

Aus dem
CharitéCentrum für Magen-, Darm-, Nieren- und Stoffwechselmedizin
Medizinische Klinik für Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. A. F. H. Pfeiffer

Habilitationsschrift

Molekulare Zusammenhänge zwischen Übergewicht und Insulinresistenz

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Innere Medizin/ Endokrinologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité- Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Matthias Möhlig
geboren am 04. Mai 1967 in Landau/ Pfalz

Eingereicht: Mai/ 2007

Dekan: Prof. Dr. med. M. Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. med. J. Brüning, Köln

2. Gutachter: Prof. Dr. med. H.-H. Klein, Bochum

Inhaltsverzeichnis:

1. Einführung

- 1.1. Übergewicht und Metabolisches Syndrom 1- 2
- 1.2. Adipozytokine - Bindeglied zwischen Übergewicht
und assoziiertem Risiko 3- 5

2. Übergewicht, Insulinresistenz und Inflammation

- 2.1. Lipid-induzierte Insulinresistenz und Inflammation 6- 8
- 2.2. IL-6, Inflammation und Insulinresistenz, Diabetes 9- 14
- 2.3. IL-6 C-174G Polymorphismus, Übergewicht
und Diabetes Risiko 15- 21
- 2.4. Nutritive- und hormonelle Regulation des
„Hungerhormons“ Ghrelin 22- 30

3. Hyperandrogenismus und Insulinresistenz

- 3.1. Insulinresistenz, Ursache des Hyperandrogenismus
oder vice versa? 30- 34
- 3.2. Inflammation bei Frauen mit PCO-Syndrom 35- 36
- 3.3. Screening auf Glukosestoffwechselstörungen
bei Frauen mit PCO-Syndrom 37- 43

4. Danksagung	44
5. Literatur	45- 60
6. Relevante Literatur des Habilitanden	61- 62
7. Erklärung	63

1. Einführung

1.1. Übergewicht und Metabolisches Syndrom

Weltweit nimmt derzeit das Übergewicht zu (1). In Deutschland sind aktuell ungefähr 13% der Bevölkerung mit einem Body Mass Index (BMI, errechnet als $\text{kg Körpergewicht} / \text{m Körpergröße}^2$) von $> 30 \text{ kg/m}^2$ als adipös zu bezeichnen (Mikrozensus Befragung 2003, <http://www.destatis.de> (Pfad: Presse/ Presseveranstaltungen)).

Ursächlich ist in erster Linie ein Missverhältnis aus Nahrungsaufnahme und körperlicher Aktivität anzusehen. Nur in sehr seltenen Fällen konnte bisher eine genetisch bedingte Störung des Appetits als Ursache dieses Missverhältnisses gezeigt werden (2-4). Bei den häufigen Formen des Übergewichts bleibt die Ursache dieses Missverhältnisses unklar und wird im Lebensstil der Menschen gesehen.

Häufig findet sich bei übergewichtigen Personen gleichzeitig ein Metabolisches Syndrom. Darunter versteht man das gemeinsame Vorliegen von Übergewicht, Fettstoffwechselstörung, arteriellem Hypertonus und gestörtem Glukosestoffwechsel (5). Daß diese metabolischen Störungen häufig gemeinsam vorkommen, ist jedoch bereits lange, mindestens seit 1923 bekannt (6-8). Im Rahmen der Banting Vorlesung 1988 führte Reavan dieses Krankheitscluster als Syndrom X wieder als Risikofaktor für eine koronare Herzerkrankung ein (9). Menschen, die beispielsweise die ATPIII Kriterien des Metabolischen Syndroms erfüllen (10) tragen ein ungefähr 2,7 –fach erhöhtes Risiko für eine koronare Herzerkrankung (KHK) (11). Die Zahlenangaben zur Prävalenz des Metabolischen Syndroms schwanken in der Literatur, vor allem

aufgrund der unterschiedlichen Definitionen, auf die hier nicht eingegangen werden soll. Man kann jedoch von einer Häufigkeit von etwa 22% ausgehen, wenn die ATP III- Kriterien zugrunde gelegt werden. Die Prävalenz steigt mit dem Alter, so dass in der Gruppe der 60 – 69 jährigen ca. 44 % der Menschen betroffen sind (10). Als gemeinsames pathogenetisches Prinzip des Metabolischen Syndroms wird die Insulinresistenz angesehen. Mit zunehmendem Körpergewicht sinkt die Empfindlichkeit für Insulin (12) und diese Insulinresistenz ist alleine bereits ein Risikofaktor für KHK (13). In gutem Einklang mit dieser pathogenetischen Vorstellung von Insulinresistenz als eigenständigem Risikofaktor fand sich in der Nurses Health Study bereits Jahre vor Auftreten eines Diabetes mellitus ein erhöhtes KHK Risiko (14).

Auch wenn Übergewicht häufig assoziiert ist mit Metabolischem Syndrom und KHK-Risiko, so entwickeln nicht alle übergewichtige Menschen im Laufe Ihres Lebens ein Metabolisches Syndrom, eine Insulinresistenz oder eine KHK. Eine europäische Querschnittsuntersuchung fand beispielsweise in einer Gruppe nichtdiabetischer, normotensiver Übergewichtiger in 74% eine normale Insulinsensitivität (15).

Offen ist die Frage, welche Faktoren dafür verantwortlich sind, dass aus Übergewicht ein Übergewicht mit Insulinresistenz und damit angenommen ein Übergewicht mit höherem Risiko entsteht?

1.2. Adipozytokine - Bindeglied zwischen Übergewicht und assoziiertem Risiko

In letzter Zeit wurde zunehmend deutlich, dass das Fettgewebe nicht einfach nur ein passives Speicherorgan für Fett und damit Energie ist, sondern dass Fettgewebe zahlreiche Signalsubstanzen sezerniert (16) und damit aktiv an der Stoffwechselregulation teilnehmen kann. Die sezernierten Signalsubstanzen stammen dabei zum Teil aus der Fettzelle selbst, zu einem großen Teil jedoch auch aus anderen Zellen innerhalb des Fettgewebes, wie den Makrophagen/Monozyten (17).

Die unterschiedlichen Fettgewebsdepots (z.B. subkutan vs. intra-abdominell) zeigen Unterschiede im Muster der Genexpression (18), und diese Unterschiede der Genexpression könnten dafür verantwortlich sein, dass beispielsweise dem intraabdominellen Fettgewebe eine größere metabolische Bedeutung zukommt als dem subkutanen Fettgewebe.

Die Liste der sezernierten Signalsubstanzen, die derzeit ständig länger wird, beinhaltet beispielsweise IL-6, TNF- α , Adiponektin, Leptin und Resistin.

TNF- α scheint beim Menschen im Gegensatz zu IL-6 nicht in nennenswerter Menge in die Peripherie sezerniert zu werden (19). Außerdem ließ sich durch Antikörper gegen TNF- α die Insulinsensitivität beim Menschen nicht beeinflussen (20). Der systemische Effekt von TNF- α auf die Insulinsensitivität, der im Tierexperiment eindrücklich zu dokumentieren war (21), scheint daher beim Menschen eher klein zu sein.

