1982). Differentiation-Dependent Stimulation of Neovascularization and Endothelial-Cell Chemotaxis by 3t3 Adipocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences*, 79(18), 5597-5601.
- Cavallo, M. G., Sentinelli, F., Barchetta, I., Costantino, C., Incani, M., Perra, L., Capoccia, D., Romeo, S., Cossu, E., Leonetti, F., Agati, L., & Baroni, M. G. (2012). Altered Glucose Homeostasis Is Associated with Increased Serum Apelin Levels in Type 2 Diabetes Mellitus. *PLoS ONE*, 7(12), e51236.

- Chamovitz, D. A. (2009). Revisiting the COP9 signalosome as a transcriptional regulator. *EMBO Rep*, 10(4), 352-358.
- Chaves-Almagro, C., Castan-Laurell, I., Dray, C., Knauf, C., Valet, P., & Masri, B. (2015). Apelin receptors: From signaling to antidiabetic strategy. *European Journal of Pharmacology*, 763, 149-159.
- Cheng, X., Cheng, X. S., & Pang, C. C. Y. (2003). Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *European Journal of Pharmacology*, 470(3), 171-175.
- Chou, E., Suzuma, I., Way, K. J., Opland, D., Clermont, A. C., Naruse, K., Suzuma, K., Bowling, N. L., Vlahos, C. J., Aiello, L. P., & King, G. L. (2002). Decreased cardiac expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in insulin-resistant and diabetic states - A possible explanation for impaired collateral formation in cardiac tissue. *Circulation*, 105(3), 373-379.
- Christou, N. V., Lieberman, M., Sampalis, F., & Sampalis, J. S. (2008). Bariatric surgery reduces cancer risk in morbidly obese patients. *Surg Obes Relat Dis*, 4(6), 691-695.
- Christou, N. V., Look, D., & Maclean, L. D. (2006). Weight gain after short- and long-limb gastric bypass in patients followed for longer than 10 years. *Ann Surg*, 244(5), 734-740.
- Church, T. S., Thomas, D. M., Tudor-Locke, C., Katzmarzyk, P. T., Earnest, C. P., Rodarte, R. Q., Martin, C. K., Blair, S. N., & Bouchard, C. (2011). Trends over 5 Decades in US Occupation-Related Physical Activity and Their Associations with Obesity. *PLoS ONE*, 6(5).
- Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., Wang, S. P., Fortier, M., Greenberg, A. S., & Obin, M. S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *Journal of Lipid Research*, 46(11), 2347-2355.
- Claffey K. P., Wilkison W. O., & Spiegelman B. M. (1992). Vascular Endothelial Growth-Factor - Regulation by Cell-Differentiation and Activated 2nd Messenger Pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 267(23), 16317-16322.
- Clauss, M., Gerlach, M., Gerlach, H., Brett, J., Wang, F., Familletti, P. C., Pan, Y. C. E., Olander, J. V., Connolly, D. T., & Stern, D. (1990). Vascular-Permeability Factor - a Tumor-Derived Polypeptide That Induces Endothelial-Cell and Monocyte Procoagulant Activity, and Promotes Monocyte Migration. *Journal of Experimental Medicine*, 172(6), 1535-1545.
- CLOUD-CLONE CORP. (2013). Instruction Manual for ELISA Kit for Apelin 12 (AP12). Retrieved from [http://www.cloud-clone.com/manual/ELISA-Kit-for-Apelin-12-\(AP12\)-CEA856Hu.pdf](http://www.cloud-clone.com/manual/ELISA-Kit-for-Apelin-12-(AP12)-CEA856Hu.pdf) (letzter Zugriff: 28.08.2018, 16:56 Uhr)
- Compher, C. W., Hanlon, A., Kang, Y., Elkin, L., & Williams, N. N. (2012). Attendance at clinical visits predicts weight loss after gastric bypass surgery. *Obes Surg*, 22(6), 927-934.
- Cooper, T. C., Simmons, E. B., Webb, K., Burns, J. L., & Kushner, R. F. (2015). Trends in Weight Regain Following Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGB) Bariatric Surgery. *Obes Surg*, 25(8), 1474-1481.
- Cottam, D., Fisher, B., Ziemba, A., Atkinson, J., Grace, B., Ward, D. C., & Pizzorno, G. (2010). Tumor growth factor expression in obesity and changes in expression with weight loss: another cause of increased virulence and incidence of cancer in obesity. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 6(5), 538-541.
- Cusi, K., & DeFronzo, R. A. (1998). Metformin: a review of its metabolic effects. *Diabetes Reviews*, 6(2), 89-131.
- Daniell, H. W., Tam, E., & Filice, A. (1993). Larger Axillary Metastases in Obese Women and Smokers with Breast-Cancer - an Influence by Host Factors on Early Tumor Behavior. *Breast Cancer Res Treat*, 25(3), 193-201.
- De Falco, S., Gigante, B., & Persico, M. G. (2002). Structure and function of placental growth factor. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 12(6), 241-246.
- De Pergola, G., & Silvestris, F. (2013). Obesity as a major risk factor for cancer. *J Obes*, 2013, 291546.

- Del Vecchio, M., Mortarini, R., Canova, S., Di Guardo, L., Pimpinelli, N., Sertoli, M. R., Bedognetti, D., Queirolo, P., Morosini, P., Perrone, T., Bajetta, E., & Anichini, A. (2010). Bevacizumab plus Fotemustine as First-line Treatment in Metastatic Melanoma Patients: Clinical Activity and Modulation of Angiogenesis and Lymphangiogenesis Factors. *Clinical Cancer Research*, *16*(23), 5862-5872.
- Deng, X. W., Dubiel, W., Wei, N., Hofmann, K., & Mundt, K. (2000). Unified nomenclature for the COP9 signalosome and its subunits: an essential regulator of development. *Trends Genet*, *16*(7), 289.
- Denti, S., Fernandez-Sanchez, M. E., Rogge, L., & Bianchi, E. (2006). The COP9 signalosome regulates Skp2 levels and proliferation of human cells. *J Biol Chem*, *281*(43), 32188-32196.
- Dimitriadis, G., Lambadiari, V., Mitrou, P., Maratou, E., Boutati, E., Panagiotakos, D. B., Economopoulos, T., & Raptis, S. A. (2007). Impaired postprandial blood flow in adipose tissue may be an early marker of insulin resistance in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, *30*(12), 3128-3130.
- Dixon, J. B., Zimmet, P., Alberti, K. G., & Rubino, F. (2011). Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. *Diabetic Medicine*, *28*(6), 628-642.
- Dobbins, M., Decorby, K., & Choi, B. C. (2013). The Association between Obesity and Cancer Risk: A Meta-Analysis of Observational Studies from 1985 to 2011. *ISRN Prev Med*, *2013*, 680536.
- Dray, C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., Buleon, M., Cani, P. D., Attane, C., Guigne, C., Carpenne, C., Burcelin, R., Castan-Laurell, I., & Valet, P. (2008). Apelin Stimulates Glucose Utilization in Normal and Obese Insulin-Resistant Mice. *Cell Metabolism*, *8*(5), 437-445.
- Dubiel, D., Bintig, W., Kahne, T., Dubiel, W., & Naumann, M. (2017). Cul3 neddylation is crucial for gradual lipid droplet formation during adipogenesis. *Biochim Biophys Acta*, *1864*(8), 1405-1412.
- Dubiel, D., Gierisch, M. E., Huang, X., Dubiel, W., & Naumann, M. (2013). CAND1-dependent control of cullin 1-RING Ub ligases is essential for adipogenesis. *Biochim Biophys Acta*, *1833*(5), 1078-1084.
- Dubiel, D., Ordemann, J., Pratschke, J., Dubiel, W., & Naumann, M. (2015). CAND1 exchange factor promotes Keap1 integration into cullin 3-RING ubiquitin ligase during adipogenesis. *Int J Biochem Cell Biol*, *66*, 95-100.
- Ejaz, A., Wu, D., Kwan, P., & Meydani, M. (2009). Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *Journal of Nutrition*, *139*(5), 919-925.
- Emoto, M., Anno, T., Sato, Y., Tanabe, K., Okuya, S., Tanizawa, Y., Matsutani, A., & Oka, Y. (2001). Troglitazone treatment increases plasma vascular endothelial growth factor in diabetic patients and its mRNA in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes*, *50*(5), 1166-1170.
- Erdem, G., Dogru, T., Tasci, I., Sonmez, A., & Tapan, S. (2008). Low plasma apelin levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, *116*(5), 289-292.
- Falcao-Pires, I., & Leite-Moreira, A. F. (2005). Apelin: a novel neurohumoral modulator of the cardiovascular system. Pathophysiologic importance and potential use as a therapeutic target. *Rev Port Cardiol*, *24*(10), 1263-1276.
- Farey, J. E., Fisher, O. M., Levert-Mignon, A. J., Forner, P. M., & Lord, R. V. (2017). Decreased Levels of Circulating Cancer-Associated Protein Biomarkers Following Bariatric Surgery. *Obes Surg*, *27*(3), 578-585.
- Farmer, S. R. (2005). Regulation of PPARgamma activity during adipogenesis. *Int J Obes (Lond)*, *29* Suppl 1, S13-16.
- Farmer, S. R. (2006). Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metab*, *4*(4), 263-273.
- Ferrara, N., & Bunting, S. (1996). Vascular endothelial growth factor, a specific regulator of angiogenesis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, *5*(1), 35-44.

- Ferrara, N., & Henzel, W. J. (1989). Pituitary Follicular Cells Secrete a Novel Heparin-Binding Growth-Factor Specific for Vascular Endothelial-Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 161(2), 851-858.
- Festuccia, W. T., Blanchard, P. G., Turcotte, V., Laplante, M., Sariahmetoglu, M., Brindley, D. N., Richard, D., & Deshaies, Y. (2009). The PPAR gamma agonist rosiglitazone enhances rat brown adipose tissue lipogenesis from glucose without altering glucose uptake. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 296(5), R1327-R1335.
- Fisher, B. L., & Schauer, P. (2002). Medical and surgical options in the treatment of severe obesity. *Am J Surg*, 184(6B), 9S-16S.
- Folkman, J. (1990). What Is the Evidence That Tumors Are Angiogenesis Dependent. *Journal of the National Cancer Institute*, 82(1), 4-6.
- Freedland, S. J., Aronson, W. J., Kane, C. J., Presti, J. C., Amling, C. L., Elashoff, D., & Terris, M. K. (2004). Impact of obesity on biochemical control after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: A report by the shared equal access regional cancer hospital database study group. *Journal of Clinical Oncology*, 22(3), 446-453.
- Freire, R. H., Borges, M. C., Alvarez-Leite, J. I., & Correia, M. I. T. D. (2012). Food quality, physical activity, and nutritional follow-up as determinant of weight regain after Roux-en-Y gastric bypass. *Nutrition*, 28(1), 53-58.
- Frescas, D., & Pagano, M. (2008). Deregulated proteolysis by the F-box proteins SKP2 and beta-TrCP: tipping the scales of cancer. *Nat Rev Cancer*, 8(6), 438-449.
- Frey, W. C., & Pilcher, J. (2003). Obstructive sleep-related breathing disorders in patients evaluated for bariatric surgery. *Obes Surg*, 13(5), 676-683.
- Fukumura, D., Ushiyama, A., Duda, D. G., Xu, L., Tam, J., Krishna, V., Chatterjee, K., Garkavtsev, I., & Jain, R. K. (2003). Paracrine regulation of angiogenesis and adipocyte differentiation during in vivo adipogenesis. *Circ Res*, 93(9), e88-97.
- Garcia de la Torre, N., Rubio, M. A., Bordiu, E., Cabrerizo, L., Aparicio, E., Hernandez, C., Sanchez-Pernaute, A., Diez-Valladares, L., Torres, A. J., Puente, M., & Charro, A. L. (2008). Effects of weight loss after bariatric surgery for morbid obesity on vascular endothelial growth factor-A, adipocytokines, and insulin. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(11), 4276-4281.
- Gealekman, O., Burkart, A., Chouinard, M., Nicoloso, S. M., Straubhaar, J., & Corvera, S. (2008). Enhanced angiogenesis in obesity and in response to PPAR gamma activators through adipocyte VEGF and ANGPTL4 production. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295(5), E1056-E1064.
- George, M. L., Eccles, S. A., Tutton, M. G., Abulafi, A. M., & Swift, R. I. (2000). Correlation of plasma and serum vascular endothelial growth factor levels with platelet count in colorectal cancer: clinical evidence of platelet scavenging? *Clin Cancer Res*, 6(8), 3147-3152.
- Gong, Z., Agalliu, I., Lin, D. W., Stanford, J. L., & Kristal, A. R. (2007). Obesity is associated with increased risks of prostate cancer metastasis and death after initial cancer diagnosis in middle-aged men. *Cancer*, 109(6), 1192-1202.
- Gould, J. C., Beverstein, G., Reinhardt, S., & Garren, M. J. (2007). Impact of routine and long-term follow-up on weight loss after laparoscopic gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis*, 3(6), 627-630; discussion 630.
- Gozal, D., Lipton, A. J., & Jones, K. L. (2002). Circulating vascular endothelial growth factor levels in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep*, 25(1), 59-65.
- Grant, R. W., & Dixit, V. D. (2015). Adipose Tissue as an Immunological Organ. *Obesity*, 23(3), 512-518.
- Gray, S. L., & Vidal-Puig, A. J. (2007). Adipose tissue expandability in the maintenance of metabolic homeostasis. *Nutrition Reviews*, 65(6), S7-S12.
- Grumati, P., & Dikic, I. (2018). Ubiquitin signaling and autophagy. *J Biol Chem*, 293(15), 5404-5413.
- Guiu, B., Petit, J. M., Bonnetain, F., Ladoire, S., Guiu, S., Cercueil, J. P., Krause, D., Hillon, P., Borg, C., Chauffert, B., & Ghiringhelli, F. (2010). Visceral fat area is an independent

- predictive biomarker of outcome after first-line bevacizumab-based treatment in metastatic colorectal cancer. *Gut*, 59(3), 341-347.
- Hall, J. E. (2003). The kidney, hypertension, and obesity. *Hypertension*, 41(3), 625-633.
- Hall, K. D., Guo, J., Dore, M., & Chow, C. C. (2009). The progressive increase of food waste in America and its environmental impact. *PLoS ONE*, 4(11), e7940.
- Haller, H. (1975). *Synoptische Betrachtung Metabolischer Risikofaktoren*.
- Hanipah, Z. N., & Schauer, P. R. (2017). Surgical Treatment of Obesity and Diabetes. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 27(2), 191-211.
- Hanrahan, V., Currie, M. J., Gunningham, S. P., Morrin, H. R., Scott, P. A. E., Robinson, B. A., & Fox, S. B. (2003). The angiogenic switch for vascular endothelial growth factor (VEGF)-A, VEGF-B, VEGF-C, and VEGF-D in the adenoma-carcinoma sequence during colorectal cancer progression. *Journal of Pathology*, 200(2), 183-194.
- Harms, M., & Seale, P. (2013). Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med*, 19(10), 1252-1263.
- Hayashi, H., Arao, T., Matsumoto, K., Kimura, H., Togashi, Y., Hirashima, Y., Horita, Y., Iwasa, S., Okita, N. T., Honma, Y., Takashima, A., Kato, K., Hamaguchi, T., Shimada, Y., Nakagawa, K., Nishio, K., & Yamada, Y. (2014). Biomarkers of reactive resistance and early disease progression during chemotherapy plus bevacizumab treatment for colorectal carcinoma. *Oncotarget*, 5(9), 2588-2595.
- Hefler, L. A., Zeillinger, R., Grimm, C., Sood, A. K., Cheng, W. F., Gadducci, A., Tempfer, C. B., & Reinthaller, A. (2006). Preoperative serum vascular endothelial growth factor as a prognostic parameter in ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 103(2), 512-517.
- Heinonen, M. V., Purhonen, A. K., Miettinen, P., Paakkonen, M., Pirinen, E., Alhava, E., Akerman, K., & Herzig, K. H. (2005). Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regul Pept*, 130(1-2), 7-13.
- Henley, D. E., Buchanan, F., Gibson, R., Douthwaite, J. A., Wood, S. A., Woltersdorf, W. W., Catterall, J. R., & Lightman, S. L. (2009). Plasma apelin levels in obstructive sleep apnea and the effect of continuous positive airway pressure therapy. *Journal of Endocrinology*, 203(1), 181-188.
- Hershko, A., & Ciechanover, A. (1998). The ubiquitin system. *Annual Review of Biochemistry*, Vol 81, 67, 425-479.
- Hess, D. S., & Hess, D. W. (1998). Biliopancreatic diversion with a duodenal switch. *Obes Surg*, 8(3), 267-282.
- Heymsfield, S. B., Gonzalez, M. C. C., Shen, W., Redman, L., & Thomas, D. (2014). Weight loss composition is one-fourth fat-free mass: a critical review and critique of this widely cited rule. *Obesity Reviews*, 15(4), 310-321.
- Heymsfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*, 376(3), 254-266.
- Higuchi, K., Masaki, T., Gotoh, K., Chiba, S., Katsuragi, I., Tanaka, K., Kakuma, T., & Yoshimatsu, H. (2007). Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology*, 148(6), 2690-2697.
- Hosoya, M., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Fujii, R., Habata, Y., Hinuma, S., Kitada, C., Honda, S., Kurokawa, T., Onda, H., Nishimura, O., & Fujino, M. (2000). Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem*, 275(28), 21061-21067.
- Huang, M. T., Lou, Y. R., Ma, W., Newmark, H. L., Reuhl, K. R., & Conney, A. H. (1994). Inhibitory effects of dietary curcumin on forestomach, duodenal, and colon carcinogenesis in mice. *Cancer Res*, 54(22), 5841-5847.
- Huang, X., Ordemann, J., Muller, J. M., & Dubiel, W. (2012). The COP9 signalosome, cullin 3 and Keap1 supercomplex regulates CHOP stability and adipogenesis. *Biol Open*, 1(8), 705-710.
- Huang, X., Ordemann, J., Pratschke, J., & Dubiel, W. (2016). Overexpression of COP9 signalosome subunits, CSN7A and CSN7B, exerts different effects on adipogenic differentiation. *FEBS Open Bio*, 6(11), 1102-1112.