Leptinmangel ist auch beim Menschen in guter Übereinstimmung mit den Tierexperimenten mit starkem Übergewicht und Insulinresistenz assoziiert (3).

Eine Leptinsubstitution konnte bei Patienten mit Leptinmangel tatsächlich auch die Stoffwechselsituation verbessern (22,23). Abgesehen von der Situation bei absolutem Leptinmangel wird der Einfluß von Leptin auf die Insulinsensitivität des Menschen jedoch noch kompliziert durch die Leptinresistenz, die zusammen mit dem Übergewicht auftritt (24). Der Zusammenhang zwischen Leptin und Insulinresistenz ist beim Menschen daher noch nicht abschließend zu beurteilen.

Resistin wurde primär bei Nagern beschrieben. Die Gabe von Resistin verminderte die Insulinsensitivität der Maus (25). Beim Menschen liegen derzeit noch keine ausreichenden Daten vor, um eine Beurteilung bezüglich der Funktion von Resistin vornehmen zu können. Auch wurde die Expression von Resistin in humanem Fettgewebe bisher uneinheitlich dargestellt. Die Arbeiten, die eine Expression hatten zeigen können, fanden keine Korrelation zur Insulinsensitivität (26,27). Auch die Serumwerte fanden sich bei Pima-Indianern, einer für Insulinsensitivität sehr gut charakterisierten Kohorte, nicht mit Insulinresistenz korreliert (28). Resistin scheint daher beim Menschen kein größerer Effekt auf die Insulinsensitivität zuzukommen.

Zwei vielversprechende Adipozytokine sind Adiponektin und IL-6. Adiponektin wurde zunächst in differenzierten Adipozyten beschrieben (29,30) und später auch beim Menschen nachgewiesen (31). Die Plasmaspiegel sind vermindert bei Insulinresistenz, KHK und Übergewicht. Hier nimmt parallel auch die Expression im Fettgewebe ab (32-34). In Tierexperimenten verbesserte Adiponektin die Insulinsensitivität (35-37), ein Effekt, der teilweise über eine Aktivierung der AMP-Kinase erklärt wird (38,39). Beim Menschen fanden sich die

Adiponektinspiegel prädiktiv für die Entstehung eines Typ 2 Diabetes und einer KHK (40-42), wobei in guter Übereinstimmung mit den tierexperimentellen Daten höhere Adiponektinspiegel protektiv waren. Die Regulation der Adiponektinspiegel im Blut ist noch nicht gut verstanden. Einer der Regulatoren ist Insulin. So konnten wir im Rahmen einer Intervention am Menschen zeigen, dass bei euglykämischer Hyperinsulinämie die Adiponektinspiegel abfallen (Möhlig et al. (43)). Dies passt gut zu in-vitro Daten, die eine Hemmung der Adiponektinexpression durch Insulin zeigen konnten (44). Ein Anstieg von Adiponektin kann beispielsweise erreicht werden durch eine Gewichtsreduktion (45,46). Damit könnte der protektive Effekt einer Gewichtsreduktion auf das Diabetes Risiko teilweise durch Adiponektin vermittelt sein.

IL-6 wird nicht nur aus Fettgewebe (17) sondern auch aus der Muskulatur (47), v.a. bei körperlicher Aktivität (48), freigesetzt. Sowohl die IL-6 Serumwerte als auch die IL-6 Expression im Fettgewebe korrelieren mit dem BMI (34), und durch Gewichtsabnahme konnte tatsächlich auch eine Abnahme der IL-6 Spiegel gezeigt werden (45). Weiterhin korreliert IL-6 in verschiedenen Arbeiten mit Parametern der Insulinresistenz. Höhere IL-6 Serumwerte waren hier meist mit schlechterer Insulinempfindlichkeit korreliert (49,50).

2. Übergewicht, Inflammation, Insulinresistenz und Diabetes

2.1. Lipid-induzierte Insulinresistenz und Inflammation

Bei Patienten mit Typ 2 Diabetes sind Entzündungsmarker bekanntermaßen erhöht (51). Daß Diabetes mit einer aktivierten Entzündungsreaktion zusammenhängt, wurde übrigens erstmals 1876 in der Berliner Medizinischen Wochenschrift beschrieben (52). Damals war berichtet worden, dass sich die Diabeteseinstellung unter Therapie mit Salicylaten verbesserte. Nachfolgende Untersuchungen hatten uneinheitliche Ergebnisse gebracht, teilweise war auch ein negativer Effekt von Acetylsalicylsäure auf die Insulinresistenz gesehen worden (53-56).

Es ist gut etabliert, dass durch Lipide eine Insulinresistenz ausgelöst werden kann (57). Im Verlauf der lipid-induzierten Insulinresistenz findet sich eine Aktivierung des zentralen inflammatorischen NF κ B-Weges (58), wobei letztlich nicht ganz klar ist, welche molekularen Mechanismen dies vermitteln. In guter Übereinstimmung konnte bei Nagern die lipid-induzierte Insulinresistenz durch Vorbehandlung mit Salicylaten verhindert werden (59).

Wir haben daher die Hypothese überprüft, daß auch beim Menschen eine Vorbehandlung mit Salicylaten die lipid-induzierte Insulinresistenz verhindern kann. Hierzu wurde bei 10 gesunden Männern mit normaler Glukosetoleranz durch Lipidinfusion eine lipid-induzierte Insulinresistenz ausgelöst. In guter Übereinstimmung mit dem Tierexperiment war durch Vorbehandlung mit 4 g Acetylsalicylsäure diese lipid-induzierte Insulinresistenz signifikant abzuschwächen. Etwa 30% der lipid-induzierten Insulinresistenz war durch

Vorbehandlung mit Acetylsalicylsäure zu vermeiden (Möhlig et al. (60), Abbildung 1).

Abbildung 1

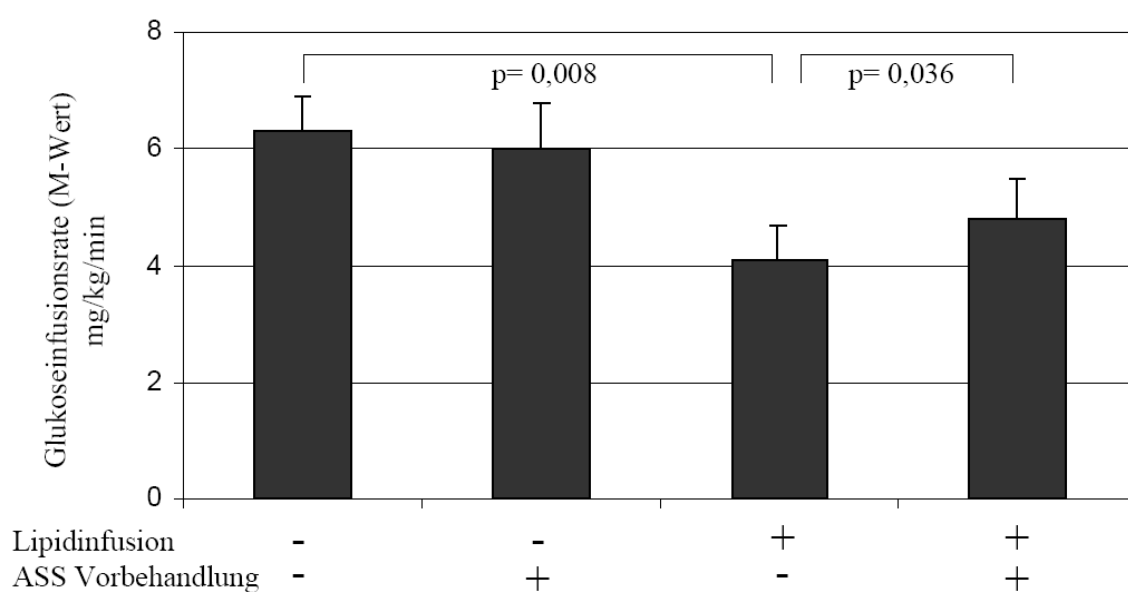


Abb 1: Glukoseinfusionsraten (M-Werte) während der Steady-State-Bedingungen der hyperinsulinämischen-euglykämischen Clamps (Möhlig et al. (60)).