- Huang, X. H., Ordemann, J., Pratschke, J., & Dubiel, W. (2016). Overexpression of COP9 signalosome subunits, CSN7A and CSN7B, exerts different effects on adipogenic differentiation. *FEBS Open Bio*, 6(11), 1102-1112.
- Hursting, S. D., & Hursting, M. J. (2012). Growth signals, inflammation, and vascular perturbations: mechanistic links between obesity, metabolic syndrome, and cancer. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32(8), 1766-1770.
- Jakubowska, J., Bohdanowicz-Pawlak, A., Milewicz, A., Szymczak, J., Bednarek-Tupikowska, G., & Demissie, M. (2008). Plasma cytokines in obese women with polycystic ovary syndrome, before and after metformin treatment. *Gynecological Endocrinology*, 24(7), 378-384.
- Jehan, S., Myers, A. K., Zizi, F., Pandi-Perumal, S. R., Jean-Louis, G., & McFarlane, S. I. (2018). Obesity, obstructive sleep apnea and type 2 diabetes mellitus: Epidemiology and pathophysiologic insights. *Sleep Med Disord*, 2(3), 52-58.
- Jehan, S., Zizi, F., Pandi-Perumal, S. R., Wall, S., Auguste, E., Myers, A. K., Jean-Louis, G., & McFarlane, S. I. (2017). Obstructive Sleep Apnea and Obesity: Implications for Public Health. *Sleep Med Disord*, 1(4).
- Jeltsch, M., Kaipainen, A., Joukov, V., Meng, X. J., Lakso, M., Rauvala, H., Swartz, M., Fukumura, D., Jain, R. K., & Alitalo, K. (1997). Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science*, 276(5317), 1423-1425.
- Jensen, M. D., Ryan, D. H., Apovian, C. M., Ard, J. D., Comuzzie, A. G., Donato, K. A., Hu, F. B., Hubbard, V. S., Jakicic, J. M., Kushner, R. F., Loria, C. M., Millen, B. E., Nonas, C. A., Pi-Sunyer, F. X., Stevens, J., Stevens, V. J., Wadden, T. A., Wolfe, B. M., & Yanovski, S. Z. (2014). Executive summary: Guidelines (2013) for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Obesity Society published by the Obesity Society and American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Based on a systematic review from the The Obesity Expert Panel, 2013. *Obesity (Silver Spring)*, 22 Suppl 2, S5-39.
- Jia, Y. X., Pan, C. S., Zhang, J., Geng, B., Zhao, J., Gerns, H., Yang, J., Chang, J. K., Tang, C. S., & Qi, Y. F. (2006). Apelin protects myocardial injury induced by isoproterenol in rats. *Regulatory Peptides*, 133(1-3), 147-154.
- Jiang, L. Y., Rong, J. S., Wang, Y. C., Hu, F. L., Bao, C. D., Li, X., & Zhao, Y. S. (2011). The relationship between body mass index and hip osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Joint Bone Spine*, 78(2), 150-155.
- Jiang, L. Y., Tian, W. J., Wang, Y. C., Rong, J. S., Bao, C. D., Liu, Y. P., Zhao, Y. S., & Wang, C. X. (2012). Body mass index and susceptibility to knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Joint Bone Spine*, 79(3), 291-297.
- Kadoglou, N. P., Tsanikidis, H., Kapelouzou, A., Vrabas, I., Vitta, I., Karayannacos, P. E., Liapis, C. D., & Sailer, N. (2010). Effects of rosiglitazone and metformin treatment on apelin, visfatin, and ghrelin levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 59(3), 373-379.
- Kalaitzidis, R. G., Sarafidis, P. A., & Bakris, G. L. (2009). Effects of Thiazolidinediones Beyond Glycaemic Control. *Current Pharmaceutical Design*, 15(5), 529-536.
- Kalin, R. E., Kretz, M. P., Meyer, A. M., Kispert, A., Heppner, F. L., & Brandli, A. W. (2007). Paracrine and autocrine mechanisms of apelin signaling govern embryonic and tumor angiogenesis. *Developmental Biology*, 305(2), 599-614.
- Kang, Y. J., Kim, J. M., Anderson, J. P., Wu, J. X., Gleim, S. R., Kundu, R. K., McLean, D. L., Kim, J. D., Park, H., Jin, S. W., Hwa, J., Quertermous, T., & Chun, H. J. (2013). Apelin-APJ Signaling Is a Critical Regulator of Endothelial MEF2 Activation in Cardiovascular Development. *Circulation Research*, 113(1), 22-31.
- Kanter, R., & Caballero, B. (2012). Global gender disparities in obesity: a review. *Adv Nutr*, 3(4), 491-498.
- Karamanakos, S. N., Vagenas, K., Kalfarentzos, F., & Alexandrides, T. K. (2008). Weight loss, appetite suppression, and changes in fasting and postprandial ghrelin and peptide-YY

- levels after Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: a prospective, double blind study. *Ann Surg*, 247(3), 401-407.
- Karayiannakis, A. J., Syrigos, K. N., Polychronidis, A., Zbar, A., Kouraklis, G., Simopoulos, C., & Karatzas, G. (2002). Circulating VEGF levels in the serum of gastric cancer patients - Correlation with pathological variables, patient survival, and tumor surgery. *Annals of Surgery*, 236(1), 37-42.
- Karbek, B., Bozkurt, N. C., Topaloglu, O., Aslan, M. S., Gungunes, A., Cakal, E., & Delibasi, T. (2014). Relationship of vaspin and apelin levels with insulin resistance and atherosclerosis in metabolic syndrome. *Minerva Endocrinol*, 39(2), 99-105.
- Karelis, A. D., Faraj, M., Bastard, J. P., St Pierre, D. H., Brochu, M., Prud'homme, D., & Rabasa-Lhoret, R. (2005). The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(7), 4145-4150.
- Karmali, S., Schauer, P., Birch, D., Sharma, A. M., & Sherman, V. (2010). Laparoscopic sleeve gastrectomy: an innovative new tool in the battle against the obesity epidemic in Canada. *Canadian Journal of Surgery*, 53(2), 126-132.
- Kawamata, Y., Habata, Y., Fukusumi, S., Hosoya, M., Fujii, R., Hinuma, S., Nishizawa, N., Kitada, C., Onda, H., Nishimura, O., & Fujino, M. (2001). Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim Biophys Acta*, 1538(2-3), 162-171.
- Keck, P. J., Hauser, S. D., Krivi, G., Sanzo, K., Warren, T., Feder, J., & Connolly, D. T. (1989). Vascular-Permeability Factor, an Endothelial-Cell Mitogen Related to Pdgf. *Science*, 246(4935), 1309-1312.
- Keidar, A., Hershkop, K. J., Marko, L., Schweiger, C., Hecht, L., Bartov, N., Kedar, A., & Weiss, R. (2013). Roux-en-Y gastric bypass vs sleeve gastrectomy for obese patients with type 2 diabetes: a randomised trial. *Diabetologia*, 56(9), 1914-1918.
- Kemik, O., Sumer, A., Kemik, A. S., Hasirci, I., Purisa, S., Dulger, A. C., Demiriz, B., & Tuzun, S. (2010). The relationship among acute-phase response proteins, cytokines and hormones in cachectic patients with colon cancer. *World Journal of Surgical Oncology*, 8.
- Khajeh, E., Panahi, N., Golpaie, A., Shirvani, S. H., Afarideh, M., Ghamarnejad, O., Talebpour, M., & Hosseinzadeh-Attar, M. J. (2017). Plasma Apelin and Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) Levels Shortly After Laparoscopic Greater Curvature Plication. *Obes Surg*, 27(6), 1596-1603.
- Kidoya, H., Naito, H., & Takakura, N. (2010). Apelin induces enlarged and nonleaky blood vessels for functional recovery from ischemia. *Blood*, 115(15), 3166-3174.
- Kim, H. J., Madan, A., & Fenton-Lee, D. (2014). Does patient compliance with follow-up influence weight loss after gastric bypass surgery? A systematic review and meta-analysis. *Obes Surg*, 24(4), 647-651.
- Kimura, K., Hashiguchi, T., Deguchi, T., Horinouchi, S. I., Uto, T., Oku, H., Setoyama, S., Maruyama, I., Osame, M., & Arimura, K. (2007). Serum VEGF - As a prognostic factor of atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 194(1), 182-188.
- Kondo, Y., Arii, S., Mori, A., Furutani, M., Chiba, T., & Imamura, M. (2000). Enhancement of angiogenesis, tumor growth, and metastasis by transfection of vascular endothelial growth factor into LoVo human colon cancer cell line. *Clinical Cancer Research*, 6(2), 622-630.
- Koppen, A., & Kalkhoven, E. (2010). Brown vs white adipocytes: the PPARgamma coregulator story. *FEBS Lett*, 584(15), 3250-3259.
- Kramer, C. K., Zinman, B., & Retnakaran, R. (2013). Are metabolically healthy overweight and obesity benign conditions?: A systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*, 159(11), 758-769.
- Krist, J., Wieder, K., Kloting, N., Oberbach, A., Kralisch, S., Wiesner, T., Schon, M. R., Gartner, D., Dietrich, A., Shang, E., Lohmann, T., Dressler, M., Fasshauer, M., Stumvoll, M., & Bluher, M. (2013). Effects of weight loss and exercise on apelin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Obes Facts*, 6(1), 57-69.

- Lauby-Secretan, B., Scoccianti, C., Loomis, D., Grosse, Y., Bianchini, F., Straif, K., & Handbook, I. A. R. C. (2016). Body Fatness and Cancer - Viewpoint of the IARC Working Group. *New England Journal of Medicine*, 375(8), 794-798.
- Lee, D. K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., Liu, Y., Osmond, D. H., George, S. R., & O'Dowd, B. F. (2000). Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*, 74(1), 34-41.
- Lee, D. K., George, S. R., & O'Dowd, B. F. (2006). Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends Pharmacol Sci*, 27(4), 190-194.
- Lee, M. H., Zhao, R., Phan, L., & Yeung, S. C. (2011). Roles of COP9 signalosome in cancer. *Cell Cycle*, 10(18), 3057-3066.
- Lee, W. J., & Almulaifi, A. (2015). Recent advances in bariatric/metabolic surgery: appraisal of clinical evidence. *Journal of Biomedical Research*, 29(2), 98-104.
- Lemieux, S., Despres, J. P., Moorjani, S., Nadeau, A., Theriault, G., Prudhomme, D., Tremblay, A., Bouchard, C., & Lupien, P. J. (1994). Are Gender Differences in Cardiovascular-Disease Risk-Factors Explained by the Level of Visceral Adipose-Tissue. *Diabetologia*, 37(8), 757-764.
- Leung, D. W., Cachianes, G., Kuang, W. J., Goeddel, D. V., & Ferrara, N. (1989). Vascular Endothelial Growth-Factor Is a Secreted Angiogenic Mitogen. *Science*, 246(4935), 1306-1309.
- Li, L., Yang, G., Li, Q., Tang, Y., Yang, M., Yang, H., & Li, K. (2006). Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 114(10), 544-548.
- Li, X., Huang, H. Y., Chen, J. G., Jiang, L., Liu, H. L., Liu, D. G., Song, T. J., He, Q., Ma, C. G., Ma, D., Song, H. Y., & Tang, Q. Q. (2006). Lactacystin inhibits 3T3-L1 adipocyte differentiation through induction of CHOP-10 expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 350(1), 1-6.
- Li, X. R., Lee, C., Tang, Z. S., Zhang, F., Arjunan, P., Li, Y., Hou, X., Kumar, A., & Dong, L. J. (2009). VEGF-B A survival, or an angiogenic factor? *Cell Adhesion & Migration*, 3(4), 322-327.
- Livhits, M., Mercado, C., Yermilov, I., Parikh, J. A., Dutson, E., Mehran, A., Ko, C. Y., & Gibbons, M. M. (2011). Patient behaviors associated with weight regain after laparoscopic gastric bypass. *Obesity Research & Clinical Practice*, 5(3), e169-266.
- Livhits, M., Mercado, C., Yermilov, I., Parikh, J. A., Dutson, E., Mehran, A., Ko, C. Y., & Gibbons, M. M. (2012). Preoperative predictors of weight loss following bariatric surgery: systematic review. *Obes Surg*, 22(1), 70-89.
- Loebig, M., Klement, J., Schmoller, A., Betz, S., Heuck, N., Schweiger, U., Peters, A., Schultes, B., & Oltmanns, K. M. (2010). Evidence for a Relationship between VEGF and BMI Independent of Insulin Sensitivity by Glucose Clamp Procedure in a Homogenous Group Healthy Young Men. *PLoS ONE*, 5(9).
- Loupakis, F., Cremolini, C., Fioravanti, A., Orlandi, P., Salvatore, L., Masi, G., Di Desidero, T., Canu, B., Schirripa, M., Frumento, P., Di Paolo, A., Danesi, R., Falcone, A., & Bocci, G. (2011). Pharmacodynamic and pharmacogenetic angiogenesis-related markers of first-line FOLFOXIRI plus bevacizumab schedule in metastatic colorectal cancer. *British Journal of Cancer*, 104(8), 1262-1269.
- Lykke-Andersen, K., Schaefer, L., Menon, S., Deng, X. W., Miller, J. B., & Wei, N. (2003). Disruption of the COP9 signalosome Csn2 subunit in mice causes deficient cell proliferation, accumulation of p53 and cyclin E, and early embryonic death. *Mol Cell Biol*, 23(19), 6790-6797.
- MacLean, L. D., Rhode, B. M., & Nohr, C. W. (2000). Late outcome of isolated gastric bypass. *Ann Surg*, 231(4), 524-528.
- Maglione, D., Guerriero, V., Viglietto, G., Dellibovi, P., & Persico, M. G. (1991). Isolation of a Human Placenta Cdna Coding for a Protein Related to the Vascular-Permeability Factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(20), 9267-9271.

- Magro, D. O., Geloneze, B., Delfini, R., Pareja, B. C., Callejas, F., & Pareja, J. C. (2008). Long-term weight regain after gastric bypass: a 5-year prospective study. *Obes Surg*, *18*(6), 648-651.
- Malhotra, A., & White, D. P. (2002). Obstructive sleep apnoea. *Lancet*, *360*(9328), 237-245.
- Marceau, P., Hould, F. S., Potvin, M., Lebel, S., & Biron, S. (1999). Biliopancreatic diversion (duodenal switch procedure). *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, *11*(2), 99-103.
- Maret-Ouda, J., Tao, W., Mattsson, F., Brusselaers, N., El-Serag, H. B., & Lagergren, J. (2017). Esophageal adenocarcinoma after obesity surgery in a population-based cohort study. *Surg Obes Relat Dis*, *13*(1), 28-34.
- Marshall, N. S., Delling, L., Grunstein, R. R., Peltonen, M., Sjostrom, C. D., Karason, K., Carlsson, L. M. S., Hedner, J., Stenlof, K., & Sjostrom, L. (2011). Self-reported sleep apnoea and mortality in patients from the Swedish Obese Subjects study. *European Respiratory Journal*, *38*(6), 1349-1354.
- McAllister, E. J., Dhurandhar, N. V., Keith, S. W., Aronne, L. J., Barger, J., Baskin, M., Benca, R. M., Biggio, J., Boggiano, M. M., Eisenmann, J. C., Elobeid, M., Fontaine, K. R., Gluckman, P., Hanlon, E. C., Katzmarzyk, P., Pietrobelli, A., Redden, D. T., Ruden, D. M., Wang, C. X., Waterland, R. A., Wright, S. M., & Allison, D. B. (2009). Ten Putative Contributors to the Obesity Epidemic. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *49*(10), 868-913.
- McCawley, G. M., Ferriss, J. S., Geffel, D., Northup, C. J., & Modesitt, S. C. (2009). Cancer in obese women: potential protective impact of bariatric surgery. *J Am Coll Surg*, *208*(6), 1093-1098.
- Mendelsohn, M. E., & Karas, R. H. (2005). Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science*, *308*(5728), 1583-1587.
- Menon, S., Chi, H., Zhang, H., Deng, X. W., Flavell, R. A., & Wei, N. (2007). COP9 signalosome subunit 8 is essential for peripheral T cell homeostasis and antigen receptor-induced entry into the cell cycle from quiescence. *Nat Immunol*, *8*(11), 1236-1245.
- Mesmin, C., Dubois, M., Becher, F., Fenaille, F., & Ezan, E. (2010). Liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the absolute quantification of the expected circulating apelin peptides in human plasma. *Rapid Commun Mass Spectrom*, *24*(19), 2875-2884.
- Miyazawa-Hoshimoto, S., Takahashi, K., Bujo, H., Hashimoto, N., & Saito, Y. (2003). Elevated serum vascular endothelial growth factor is associated with visceral fat accumulation in human obese subjects. *Diabetologia*, *46*(11), 1483-1488.
- Montesano, R., Mouron, P., & Orci, L. (1985). Vascular Outgrowths from Tissue Explants Embedded in Fibrin or Collagen Gels - a Simple Invitro Model of Angiogenesis. *Cell Biology International Reports*, *9*(10), 869-875.
- Mundt, K. E., Porte, J., Murray, J. M., Brikos, C., Christensen, P. U., Caspari, T., Hagan, I. M., Millar, J. B., Simanis, V., Hofmann, K., & Carr, A. M. (1999). The COP9/signalosome complex is conserved in fission yeast and has a role in S phase. *Curr Biol*, *9*(23), 1427-1430.
- Nagy, J. A., Benjamin, L., Zeng, H. Y., Dvorak, A. M., & Dvorak, H. F. (2008). Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. *Angiogenesis*, *11*(2), 109-119.
- Neels, J. G., & Loskutoff, D. J. (2003). Angiogenesis in an in vivo model of adipose tissue development. *Blood*, *102*(11), 148b-148b.
- NIH conference. (1996). Gastrointestinal surgery for severe obesity - NIH Consensus Development Conference - March 25-27, 1991. *Nutrition*, *12*(6), 397-402.
- Noah J Switzer, M. A. D. (2014). Roux en Y Gastric Bypass: How and Why it Fails? *Surgery: Current Research*, *04*(02).
- O'Carroll, A. M., Selby, T. L., Palkovits, M., & Lolait, S. J. (2000). Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta*, *1492*(1), 72-80.