Der Effekt von Acetylsalicylsäure auf die lipid-induzierte Insulinresistenz war unabhängig von den peripheren IL-6 oder CRP Spiegeln (Möhlig et al. (60)). Es scheint daher nicht die allgemeine entzündungshemmende Wirkung von

Acetylsalicylsäure für den beobachteten Effekt verantwortlich zu sein. Vielmehr wird hier eher ein spezifischer intrazellulärer Effekt der Acetylsalicylsäure angenommen. In der Literatur werden Effekte der Acetylsalicylsäure auf die IKK β (Inhibitor of NF κ B Kinase β) (61) und die c-Jun NH $_2$ terminal kinase (62) beschrieben. Beide Kinasen könnten die Phosphorylierung von IRS1 (Insulinrezeptorsubstrat 1) beeinflussen, wodurch die intrazelluläre Wirkung von Insulin abnehmen würde (Abbildung 2).

Abbildung 2

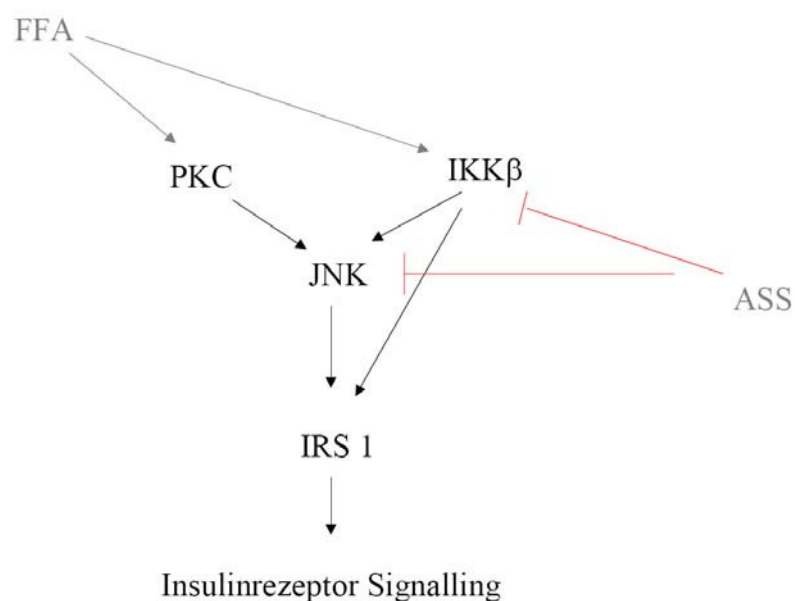


Abb 2: Denkbare intrazelluläre Zielstrukturen, über die Acetylsalicylsäure (ASS) die Insulinresistenz verschlechtern könnte. Abbildung modifiziert nach Jiang und Mitarbeiter aufgrund der Daten von Netea und Mitarbeiter und Jiang und Mitarbeiter (61,62).

2.2. IL-6, Inflammation und Insulinresistenz, Diabetes

Unter den Annahmen, dass einerseits Insulinresistenz assoziiert ist mit einer Aktivierung inflammatorischer Wege (z.B. Aktivierung des inflammatorischen NF κ B–Weges durch Lipide (58)) und andererseits ein manifester Typ 2 Diabetes erst dann entsteht, wenn die zunehmende periphere Insulinresistenz nicht mehr durch eine vermehrte Insulinsekretion der pankreatischen Betazelle kompensiert werden kann, ist es nicht verwunderlich, dass sich erhöhte Entzündungsmarker bereits im Vorfeld der Diabetesentstehung zeigen lassen (63-68).

Wir hatten an einer eingeschlossenen Fall-Kontroll-Studie innerhalb der EPIC-Potsdam-Kohorte Zytokinspiegel im Vorfeld der Diabetesentstehung untersucht. IL-6 zeigte sich als unabhängiger Risikofaktor für die Diabetesentstehung. Probanden in der höchsten IL-6 Quartile hatten im Vergleich zu Probanden in der niedrigsten IL-6 Quartile ein ca. 2,5-fach erhöhtes Diabetes Risiko (67). Damit konnte auch in einer deutschen Kohorte der beschriebene Zusammenhang zwischen IL-6 und Diabetes Risiko bestätigt werden (64).

Ist IL-6 das molekulare Bindeglied zwischen Übergewicht und Insulinresistenz?

Beim Menschen korrelieren die IL-6 Serumwerte und die IL-6 Expression im Fettgewebe mit dem BMI (34) und durch Gewichtsabnahme konnte tatsächlich auch eine Abnahme der IL-6 Spiegel gezeigt werden (45).

IL-6 wird nicht nur aus Fettgewebe, sondern auch aus der Muskulatur, beispielsweise bei akuter körperlicher Aktivität, freigesetzt. Die IL-6 Freisetzung aus dem Muskel zeigte sich bei Patienten mit gestörter Glukosetoleranz höher als bei Probanden mit normaler Glukosetoleranz. Durch Gewichtsreduktion

konnte diese erhöhte IL-6 Freisetzung der Probanden mit gestörter Glukosetoleranz wieder reduziert werden und erreichte dann ungefähr die Werte von Probanden mit normaler Glukosetoleranz (47). Zusammenfassend unterstützen diese Ergebnisse einen Zusammenhang zwischen Übergewicht, Insulinresistenz und IL-6 beim Menschen.

An Mausmyoblasten hatte sich durch Palmitat eine Aktivierung des NF κ B-Weges und eine Induktion von IL-6 zeigen lassen. Gleichzeitig war es zu einer Abnahme der stimulierten Glukoseaufnahme gekommen, was der Situation der Insulinresistenz entspricht. Durch Zugabe von Antikörpern gegen IL-6 hatte sich diese Insulinresistenz wieder aufheben lassen (69). Auch an Leberzellen und Fettzellen hatte sich durch IL-6 eine Insulinresistenz induzieren lassen (70-72), was ebenfalls dafür spricht, dass IL-6 tatsächlich eine Insulinresistenz induzieren kann.