- O'Keeffe, T., & Patterson, E. J. (2004). Evidence supporting routine polysomnography before bariatric surgery. *Obes Surg*, *14*(1), 23-26.
- O'Neill, S., & O'Driscoll, L. (2015). Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obesity Reviews*, *16*(1), 1-12.
- Okamoto, K., Oshika, Y., Fukushima, Y., Ohnishi, Y., Tokunaga, T., Tomii, Y., Kijima, H., Yamazaki, H., Ueyama, Y., Tamaoki, N., & Nakamura, M. (1999). Xenografts of human solid tumors frequently express cellular-associated isoform of vascular endothelial growth factor (VEGF) 189. *Oncology Reports*, *6*(6), 1201-1204.
- Olivera Santa-Catalina, M., Redondo, P. C., Cantonero, C., Granados, M. P., Sanchez-Collado, J., Albarran, L., & Lopez, J. J. (2017). New insights into adipokines as potential biomarkers for type-2 diabetes mellitus. *Curr Med Chem*.
- Ordemann, J., Elbelt, U., & Menenakos, C. (2014). Procedure selection and technique of metabolic surgery. *Chirurg*, *85*(11), 969-974.
- Osland, E., Yunus, R. M., Khan, S., Memon, B., & Memon, M. A. (2017). Weight Loss Outcomes in Laparoscopic Vertical Sleeve Gastrectomy (LVSG) Versus Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass (LRYGB) Procedures: A Meta-Analysis and Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, *27*(1), 8-18.
- Ouchi, N., Kihara, S., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., & Walsh, K. (2003). Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Current Opinion in Lipidology*, *14*(6), 561-566.
- Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J., & Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*, *11*(2), 85-97.
- Pae, H. O., Oh, G. S., Choi, B. M., Kim, Y. M., & Chung, H. T. (2005). A molecular cascade showing nitric oxide-heme oxygenase-1-vascular endothelial growth factor-interleukin-8 sequence in human endothelial cells. *Endocrinology*, *146*(5), 2229-2238.
- Paluszkiwicz, R., Kalinowski, P., Wroblewski, T., Bartoszewicz, Z., Bialobrzaska-Paluszkiwicz, J., Ziarkiewicz-Wroblewska, B., Remiszewski, P., Grodzicki, M., & Krawczyk, M. (2012). Prospective randomized clinical trial of laparoscopic sleeve gastrectomy versus open Roux-en-Y gastric bypass for the management of patients with morbid obesity. *Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne*, *7*(4), 225-232.
- Panattoni, M., Sanvito, F., Basso, V., Doglioni, C., Casorati, G., Montini, E., Bender, J. R., Mondino, A., & Pardi, R. (2008). Targeted inactivation of the COP9 signalosome impairs multiple stages of T cell development. *J Exp Med*, *205*(2), 465-477.
- Papadopoulos, D. P., Mourouzis, I., Faselis, C., Perrea, D., Makris, T., Tsioufis, C., & Papademetriou, V. (2013). Masked Hypertension and Atherogenesis: The Impact of Apelin and Relaxin Plasma Levels. *Journal of Clinical Hypertension*, *15*(5), 333-336.
- Parish, J. M. (2012). Metabolic syndrome, obstructive sleep apnea, and risk of cardiovascular disease. *Sleep and Breathing*, *16*(3), 595-597.
- Pereira, D. G., Afonso, A., & Medeiros, F. M. (2015). Overview of Friedman's Test and Post-hoc Analysis. *Communications in Statistics-Simulation and Computation*, *44*(10), 2636-2653.
- Peterli, R., Steinert, R. E., Woelnerhanssen, B., Peters, T., Christoffel-Courtin, C., Gass, M., Kern, B., von Fluee, M., & Beglinger, C. (2012). Metabolic and hormonal changes after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: a randomized, prospective trial. *Obes Surg*, *22*(5), 740-748.
- Peterli, R., Wolnerhanssen, B. K., Vetter, D., Nett, P., Gass, M., Borbely, Y., Peters, T., Schiesser, M., Schultes, B., Beglinger, C., Drewe, J., & Bueter, M. (2017). Laparoscopic Sleeve Gastrectomy Versus Roux-Y-Gastric Bypass for Morbid Obesity-3-Year Outcomes of the Prospective Randomized Swiss Multicenter Bypass Or Sleeve Study (SM-BOSS). *Annals of Surgery*, *265*(3), 466-473.
- Petroski, M. D., & Deshaies, R. J. (2005). Function and regulation of cullin-RING ubiquitin ligases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *6*(1), 9-20.
- Pfutzner, A., Marx, N., Walcher, D., Lobig, M., Seidel, D., & Forst, T. (2008). Impact of Rosiglitazone on Visfatin and Adiponectin Plasma Concentrations in Patients with Type 2 Diabetes and Coronary Artery Disease. *Clinical Laboratory*, *54*(7-8), 237-241.

- Piche, M. E., Auclair, A., Harvey, J., Marceau, S., & Poirier, P. (2015). How to choose and use bariatric surgery in 2015. *Can J Cardiol*, *31*(2), 153-166.
- Pollmann, C., Huang, X., Mall, J., Bech-Otschir, D., Naumann, M., & Dubiel, W. (2001). The constitutive photomorphogenesis 9 signalosome directs vascular endothelial growth factor production in tumor cells. *Cancer Res*, *61*(23), 8416-8421.
- Poole, N. A., Al Atar, A., Kuhanendran, D., Bidlake, L., Fiennes, A., McCluskey, S., Nussey, S., Bano, G., & Morgan, J. F. (2005). Compliance with surgical after-care following bariatric surgery for morbid obesity: a retrospective study. *Obes Surg*, *15*(2), 261-265.
- Popkin, B. M., & Hawkes, C. (2016). Sweetening of the global diet, particularly beverages: patterns, trends, and policy responses. *Lancet Diabetes Endocrinol*, *4*(2), 174-186.
- Porter, G. A., Inglis, K. M., Wood, L. A., & Veugelers, P. J. (2006). Effect of obesity on presentation of breast cancer. *Ann Surg Oncol*, *13*(3), 327-332.
- Rao, R. S., Yanagisawa, R., & Kini, S. (2012). Insulin resistance and bariatric surgery. *Obesity Reviews*, *13*(4), 316-328.
- Reaux, A., Gallatz, K., Palkovits, M., & Llorens-Cortes, C. (2002). Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience*, *113*(3), 653-662.
- Rehman, J., Considine, R. V., Bovenkerk, J. E., Li, J. L., Slavens, C. A., Jones, R., & March, K. L. (2003). Obesity is associated with increased levels of circulating hepatocyte growth factor. *Journal of the American College of Cardiology*, *41*(8), 1408-1413.
- Reinehr, T., Woelfle, J., & Roth, C. L. (2011). Lack of association between apelin, insulin resistance, cardiovascular risk factors, and obesity in children: a longitudinal analysis. *Metabolism-Clinical and Experimental*, *60*(9), 1349-1354.
- Renehan, A. G. (2009). Bariatric surgery, weight reduction, and cancer prevention. *Lancet Oncology*, *10*(7), 640-641.
- Renehan, A. G., Soerjomataram, I., Tyson, M., Egger, M., Zwahlen, M., Coebergh, J. W., & Buchan, I. (2010). Incident cancer burden attributable to excess body mass index in 30 European countries. *Int J Cancer*, *126*(3), 692-702.
- Richardson, K. S., & Zundel, W. (2005). The emerging role of the COP9 signalosome in cancer. *Mol Cancer Res*, *3*(12), 645-653.
- Riondino, S., Roselli, M., Palmirotta, R., Della-Morte, D., Ferroni, P., & Guadagni, F. (2014). Obesity and colorectal cancer: role of adipokines in tumor initiation and progression. *World J Gastroenterol*, *20*(18), 5177-5190.
- Roa, P. E., Kaidar-Person, O., Pinto, D., Cho, M., Szomstein, S., & Rosenthal, R. J. (2006). Laparoscopic sleeve gastrectomy as treatment for morbid obesity: technique and short-term outcome. *Obes Surg*, *16*(10), 1323-1326.
- Roberto, C. A., Swinburn, B., Hawkes, C., Huang, T. T. K., Costa, S. A., Ashe, M., Zwicker, L., Cawley, J. H., & Brownell, K. D. (2015). Patchy progress on obesity prevention: emerging examples, entrenched barriers, and new thinking. *The Lancet*, *385*(9985), 2400-2409.
- Rogalla, S., Geier, C. F., Braumann, C., Ordemann, J., Müller, J. M., & Dubiel, W. (2010). The COP9 signalosome has a role in adipogenesis. *Proceedings Of The 45th Congress Of The European Society For Surgical Research, ESSR: Geneva (Switzerland), Vol. 45*, pp. 17-23.
- Rosen, E. D., Hsu, C. H., Wang, X. Z., Sakai, S., Freeman, M. W., Gonzalez, F. J., & Spiegelman, B. M. (2002). C/EBP alpha induces adipogenesis through PPAR gamma: a unified pathway. *Genes & Development*, *16*(1), 22-26.
- Rosen, E. D., & MacDougald, O. A. (2006). Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *7*(12), 885-896.
- Roux, C. (1893). De la gastro-entérostomie. *Revue de Chirurgie*, *13*, 402-403.
- Rubino, F., Kaplan, L. M., Schauer, P. R., & Cummings, D. E. (2010). The Diabetes Surgery Summit Consensus Conference Recommendations for the Evaluation and Use of Gastrointestinal Surgery to Treat Type 2 Diabetes Mellitus. *Annals of Surgery*, *251*(3), 399-405.
- Rupnick, M. A., Panigrahy, D., Zhang, C. Y., Dallabrida, S. M., Lowell, B. B., Langer, R., & Folkman, M. J. (2002). Adipose tissue mass can be regulated through the vasculature.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(16), 10730-10735.
- Sandhofer, A., Tatarczyk, T., Kirchmair, R., Iglseeder, B., Paulweber, B., Patsch, J. R., & Schratzberger, P. (2009). Are plasma VEGF and its soluble receptor sFlt-1 atherogenic risk factors? Cross-sectional data from the SAPHIR study. *Atherosclerosis*, 206(1), 265-269.
- Sawane, M., Kajiya, K., Kidoya, H., Takagi, M., Muramatsu, F., & Takakura, N. (2013). Apelin inhibits diet-induced obesity by enhancing lymphatic and blood vessel integrity. *Diabetes*, 62(6), 1970-1980.
- Schauer, D. P., Feigelson, H. S., Koebnick, C., Caan, B., Weinmann, S., Leonard, A. C., Powers, J. D., Yenumula, P. R., & Arterburn, D. E. (2017). Association Between Weight Loss and the Risk of Cancer after Bariatric Surgery. *Obesity*, 25, S52-S57.
- Schauer, P. R., Ikramuddin, S., Gourash, W., Ramanathan, R., & Luketich, J. (2000). Outcomes after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity. *Ann Surg*, 232(4), 515-529.
- Schauer, P. R., Kashyap, S. R., Wolski, K., Brethauer, S. A., Kirwan, J. P., Pothier, C. E., Thomas, S., Abood, B., Nissen, S. E., & Bhatt, D. L. (2012). Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. *N Engl J Med*, 366(17), 1567-1576.
- Schwechheimer, C. (2004). The COP9 signalosome (CSN): an evolutionary conserved proteolysis regulator in eukaryotic development. *Biochim Biophys Acta*, 1695(1-3), 45-54.
- Scopinaro, N., Gianetta, E., Civalleri, D., Bonalumi, U., & Bachi, V. (1979). Bilio-Pancreatic Bypass for Obesity .2. Initial Experience in Man. *British Journal of Surgery*, 66(9), 618-620.
- Seeger, M., Kraft, R., Ferrell, K., Bech-Otschir, D., Dumdey, R., Schade, R., Gordon, C., Naumann, M., & Dubiel, W. (1998). A novel protein complex involved in signal transduction possessing similarities to 26S proteasome subunits. *Faseb Journal*, 12(6), 469-478.
- Senger, D. R., Galli, S. J., Dvorak, A. M., Perruzzi, C. A., Harvey, V. S., & Dvorak, H. F. (1983). Tumor-Cells Secrete a Vascular-Permeability Factor That Promotes Accumulation of Ascites-Fluid. *Science*, 219(4587), 983-985.
- Sheldon, M. R., Fillyaw, M. J., & Thompson, W. D. (1996). The use and interpretation of the Friedman test in the analysis of ordinal-scale data in repeated measures designs. *Physiother Res Int*, 1(4), 221-228.
- Shih, T., & Lindley, C. (2006). Bevacizumab: an angiogenesis inhibitor for the treatment of solid malignancies. *Clin Ther*, 28(11), 1779-1802.
- Shuster, A., Patlas, M., Pinthus, J. H., & Mourtzakis, M. (2012). The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. *Br J Radiol*, 85(1009), 1-10.
- Silha, J. V., Krsek, M., Sucharda, P., & Murphy, L. J. (2005). Angiogenic factors are elevated in overweight and obese individuals. *Int J Obes (Lond)*, 29(11), 1308-1314.
- Simkens, L. H. J., Koopman, M., Mol, L., Veldhuis, G. J., Huinink, D. T., Muller, E. W., Derleyn, V. A., Teerenstra, S., & Punt, C. J. A. (2011). Influence of body mass index on outcome in advanced colorectal cancer patients receiving chemotherapy with or without targeted therapy. *European Journal of Cancer*, 47(17), 2560-2567.
- Singh, G. M., Danaei, G., Farzadfar, F., Stevens, G. A., Woodward, M., Wormser, D., Kaptoge, S., Whitlock, G., Qiao, Q., Lewington, S., Di Angelantonio, E., vander Hoorn, S., Lawes, C. M. M., Ali, M. K., Mozaffarian, D., Ezzati, M., C, G. B. M. R. F., Collab, A. P. C. S., Collaborative, D. E., Collaboration, E. R. F., & Collaboration, P. S. (2013). The Age-Specific Quantitative Effects of Metabolic Risk Factors on Cardiovascular Diseases and Diabetes: A Pooled Analysis. *PLoS ONE*, 8(7).
- Sjostrom, L., Gummesson, A., Sjostrom, C. D., Narbro, K., Peltonen, M., Wedel, H., Bengtsson, C., Bouchard, C., Carlsson, B., Dahlgren, S., Jacobson, P., Karason, K., Karlsson, J., Larsson, B., Lindroos, A. K., Lonroth, H., Naslund, I., Olbers, T., Stenlof, K., Torgerson,

- J., Carlsson, L. M., & Swedish Obese Subjects, S. (2009). Effects of bariatric surgery on cancer incidence in obese patients in Sweden (Swedish Obese Subjects Study): a prospective, controlled intervention trial. *Lancet Oncol*, *10*(7), 653-662.
- Sjostrom, L., Lindroos, A. K., Peltonen, M., Torgerson, J., Bouchard, C., Carlsson, B., Dahlgren, S., Larsson, B., Narbro, K., Sjostrom, C. D., Sullivan, M., Wedel, H., & Swedish Obese Subjects Study Scientific, G. (2004). Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med*, *351*(26), 2683-2693.
- Soriguer, F., Garrido-Sanchez, L., Garcia-Serrano, S., Garcia-Almeida, J. M., Garcia-Arnes, J., Tinahones, F. J., & Garcia-Fuentes, E. (2009). Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Obes Surg*, *19*(11), 1574-1580.
- Soukas, A., Socci, N. D., Saatkamp, B. D., Novelli, S., & Friedman, J. M. (2001). Distinct transcriptional profiles of adipogenesis in vivo and in vitro. *J Biol Chem*, *276*(36), 34167-34174.
- Spaniolas, K., Kasten, K. R., Celio, A., Burruss, M. B., & Pories, W. J. (2016). Postoperative Follow-up After Bariatric Surgery: Effect on Weight Loss. *Obes Surg*, *26*(4), 900-903.
- Srimal, R. C., & Dhawan, B. N. (1973). Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent. *J Pharm Pharmacol*, *25*(6), 447-452.
- Straczkowski, M., Dzienis-Straczkowska, S., Stepień, A., Kowalska, I., Szelachowska, M., & Kinalska, I. (2002). Plasma interleukin-8 concentrations are increased in obese subjects and related to fat mass and tumor necrosis factor-alpha system. *J Clin Endocrinol Metab*, *87*(10), 4602-4606.
- Stratmann, J. W., & Gusmaroli, G. (2012). Many jobs for one good cop - the COP9 signalosome guards development and defense. *Plant Sci*, *185-186*, 50-64.
- Stroh, C., Weiner, R., Wolff, S., Knoll, C., Manger, T., Obesity Surgery Working, G., & Competence Network, O. (2014). Are There Gender-Specific Aspects in Obesity and Metabolic Surgery? Data Analysis from the German Bariatric Surgery Registry. *Viszeralmedizin*, *30*(2), 125-132.
- Sunter, D., Hewson, A. K., & Dickson, S. L. (2003). Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neuroscience Letters*, *353*(1), 1-4.
- Sweeting, A. N., Hocking, S. L., & Markovic, T. P. (2015). Pharmacotherapy for the treatment of obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *418*, 173-183.
- Swinburn, B. A., Sacks, G., Hall, K. D., McPherson, K., Finegood, D. T., Moodie, M. L., & Gortmaker, S. L. (2011). Obesity 1 The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*, *378*(9793), 804-814.
- Szokodi, I., Tavi, P., Foldes, G., Voutilainen-Myllyla, S., Ilves, M., Tokola, H., Pikkarainen, S., Piuhola, J., Rysa, J., Toth, M., & Ruskoaho, H. (2002). Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res*, *91*(5), 434-440.
- Taheri, S., Murphy, K., Cohen, M., Sujkovic, E., Kennedy, A., Dhillo, W., Dakin, C., Sajedi, A., Ghatei, M., & Bloom, S. (2002). The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *291*(5), 1208-1212.
- Tam, J., Duda, D. G., Perentes, J. Y., Quadri, R. S., Fukumura, D., & Jain, R. K. (2009). Blockade of VEGFR2 and Not VEGFR1 Can Limit Diet-Induced Fat Tissue Expansion: Role of Local versus Bone Marrow-Derived Endothelial Cells. *PLoS ONE*, *4*(3).
- Tang, Q. Q., & Lane, M. D. (2012). Adipogenesis: From Stem Cell to Adipocyte. *Annual Review of Biochemistry*, *Vol 81*, *81*, 715-736.
- Tasci, I., Dogru, T., Naharci, I., Erdem, G., Yilmaz, M. I., Sonmez, A., Bingol, N., Kilic, S., Bingol, S., & Erikci, S. (2007). Plasma apelin is lower in patients with elevated LDL-cholesterol. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, *115*(7), 428-432.
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Hinuma, S., Kitada, C., Kurokawa, T., Onda, H., & Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *251*(2), 471-476.

- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K., & Fujimiya, M. (2001). The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regulatory Peptides*, *99*(2-3), 87-92.
- Than, A., Cheng, Y., Foh, L. C., Leow, M. K., Lim, S. C., Chuah, Y. J., Kang, Y., & Chen, P. (2012). Apelin inhibits adipogenesis and lipolysis through distinct molecular pathways. *Mol Cell Endocrinol*, *362*(1-2), 227-241.
- Than, A., He, H. L., Chua, S. H., Xu, D., Sun, L., Leow, M. K., & Chen, P. (2015). Apelin Enhances Brown Adipogenesis and Browning of White Adipocytes. *J Biol Chem*, *290*(23), 14679-14691.
- Tomoda, K., Kato, J. Y., Tatsumi, E., Takahashi, T., Matsuo, Y., & Yoneda-Kato, N. (2005). The Jab1/COP9 signalosome subcomplex is a downstream mediator of Bcr-Abl kinase activity and facilitates cell-cycle progression. *Blood*, *105*(2), 775-783.
- Tomoda, K., Yoneda-Kato, N., Fukumoto, A., Yamanaka, S., & Kato, J. Y. (2004). Multiple functions of Jab1 are required for early embryonic development and growth potential in mice. *J Biol Chem*, *279*(41), 43013-43018.
- Toussi, R., Fujioka, K., & Coleman, K. J. (2009). Pre- and postsurgery behavioral compliance, patient health, and postbariatric surgical weight loss. *Obesity (Silver Spring)*, *17*(5), 996-1002.
- Ungefroren, H., Gieseler, F., & Lehnert, H. (2015). [Obesity and cancer]. *Internist (Berl)*, *56*(2), 127-128, 130-126.
- Vainio, H., Kaaks, R., & Bianchini, F. (2002). Weight control and physical activity in cancer prevention: international evaluation of the evidence. *European Journal of Cancer Prevention*, *11*, S94-S100.
- van Beek, E. A., Bakker, A. H., Kruyt, P. M., Vink, C., Saris, W. H., Franssen-van Hal, N. L. W., & Keijer, J. (2008). Comparative expression analysis of isolated human adipocytes and the human adipose cell lines LiSa-2 and PAZ6. *International Journal of Obesity*, *32*(6), 912-921.
- Varzaneh, F. E., Shillabeer, G., Wong, K. L., & Lau, D. C. W. (1994). Extracellular-Matrix Components Secreted by Microvascular Endothelial-Cells Stimulate Preadipocyte Differentiation in-Vitro. *Metabolism-Clinical and Experimental*, *43*(7), 906-912.
- Vest, A. R., Heneghan, H. M., Agarwal, S., Schauer, P. R., & Young, J. B. (2012). Bariatric surgery and cardiovascular outcomes: a systematic review. *Heart*, *98*(24), 1763-1777.
- von Loeffelholz, C. (2000). Role of non-exercise activity in the patho-genesis of human obesity. *European Journal of Pediatrics*, *159*(8), 625-625.
- Voros, G., Maquoi, E., Demeulemeester, D., Clerx, N., Collen, D., & Lijnen, H. R. (2005). Modulation of angiogenesis during adipose tissue development in murine models of obesity. *Endocrinology*, *146*(10), 4545-4554.
- Wabitsch, M., Bruderlein, S., Melzner, I., Braun, M., Mechttersheimer, G., & Moller, P. (2000). LiSa-2, a novel human liposarcoma cell line with a high capacity for terminal adipose differentiation. *International Journal of Cancer*, *88*(6), 889-894.
- Wei, L., Hou, X. H., & Tatemoto, K. (2005). Regulation of apelin mRNA expression by insulin and glucocorticoids in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Regulatory Peptides*, *132*(1-3), 27-32.
- Wei, N., & Deng, X. W. (1992). COP9: a new genetic locus involved in light-regulated development and gene expression in arabidopsis. *Plant Cell*, *4*(12), 1507-1518.
- Wei, N., & Deng, X. W. (2003). The COP9 signalosome. *Annu Rev Cell Dev Biol*, *19*, 261-286.
- Wei, N., Serino, G., & Deng, X. W. (2008). The COP9 signalosome: more than a protease. *Trends Biochem Sci*, *33*(12), 592-600.
- Wei, N., Tsuge, T., Serino, G., Dohmae, N., Takio, K., Matsui, M., & Deng, X. W. (1998). The COP9 complex is conserved between plants and mammals and is related to the 26S proteasome regulatory complex. *Curr Biol*, *8*(16), 919-922.
- Weidlich, M., Huang, X., Pratschke, J., Dubiel, W., & Ordemann, J. (2017). Bariatric Surgery Significantly Reduces Serum Concentration of Vascular Endothelial Growth Factor A and Increases Apelin-12 in Patients with Morbid Obesity. *Bariatric Surgical Practice and Patient Care*, *12*(1), 16-20.

- White, U. A., & Stephens, J. M. (2010). Transcriptional factors that promote formation of white adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol*, 318(1-2), 10-14.
- Wildman, R. P., Muntner, P., Reynolds, K., McGinn, A. P., Rajpathak, S., Wylie-Rosett, J., & Sowers, M. R. (2008). The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering - Prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004). *Archives of Internal Medicine*, 168(15), 1617-1624.
- Wing, R. R., Marcus, M. D., Epstein, L. H., & Salata, R. (1987). Type-II Diabetic Subjects Lose Less Weight Than Their Overweight Nondiabetic Spouses. *Diabetes Care*, 10(5), 563-566.
- Wolin, K. Y., Carson, K., & Colditz, G. A. (2010). Obesity and Cancer. *Oncologist*, 15(6), 556-565.
- Wormser, D., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Wood, A. M., Pennells, L., Thompson, A., Sarwar, N., Kizer, J. R., Lawlor, D. A., Nordestgaard, B. G., Ridker, P., Salomaa, V., Stevens, J., Woodward, M., Sattar, N., Collins, R., Thompson, S. G., Whitlock, G., Danesh, J., & Factors, E. R. (2011). Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet*, 377(9771), 1085-1095.
- Yan, J., Walz, K., Nakamura, H., Carattini-Rivera, S., Zhao, Q., Vogel, H., Wei, N., Justice, M. J., Bradley, A., & Lupski, J. R. (2003). COP9 signalosome subunit 3 is essential for maintenance of cell proliferation in the mouse embryonic epiblast. *Mol Cell Biol*, 23(19), 6798-6808.
- Yang, X. M., Zhu, W., Zhang, P., Chen, K. K., Zhao, L. J., Li, J. B., Wei, M., & Liu, M. Y. (2014). Apelin-13 stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in myocardial microvascular endothelial cells. *Molecular Medicine Reports*, 9(5), 1590-1596.
- Yanovski, S. Z., & Yanovski, J. A. (2014). Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. *JAMA*, 311(1), 74-86.
- Yoneda-Kato, N., Tomoda, K., Umehara, M., Arata, Y., & Kato, J. Y. (2005). Myeloid leukemia factor 1 regulates p53 by suppressing COP1 via COP9 signalosome subunit 3. *Embo Journal*, 24(9), 1739-1749.
- Yue, P., Jin, H., Aillaud, M., Deng, A. C., Azuma, J., Asagami, T., Kundu, R. K., Reaven, G. M., Quertermous, T., & Tsao, P. S. (2010). Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298(1), E59-67.
- Yue, P., Jin, H., Xu, S., Aillaud, M., Deng, A. C., Azuma, J., Kundu, R. K., Reaven, G. M., Quertermous, T., & Tsao, P. S. (2011). Apelin decreases lipolysis via G(q), G(i), and AMPK-Dependent Mechanisms. *Endocrinology*, 152(1), 59-68.
- Zhang, N., Maffei, A., Cerabona, T., Pahuja, A., Omana, J., & Kaul, A. (2013). Reduction in obesity-related comorbidities: is gastric bypass better than sleeve gastrectomy? *Surg Endosc*, 27(4), 1273-1280.
- Zhang, Q. X., Magovern, C. J., Mack, C. A., Budenbender, K. T., Ko, W., & Rosengart, T. K. (1997). Vascular endothelial growth factor is the major angiogenic factor in omentum: mechanism of the omentum-mediated angiogenesis. *J Surg Res*, 67(2), 147-154.
- Zhang, R., Hu, C., Wang, C. R., Ma, X. J., Bao, Y. Q., Xu, J., Lu, J. Y., Qin, W., Xiang, K. S., & Jia, W. P. (2009). Association of apelin genetic variants with type 2 diabetes and related clinical features in Chinese Hans. *Chin Med J (Engl)*, 122(11), 1273-1276.
- Zhang, X. C., Chen, J., Su, C. H., Yang, H. Y., & Lee, M. H. (2008). Roles for CSN5 in control of p53/MDM2 activities. *J Cell Biochem*, 103(4), 1219-1230.
- Zhu, P. L., Huang, F., Lin, F., Yuan, Y., Chen, F. L., & Li, Q. W. (2013). Plasma apelin levels, blood pressure and cardiovascular risk factors in a coastal Chinese population. *Annals of Medicine*, 45(7), 494-498.

7 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| Abkürzung | ausgeschriebenes Wort |
|------------------|--|
| APJ | Apelin receptor |
| APS | Ammoniumperoxodisulfat |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| BMI | body mass index |
| C/EBP | CCAAT-enhancer-binding protein |
| CAND1 | Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1 |
| CHOP | C/EBP homologous protein |
| COP9 | Constitutive photomorphogenesis 9 |
| CRL | COP9 signalosome-cullin-RING ubiquitin-ligase |
| CSN | COP9 signalosome |
| Cul | Cullin |
| DMEM | Dulbecco's Modified Eagle Medium |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| ECL | enhanced chemiluminescence |
| ELISA | Enzyme-linked Immunosorbent Assay |
| FCS | Fetal bovine serum |
| HeLa | Henrietta Lacks |
| HEPES | 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure |
| HL-60 | human promyelocytic leukemia-60 |
| HRP | horseradish peroxidase |
| LDL | low density lipoprotein |
| LGB | laparoscopic gastric bypass |
| LiSa | liposarcoma |
| LSG | laparoscopic sleeve gastrectomy |
| MEM | Minimum Essential Medium |
| mRNA | messenger ribonucleic acid |
| Nedd | neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated |
| NIH | National Institutes of Health |
| OP | Operation |
| PAA | Polyacrylamid |
| PBS | Phosphate buffered saline |
| PBS-T | Phosphate buffered saline with TWEEN-20 |
| PMSF | Phenylmethylsulfonyl fluoride |
| PPAR γ | Peroxisome proliferator-activated receptor gamma |
| Pyr ₁ | 5,11-Dimethyl-1-oxo-2,6-dihydro-1H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-yl benzoate |
| RIA | radioimmunoassay |
| RPMI | Roswell Park Memorial Institute |
| SD | Standard Deviation |
| SDS | sodium dodecyl sulfate |
| SDS-PAGE | sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis |
| TEMED | Tetramethylethylendiamin |
| UPS | Ubiquitin-Proteasom-System |
| VEGF | vascular endothelial growth factor |
| VPF | vascular permeability factor |