Verschiedene Arbeiten am Menschen hatten Korrelationen zwischen IL-6 und Parametern der Insulinresistenz zeigen können, wobei höhere IL-6 Serumwerte meist mit schlechterer Insulinempfindlichkeit korreliert waren (49,50). Allerdings ist die Datenlage diesbezüglich nicht einheitlich. So fanden Carey und Mitarbeiter (73) die Glukoseinfusionsrate im Rahmen eines euglykämischen-hyperinsulinämischen Clamptests, der als Goldstandard für die Bestimmung der Insulinresistenz angesehen wird, nicht korreliert mit den IL-6 Serumwerten. IL-6 korrelierte jedoch gut mit dem BMI. Auch von anderen Autoren wird beschrieben, dass der Zusammenhang zwischen erhöhten Entzündungsparametern und Übergewicht stärker ist als der Zusammenhang zwischen erhöhten Entzündungsparametern und Insulinresistenz (74). Die

Schlussfolgerung, dass IL-6 primär mit dem Übergewicht zusammenhängt, wird auch von eigenen Daten gestützt.

In unserer MeSyBePo-Studie (Metabolisches Syndrom Berlin Potsdam-Studie), die über Anzeigen angeworbene Freiwillige rekrutiert, fanden wir bei 420 Probanden mit normaler Glukosetoleranz IL-6 korreliert mit HOMA-IR (Homeostasis model assessment for insulin resistance), einem akzeptierten Parameter der Insulinresistenz ($R = 0,324$, $p < 0,001$). Die signifikante Korrelation zwischen IL-6 und Insulinresistenz ging jedoch verloren, wenn für Übergewicht (BMI) adjustiert wurde (unpublizierte Daten).

Die gleiche Schlussfolgerung, dass IL-6 primär mit Übergewicht und weniger mit Insulinresistenz zusammenhängt, ergab sich bei Frauen mit polyzystischem Ovarsyndrom (PCOS), einer bekannten Risikokonstellation für Insulinresistenz. Hier zeigten sich gleiche IL-6 Werte bei den insulinresistenten Frauen mit polyzystischem Ovarsyndrom wie bei den Frauen der Kontrollgruppe. Auch war IL-6 in beiden Gruppen bei Übergewicht gleichermaßen erhöht (Möhlig et al. (75), Abbildung 3).

Abbildung 3

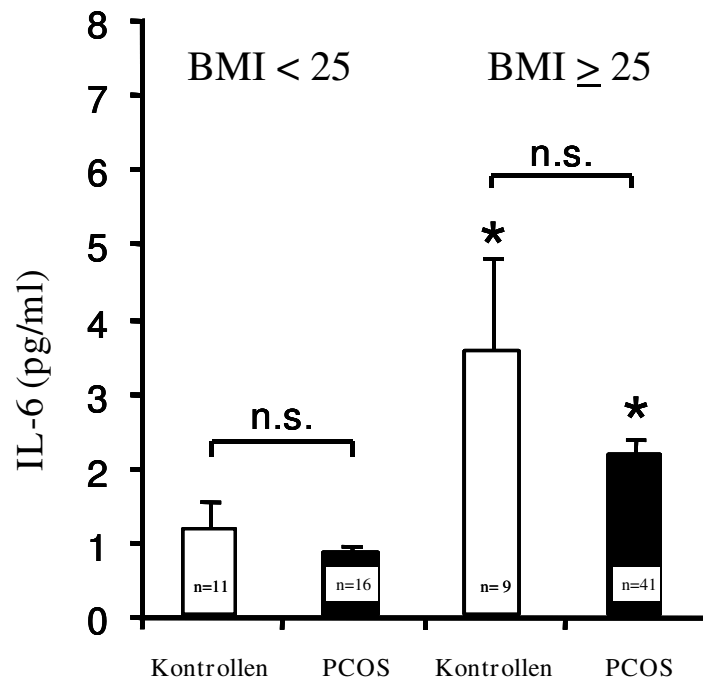


Abb 3: IL-6 Plasmakonzentrationen bei insulinresistenten Frauen mit PCOS und gesunden Kontrollen gleichen Alters. BMI dichotomisiert bei 25 kg/m² (Möhlig et al. (75)).

Neben diesen Beobachtungsstudien haben einzelne Interventionsstudien den Einfluß von IL-6 auf die Insulinresistenz untersucht. Für die Beurteilung dieser Ergebnisse ist es jedoch wichtig, die eingesetzte IL-6 Dosis zu berücksichtigen, da hohe IL-6 Spiegel andere Hormonsysteme (z.B. Cortisol, Glukagon) aktivieren können. Ausführlich untersucht wurde diese Frage von Steensberg und Kollegen (76). Die Autoren benutzten zwei niedrige IL-6 Dosierungen, die nur geringe endokrine Veränderungen bewirkten. Die damit erreichten IL-6

Serumspiegel waren aber dennoch deutlich höher als die IL-6 Werte, die im Rahmen von Übergewicht beobachtet werden.

Im Verlauf der IL-6 Gabe konnten die Autoren keine Änderung der Insulinsensitivität beim Menschen finden.

Ergänzend war beim Menschen auch eine Beziehung zwischen den IL-6 Spiegeln und der Insulinsekretion zu sehen (77). Die akute Insulinantwort war in einer Gruppe glukosetoleranter Probanden im Wesentlichen abhängig von der peripheren Insulinempfindlichkeit und den IL-6 Spiegeln. Weiterhin waren in Zellkulturexperimenten Effekte von IL-6 auf die Insulinsekretion und die Insulingenexpression zu sehen. IL-6 führte zu einer verstärkten Insulingenexpression (77). Durch Zugabe von Nifedipin, einem Kalziumkanalblocker, war dieser Effekt aufzuheben. Die Autoren folgerten hieraus, dass der Effekt von IL-6 auf die Insulingenexpression Kalzium-abhängig ist. Dieser kausale Zusammenhang erscheint allerdings noch offen, da Kalziumkanalblocker auch den Effekt anderer Stimuli auf die Insulingenexpression (beispielsweise den Effekt von Glukose (78)) beeinflussen und das intrazelluläre Kalziumsignal viel allgemeiner die Genexpression zu beeinflussen scheint, was daran ersichtlich ist, dass Kalzium auch in anderen Systemen die Genexpression modifiziert (79,80). Dem intrazellulären Kalzium werden in der insulinsezernierenden Zelle vielfältige Effekte zugeschrieben, die noch nicht komplett verstanden sind. Teilweise scheinen diese Effekte jedoch vermittelt durch die Kalzium/Calmodulin-abhängige Proteinkinase II (81). In früheren Experimenten hatten wir verschiedene Subtypen dieser Kalzium/Calmodulin-abhängigen Proteinkinase II beschreiben können (82-85).

Einer dieser Subtypen war in Betazellen der Ratte mit Insulinsekretionsvesikeln assoziiert (Möhlig et al. (86)). Mit Hilfe eines Anti-Sense Ansatzes, der zu einer spezifischen Abnahme dieses Insulinvesikel-assoziierten Subtyps in Insulinomzellen führte, konnte tatsächlich eine Abnahme der Insulingenexpression gesehen werden (87).