8 TABELLENVERZEICHNIS

| Tabelle | Beschreibung | Seite |
|----------------|---|--------------|
| Tabelle 1: | Zellkulturmedien und Zusätze..... | Seite 26 |
| Tabelle 2: | ELISA-Kits..... | Seite 26 |
| Tabelle 3: | Antikörper..... | Seite 26 |
| Tabelle 4: | Peptide..... | Seite 27 |
| Tabelle 5: | Puffer und Lösungen..... | Seite 27 |
| Tabelle 6: | Chemikalien..... | Seite 27 |
| Tabelle 7: | Geräte..... | Seite 28 |
| Tabelle 8: | Software..... | Seite 29 |
| Tabelle 9: | Charakteristika der Studienpopulation..... | Seite 30 |
| Tabelle 10: | Komorbiditäten zum Zeitpunkt 0..... | Seite 30 |
| Tabelle 11: | Geschlechterverteilung zum Zeitpunkt 0..... | Seite 31 |
| Tabelle 12: | Verteilung der Operationstechniken zum Zeitpunkt 0..... | Seite 31 |
| Tabelle 13: | Zusammensetzung des Trenn- und Sammelgels für SDS-PAGE..... | Seite 34 |
| Tabelle 14: | Zellkonzentrationen mit Inkubationszeiträumen der LiSa-2-Zellkulturen..... | Seite 37 |
| Tabelle 15: | Lipidtröpfchenanzahl nach Oil Red O Färbung (LiSa-2-Zellen mit VEGF-A-Inhibitor)..... | Seite 58 |
| Tabelle 16: | Lipidtröpfchenanzahl nach Oil Red O Färbung (LiSa-2-Zellen mit full-length-VEGF)..... | Seite 61 |
| Tabelle 17: | Lipidtröpfchenanzahl nach Oil Red O Färbung (LiSa-2-Zellen mit Apelin-12)..... | Seite 64 |

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| Abbildung | Beschreibung | Seite |
|------------------|--|--------------|
| Abbildung 1: | Zustand nach Magenband-Operation..... | Seite 11 |
| Abbildung 2: | Zustand nach Schlauchmagen-Operation..... | Seite 12 |
| Abbildung 3: | Zustand nach Roux-en-Y Magenbypass-Operation..... | Seite 13 |
| Abbildung 4: | Zustand nach biliopankreatischer Diversion..... | Seite 14 |
| Abbildung 5: | schematische Darstellung der Adipozytendifferenzierung..... | Seite 15 |
| Abbildung 6: | schematische Darstellung der Interaktion des CSN mit CRLs..... | Seite 20 |
| Abbildung 7: | Body-Mass-Index prä- und postoperativ..... | Seite 39 |
| Abbildung 8: | VEGF-A-Serumkonzentration prä- und postoperativ..... | Seite 40 |
| Abbildung 9: | Regressionsanalyse der BMI- und VEGF-A-Differenzen..... | Seite 43 |
| Abbildung 10: | Apelin-12-Serumkonzentration prä- und postoperativ..... | Seite 44 |
| Abbildung 11: | Regressionanalyse des BMI und Apelin-12-Differenzen..... | Seite 46 |
| Abbildung 12: | BMI-Vergleich der Patienten mit und ohne arterielle Hypertonie..... | Seite 47 |
| Abbildung 13: | VEGF-A-Vergleich der Patienten mit und ohne arterielle Hypertonie..... | Seite 48 |
| Abbildung 14: | Apelin-12-Vergleich der Patienten mit und ohne arterielle Hypertonie..... | Seite 48 |
| Abbildung 15: | BMI-Vergleich der Patienten mit und ohne Diabetes mellitus Typ 2..... | Seite 49 |
| Abbildung 16: | VEGF-A-Vergleich der Patienten mit und ohne Diabetes mellitus Typ 2..... | Seite 50 |
| Abbildung 17: | Apelin-12-Vergleich der Patienten mit und ohne Diabetes mellitus Typ 2..... | Seite 50 |
| Abbildung 18: | BMI-Vergleich der Patienten mit und ohne Schlafapnoe..... | Seite 51 |
| Abbildung 19: | VEGF-A-Vergleich der Patienten mit und ohne Schlafapnoe..... | Seite 52 |
| Abbildung 20: | Apelin-12-Vergleich der Patienten mit und ohne Schlafapnoe..... | Seite 52 |
| Abbildung 21: | BMI-Vergleich der Patienten nach Geschlecht..... | Seite 53 |
| Abbildung 22: | VEGF-A-Vergleich der Patienten nach Geschlecht..... | Seite 54 |
| Abbildung 23: | Apelin-12-Vergleich der Patienten nach Geschlecht..... | Seite 54 |
| Abbildung 24: | BMI-Vergleich der Patienten nach Operationstechnik..... | Seite 55 |
| Abbildung 25: | VEGF-A-Vergleich der Patienten nach Operationstechnik..... | Seite 56 |
| Abbildung 26: | Apelin-12-Vergleich der Patienten nach Operationstechnik..... | Seite 57 |
| Abbildung 27: | Oil Red O Färbung der mit VEGF-Inhibitor inkubierten LiSa-2-Zellen..... | Seite 58 |
| Abbildung 28: | Western Blot der mit VEGF-A-Inhibitor inkubierten LiSa-2-Zellen..... | Seite 59 |
| Abbildung 29: | Densitometrische Analyse des Western Blots (LiSa-2-Zellen mit VEGF-A-Inhibitor)..... | Seite 60 |
| Abbildung 30: | Oil Red O Färbung der mit full-length-VEGF-A inkubierten LiSa-2-Zellen..... | Seite 61 |
| Abbildung 31: | Western Blot der mit full-length-VEGF-A-Inhibitor inkubierten LiSa-2-Zellen..... | Seite 62 |
| Abbildung 32: | Densitometrische Analyse des Western Blots (LiSa-2-Zellen mit full-length-VEGF-A)..... | Seite 63 |
| Abbildung 33: | Oil Red O Färbung der mit Apelin-12 inkubierten LiSa-2-Zellen..... | Seite 64 |
| Abbildung 34: | Western Blot der mit Apelin-12 inkubierten LiSa-2-Zellen..... | Seite 65 |
| Abbildung 35: | Densitometrische Analyse des Western Blots (LiSa-2-Zellen mit Apelin-12)..... | Seite 66 |

10 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

„Ich, Matthias Weidlich, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss der bariatrischen Chirurgie auf die prä- und postoperativen Konzentrationen von VEGF und Apelin-12 im Serum von Adipositas-Patienten“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Matthias Weidlich hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Bariatric Surgery Significantly Reduces Serum Concentration of Vascular Endothelial Growth Factor A and Increases Apelin-12 in Patients with Morbid Obesity.

(Matthias Weidlich, Xiaohua Huang, Johann Pratschke, Wolfgang Dubiel, Jürgen Ordemann)
Bariatric Surgical Practice and Patient Care Vol. 12, No. 1 (01. März 2017)

Beitrag im Einzelnen:

Durchführung der Experimente, statistische Auswertung und Visualisierung (Fig.1, Fig.2, Fig.3, Fig.4 sowie Table 1) der akquirierten Daten sowie Verfassen des finalen Entwurfs des Papers.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

11 LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

12 PUBLIKATIONSLISTE

Paper

Bariatric Surgery Significantly Reduces Serum Concentration of Vascular Endothelial Growth Factor A and Increases Apelin-12 in Patients with Morbid Obesity.

(Matthias Weidlich, Xiaohua Huang, Johann Pratschke, Wolfgang Dubiel, Jürgen Ordemann)

Bariatric Surgical Practice and Patient Care Vol. 12, No. 1 (01. März 2017)

<http://doi.org/10.1089/bari.2016.0037>

Poster

Influence of bariatric surgery on pre- and postoperative serum concentrations of VEGF and Apelin-12 in obese patients.

(Matthias Weidlich, Xiaohua Huang, Johann Pratschke, Wolfgang Dubiel, Jürgen Ordemann)

26th European Students Conference, Berlin (23. - 26 September 2015)

Präsentation

Influence of bariatric surgery on pre- and postoperative serum concentrations of VEGF and Apelin-12 in obese patients.

(Matthias Weidlich, Xiaohua Huang, Johann Pratschke, Wolfgang Dubiel, Jürgen Ordemann)

132. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, München (28. April - 1. Mai 2015)

13 DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich allen Personen danken, die zum Gelingen meiner Doktorarbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Wolfgang Dubiel und Herrn Professor Jürgen Ordemann für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit und die ausgezeichnete Betreuung.

Darüber hinaus möchte ich Herrn Dr. Xiaohua Huang für die Hilfe bei der Einarbeitung in die verwendeten Methoden danken.

Außerdem danke ich den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Dubiel - Frau Dr. Dawadschargal Dubiel, Frau Dr. Linda Gummlich und Kirsten Führer - für ihre Unterstützung und Bereitschaft zur kontinuierlichen Diskussion der Ergebnisse und die vielfältigen Hilfestellungen während meiner Arbeit im Labor.

Ich danke Frau Dr. Olga Hegend für die Möglichkeit, das Gerät 'Spectra Max® M2' und die Software 'Software SoftMax® Pro' in ihrem Labor nutzen zu dürfen.

Über das Institut hinaus danke ich meiner Familie, meiner Verlobten Seyedeh Mahsa Zamani und meinen Freunden für ihren Rückhalt und ihre Unterstützung.