Zusammengefasst besteht eine Evidenz für einen Zusammenhang zwischen Übergewicht, IL-6 und Insulinresistenz bzw. Diabetes. Allerdings ist beim Menschen im Rahmen von gezielten Interventionen derzeit nicht gezeigt, dass IL-6 selbst Insulinresistenz auslöst oder tatsächlich die Insulinsekretion beeinflusst. Die bislang vorliegenden Kurzzeitinterventionen schließen aber auch nicht aus, dass langfristig erhöhte IL-6 Spiegel, eine Situation, wie sie tatsächlich bei Übergewicht vorliegt, erst zu metabolischen Veränderungen führen. Außerdem deuten erste Ergebnisse darauf hin, dass IL-6 in unterschiedlichen Geweben ganz unterschiedliche Effekte auslöst (70,71,88). Solche gewebspezifischen Effekte könnten daher dafür verantwortlich sein, dass sich metabolische Konsequenzen nicht richtig mit den Serumwerten erfassen lassen.

2.3. IL-6 C-174G Polymorphismus, Übergewicht und Diabetes Risiko

Die Aktivität der IL-6 Promotors war in-vitro abhängig von einem Polymorphismus (C-174G) innerhalb des IL-6 Promotors (89). In Reporterassays war das Promotorkonstrukt mit Cytosin an Position -174 weniger stark stimulierbar als das Konstrukt mit Guanin. In guter Übereinstimmung mit diesen in-vitro Daten waren zunächst bei Vorliegen von Guanin an Position -174 höhere IL-6 Serumspiegel beschrieben worden (89). Im Verlauf wurden jedoch uneinheitliche Daten zum Zusammenhang dieses Polymorphismus mit den IL-6 Spiegeln publiziert (90-92).

Wir hatten den IL-6 C-174G Polymorphismus und die IL-6 Spiegel bei 334 normal gewichtigen Probanden (BMI zwischen 20 und 25 kg/m²) und 334 übergewichtigen Personen (BMI größer als 30 kg/m²), gematcht nach Geschlecht und Alter, untersucht. Es hatten sich abhängig vom IL-6 C-174G Polymorphismus keine unterschiedlichen IL-6 Spiegel ergeben (93).

Allerdings zeigte sich eine signifikante Assoziation dieses Polymorphismus mit Übergewicht (Chi-Quadrat 7,36, p =0,026). Die Odds Ratio für Übergewicht war für heterozygote Probanden 1,19 (95%CI 0,84-1,68) und für Probanden homozygot für Cytosin 1,91 (95%CI 1,19-3,08). Damit bestätigten diese Ergebnisse eine etwas früher publizierte Arbeit (94). Die Autoren fanden Guanin an Position -174 des IL-6 Promotors häufiger bei schlanken Probanden. Interessanterweise war von einer anderen Arbeitsgruppe eine Assoziation dieses Polymorphismus mit dem Ruheumsatz beschrieben worden (95). Dies wäre ein denkbarer Mechanismus, der dieser Assoziation des IL-6 Promotorpolymorphismus mit Übergewicht zugrunde liegen könnte, auch wenn

der exakte pathogenetische Zusammenhang noch unklar ist. Unterstützt wird ein Zusammenhang zwischen IL-6 und Körpergewicht auch durch den Phänotyp der IL-6 Knock-out Maus. Dieses Mausmodell ist übergewichtig, und die Gabe von IL-6 in das Zentralnervensystem führt zu einer Abnahme des Körpergewichts (96).

Der beobachtete Zusammenhang zwischen dem C-174G Polymorphismus im IL-6 Promotor und Übergewicht muß sich jedoch zunächst noch in mehreren unabhängigen Kohorten bestätigen, bevor allgemeine Aussagen abgeleitet werden können.

Der Einfluß des C-174G Polymorphismus im IL-6 Promotor wurde außerdem untersucht in Hinblick auf das Diabetes Risiko. Die Untersuchung wurde an der bereits oben angesprochenen eingeschlossenen Fall-Kontroll-Studie innerhalb der EPIC-Potsdam-Kohorte durchgeführt. Insgesamt wurden in die EPIC-Potsdam-Kohorte 27.548 Männer und Frauen eingeschlossen. Die eingeschlossenen Frauen waren 35 bis 65 Jahre alt, die eingeschlossenen Männer 40 bis 65 Jahre. Die Probanden waren aus der Bevölkerung von Potsdam und Umgebung zwischen 1994 und 1998 rekrutiert worden. Follow-up Fragebögen werden jedem Studienteilnehmer alle 2 bis 3 Jahre zugeschickt. Die eingeschlossene Fall-Kontroll-Studie basierte auf dem ersten Follow-up. Als inzidente (neu aufgetretene) Diabetesfälle waren solche Probanden definiert worden, die nach der Baseline Untersuchung neu einen Typ 2 Diabetes entwickelt hatten. Die Selbstangabe der Patienten war in jedem Fall durch Kontaktierung des Hausarztes überprüft worden. Zu jedem Fall waren nach

Geschlecht und Alter zwei Kontrollen ohne Diabetes gematcht worden (67). DNA war aus Buffy-Coat extrahiert worden und der C-174G Polymorphismus war nach Amplifikation des entsprechenden DNA-Abschnitts mittels der Primerelongationsmethode detektiert worden. Von 188 Personen mit inzidentem Diabetes und 376 Kontrollen lag ein kompletter Datensatz vor.

Der C-174G Polymorphismus zeigte sich zunächst nicht assoziiert mit dem Diabetes Risiko und auch die IL-6 Werte waren zwischen den Genotypen nicht unterschiedlich. Allerdings zeigte sich die bekannte Korrelation zwischen Übergewicht (BMI) und IL-6 Spiegeln unterschiedlich bei den einzelnen C-174G Genotypen. Bei Personen homozygot für Cytosin stieg IL-6 bei zunehmendem BMI stärker an als bei Personen homozygot für Guanin (Korrelation zwischen BMI und IL-6 für CC 0,52 (95% CI 0,366-0,650, $p < 0,001$, $n = 103$) und für GG 0,2 (95% CI 0,036-0,344, $p = 0,016$, $n = 151$). Die Korrelation für die heterozygoten Probanden lag dazwischen ($R = 0,313$ (95% CI 0,209-0,41, $p < 0,001$, $n = 311$, Abbildung 4) (Möhlig et al. (97)).

Abbildung 4

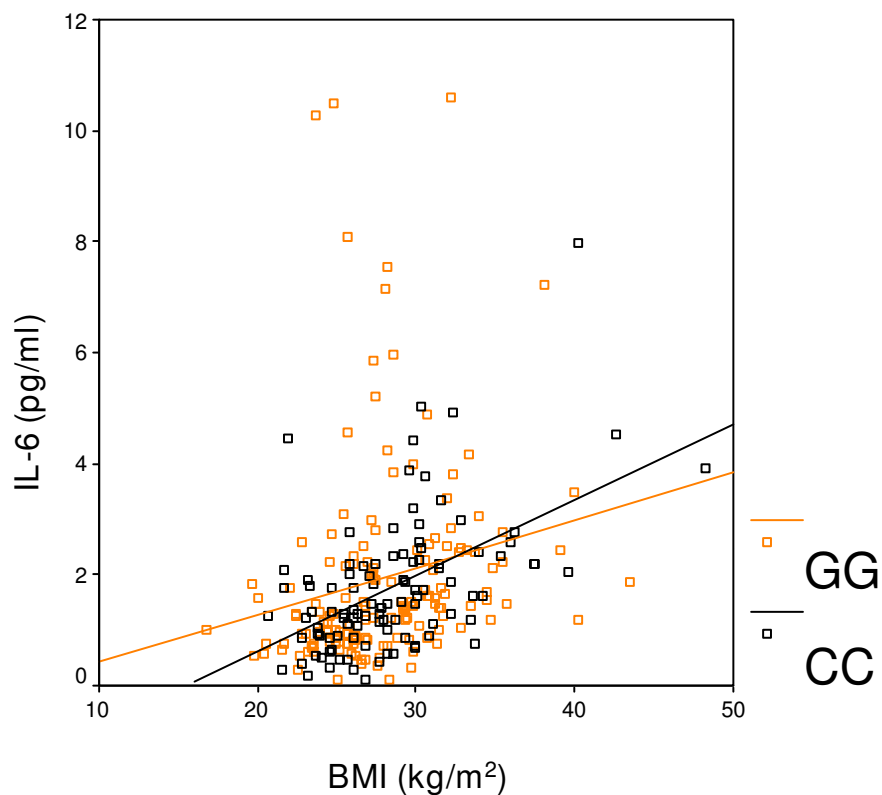


Abb 4: Korrelation zwischen den IL-6 Plasmakonzentrationen und dem BMI für Personen homozygot für Cytosin oder homozygot für Guanin an Position -174 im IL-6 Promotor (Möhlig et al. (97))

Ein solcher Effekt des Genotyps auf die Korrelation zwischen IL-6 und Übergewicht könnte, sollte er in weiteren Kohorten bestätigt werden, den bisher uneinheitlich publizierten Zusammenhang zwischen dem C-174G Polymorphismus und den IL-6 Spiegeln erklären. Der individuelle IL-6 Wert wäre dann abhängig vom vorliegenden Genotyp und vom individuellen BMI.

Von dieser Beobachtung ausgehend wurde geprüft, ob der C-174G Polymorphismus auch den Effekt des Übergewichts auf das Diabetes Risiko modifiziert.

Tatsächlich konnte eine solche Effektmodifikation mathematisch gezeigt werden. Während für Personen homozygot für Guanin und für heterozygoten Personen nur der Effekt des Übergewichts für das Diabetes Risiko wirkte, wirkte für Personen homozygot für Cytosin ein stärkerer Effekt. Allerdings waren, am ehesten wegen der immer noch recht kleinen Studienpopulation, die 95%-Konfidenzintervalle weit und überschritten sich teilweise (Möhlig et al. (97), Abbildung 5).

Abbildung 5

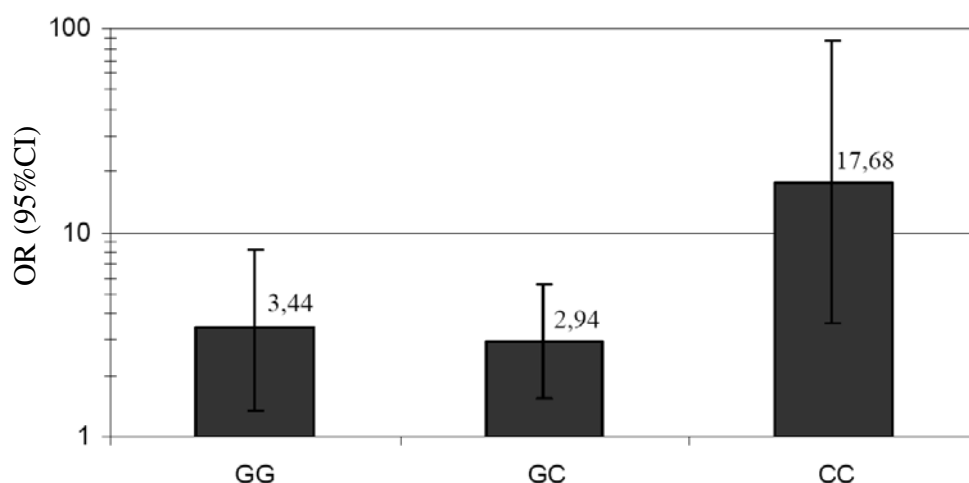


Abb 5: Odds Ratios und 95% Konfidenzintervalle für den Effekt eines BMI ≥ 28 kg/m² in Bezug auf das Diabetes Risiko abhängig vom C-174G Polymorphismus im IL-6 Promotor. BMI < 28 kg/m² als Referenz, adjustiert für Geschlecht, Alter, HbA1c, Alkoholgenuß, sportliche Aktivität, Ausbildung, Rauchen, körperliche Aktivität, Makronutrientaufnahme, Medikamente.

Kürzlich wurde diese Effektmodifikation auf das Diabetes Risiko an der Framingham-Studie bestätigt (98). Allerdings hatte sich hier nur in der Auswertung für Männer eine signifikante Effektmodifikation zeigen lassen. Daß die Autoren nur in der Auswertung für Männer eine Effektmodifikation sahen, muß nicht unbedingt bedeuten, dass hier ein geschlechtsspezifischer Effekt besteht. Es kann auch an der Studiengröße und der Verteilung der Variablen zwischen Männern und Frauen und Fällen und Kontrollen liegen, wie die Autoren auch selbst diskutieren. Da die Studiengruppe unter 753 Männern nur 69 Männer mit Diabetes und unter 772 Frauen nur 59 Frauen mit Diabetes beinhaltete, ist diese Erklärung auch recht wahrscheinlich.

Weitere und größere prospektive Kohorten müssen untersucht werden, bevor die hier beschriebene Interaktion zwischen BMI und C-174G IL-6 Promotorpolymorphismus in Hinblick auf das Diabetes Risiko abschließend beurteilt werden kann. Es erscheint aber notwendig, einen solchen Zusammenhang in prospektiven Kohorten zu untersuchen, da die Diagnose eines Diabetes mellitus selbst das Körpergewicht beeinflussen kann, indem bei Diabetes stets eine Gewichtsreduktion empfohlen wird und die medikamentöse Therapie in den meisten Fällen zu Gewichtszunahme führt. Daher können Meta-Analysen, die im wesentlichen auf prävalenten Diabetesfällen beruhen (99,100), zu solchen Zusammenhängen keine gute Aussage treffen.

Bisher wurde in zwei Metaanalysen die Assoziation des C-174G Polymorphismus mit Typ 2 Diabetes untersucht (99,100). Qi und Kollegen (99) fanden bei der Auswertung von insgesamt 5.383 Diabetesfällen und 12.069 Kontrollen nur einen signifikanten Effekt von GG vs. GC in Hinblick auf Diabetes

(Odds Ratio 1,14, 95%-CI 1,05-1,24), die Signifikanz ging jedoch verloren nach Ausschluß einer Studie wegen eines unbalancierten Studiendesigns. Die Metaanalyse von Huth und Mitarbeitern (100) basiert auf 5.606 Fällen und 17.020 Kontrollen. Hier ergab sich ein signifikant protektiver Effekt von CC und GC (Odds Ratio 0,91 (95%CI 0,83-0,99)).

Aus einer Effektmodifikation, wie sie hier beschrieben ist, könnten sich tatsächlich wichtige Aspekte für zukünftige Präventionsempfehlungen ergeben. Personen homozygot für Cytosin wären dann ganz besonders gefährdet, im Rahmen einer Gewichtszunahme einen Diabetes zu erleiden, und diese Personen sollten daher ganz besonders auf das Körpergewicht achten.

2.4. Nutritive und hormonelle Regulation des „Hungerhormons“ Ghrelin

Im Mittelpunkt der Appetitregulation steht ein komplexes hypothalamisches System (101,102), das als Antwort auf eine Abnahme des Körpergewichts kompensatorische Änderungen des Appetits einleitet, mit dem Ziel, dass das Körpergewicht wieder zunimmt (103).

Diese hypothalamische Regulation wird modifiziert durch Signale aus der Peripherie. Hierzu zählen neben Signalen wie Leptin, das eher den langfristigen Energiezustand des Körpers übermittelt, auch Signale des Magen-Darm-Trakts, wie Ghrelin (103,104), die auf kurzfristige Änderungen der Energieaufnahme reagieren.

Erstmals war mit Leptin ein zirkulierender Faktor identifiziert worden (105), der an der langfristigen Aufrechterhaltung der Energiehomöostase beteiligt ist. Menschen mit einer Mutation, die zu einem kompletten Leptin-Verlust führt, sind sehr adipös (3), und die Leptin-Substitution führt zu einer Abnahme der Nahrungsaufnahme und zu einer beeindruckenden Reduktion des Körpergewichts (22,23).

Eine weitere Signalsubstanz, die aus der Peripherie kommend diese hypothalamische Appetitregulation zu beeinflussen vermag, ist Ghrelin. Ghrelin war ursprünglich als Ligand des Wachstumshormon-Sekretagoga-Rezeptor1 beschrieben worden (106). Ghrelin wird überwiegend im Magen synthetisiert (107), und die Ghrelinspiegel im Blut sind bei Übergewicht vermindert (108). Ghrelin fällt postprandial ab und steigt danach wieder an mit einem Maximum unmittelbar präprandial (109). Damit legte der Ghrelin-Verlauf eine Bedeutung im Rahmen der Nahrungsaufnahme nahe. Tatsächlich konnte durch systemische

Gabe von Ghrelin bei Nagern eine vermehrte Nahrungsaufnahme und eine Gewichtszunahme erreicht werden, wobei primär die Fettmasse anstieg (110). Dieser Effekt auf die Nahrungsaufnahme konnte auch bei Injektion in den Hypothalamus ausgelöst werden (111). Auch beim Menschen führte die Gabe von Ghrelin zu einer Zunahme der Nahrungsaufnahme (112).

Wie kommt es jedoch zum postprandialen Abfall von Ghrelin?

Ghrelin fällt sowohl nach intravenöser als auch nach oraler Glukosebelastung ab. Dieser Effekt war unabhängig von der Magendehnung (113). Die pathophysiologischen Mechanismen, die direkt verantwortlich für den postprandialen Abfall von Ghrelin sind, sind noch unklar.

Wir hatten isoliert den Effekt von Insulin im euglykämischen, hyperinsulinämischen Clamptest untersucht. Hierbei wurde gesunden männlichen Probanden eine konstante Insulindosis (40 mU/m^2 Körperoberfläche/min) infundiert und der Blutzucker durch eine variable Glukoseinfusion bei 80 mg/dl konstant gehalten. Allein durch den Insulinstieg von $85 \pm 33,2 \text{ pmol/l}$ auf $482,7 \pm 64,4 \text{ pmol/l}$ ($\text{MW} \pm \text{SEM}$) kam es zu einem Abfall des Ghrelinspiegels um ca. 40% (Abbildung 6) (Möhlig et al. (114)).

Abbildung 6

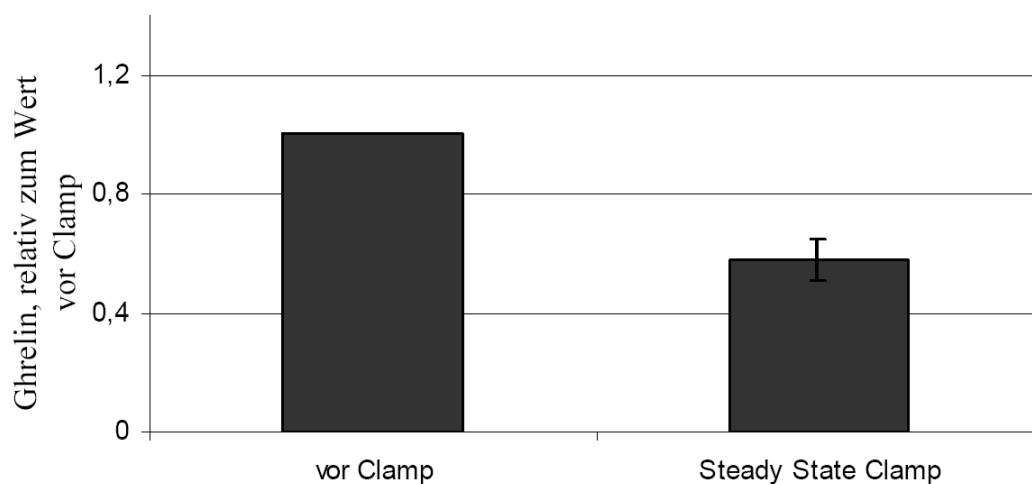


Abb 6: Ghrelinspiegel vor Beginn und im Gleichgewichtszustand des euglykämischen hyperinsulinämischen Clamps (n= 4) (Möhlig et al. (114)).

Dieser Effekt von Insulin auf die Ghrelinspiegel war auch von anderen Arbeitsgruppen gesehen worden (115-117).

Allerdings haben andere Autoren ihre Daten auch dahingehend interpretiert, dass Insulin nicht der wesentliche Faktor für die postprandiale Ghrelinsuppression ist und der hemmende Effekt von Insulin auf die Ghrelinspiegel erst bei supraphysiologischen Insulinspiegeln auftritt (118).

An dieser Stelle erscheint aber zunächst bemerkenswert, dass Insulin neben seinen Stoffwechseleffekten auch noch andere Signalsubstanzen zu modifizieren vermag, wie Ghrelin oder auch Adiponektin (Möhlig et al. (43)).

Die Bedeutung des postprandialen Insulinanstiegs für die postprandiale Abnahme von Ghrelin haben wir an einem Probanden mit Typ 1 Diabetes weiter untersucht. Hierzu haben wir den postprandialen Ghrelinverlauf bei einem gesunden Mann und einem gleichaltrigen männlichen Probanden mit Typ 1 Diabetes unter konstanter subkutaner Infusion mit Insulin LysPro bestimmt. Sollte der postprandiale Insulinanstieg tatsächlich der wesentliche Trigger für den Ghrelinabfall sein, so sollte der Ghrelinabfall bei dem Probanden mit Typ 1 Diabetes ausbleiben. Tatsächlich konnte jedoch auch bei dem Probanden mit Typ 1 Diabetes, also ohne postprandialen Anstieg von Insulin, ein postprandialer Abfall von Ghrelin dokumentiert werden (Abbildung 7) (119).

Abbildung 7

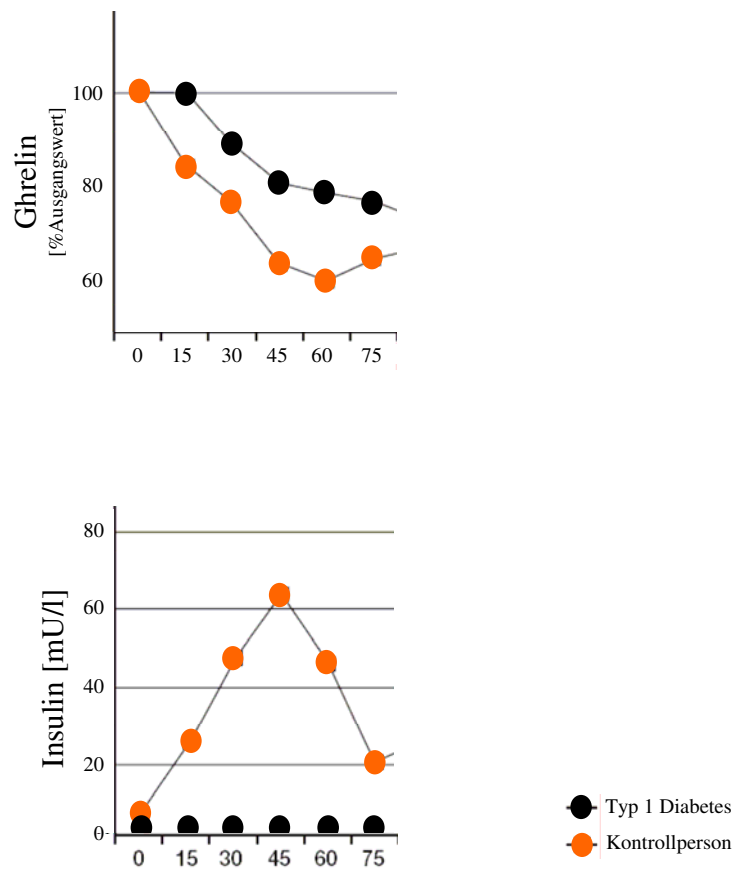


Abb 7: Postprandialer Ghrelinabfall auch unabhängig vom postprandialen Insulinanstieg bei einem Probanden mit Typ 1 Diabetes (119).

Von einer anderen Arbeitsgruppe konnte bestätigt werden, dass es unter basaler Insulingabe auch bei Probanden mit Typ 1 Diabetes zu einem postprandialen Abfall von Ghrelin kommt. Die Autoren hatten aber zusätzlich zeigen können, dass bei völliger Pausierung der Insulininfusion dieser

postprandiale Ghrelinabfall ausbleibt (120). Eine geringe Menge Insulin scheint daher notwendig für den Effekt der Nahrung auf Ghrelin.

Von den Makronährstoffen (Kohlenhydrate, Proteine, Lipide) haben die Kohlenhydrate den stärksten Effekt auf den postprandialen Abfall von Ghrelin und die Lipide den schwächsten Effekt (121,122).

Passend hierzu hatten wir im Rahmen einer Lipidinfusion keinen Effekt auf die peripheren Ghrelinspiegel sehen können (Möhlig et al. (114)).

Abbildung 8

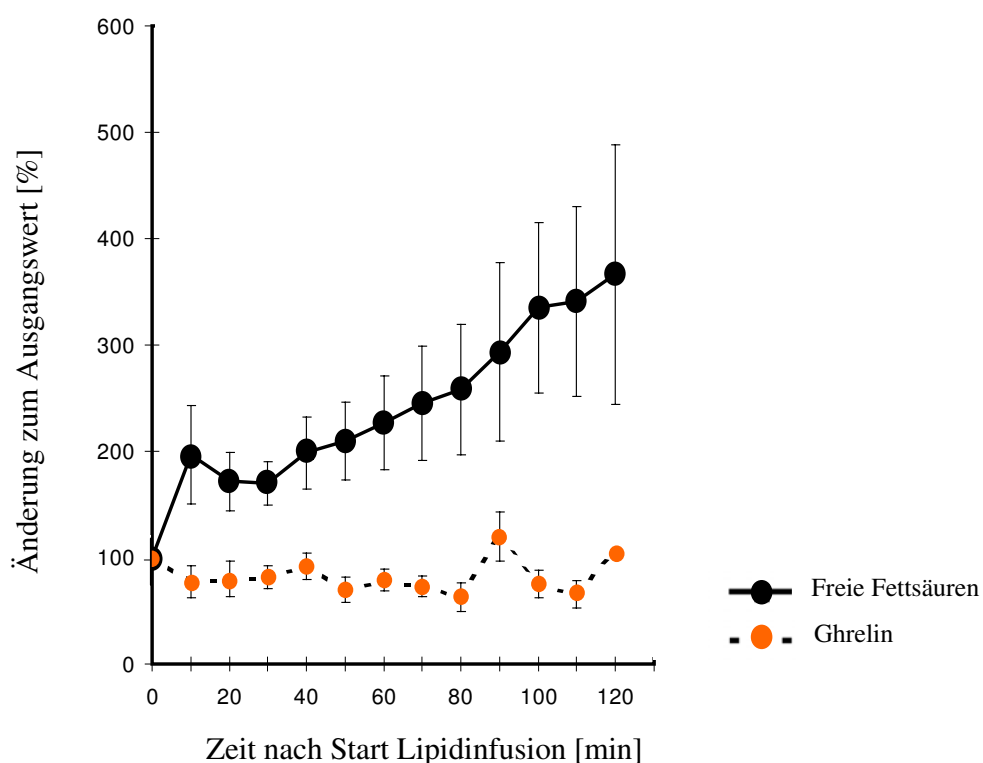


Abb 8: Keine Änderung der Ghrelinspiegel trotz starkem Anstieg der freien Fettsäuren nach Lipidinfusion (Möhlig et al. (114)).

Heute wird in der Kombination aus nervalen Reizen im Rahmen der oralen Energieaufnahme, Zusammensetzung der Nahrung und Insulinspiegel der wesentliche Trigger des postprandialen Ghrelinabfalls gesehen (104).

Der postprandiale Ghrelin-Abfall ist geringer bei übergewichtigen- und insulinresistenten Probanden (116,123), ohne dass der pathophysiologische Mechanismus bekannt wäre.

Ballaststoffreichen Nahrungsfasern werden allgemein günstige Effekte für die Gesundheit zugesprochen, und eine vermehrte Aufnahme von Nahrungsfasern hatte mit geringerem Körpergewicht assoziiert werden können (124). Wir hatten daher erwartet, dass unter einer faserreichen Kost die postprandialen Ghrelin-Spiegel niedriger sind. Das Gegenteil war jedoch der Fall. Unter einer vermehrter Aufnahme der löslichen Faser Arabinoxylan (6 g) sahen wir die postprandialen Ghrelinspiegel bei gesunden Probanden höher als nach der Kontrollmahlzeit (Abbildung 9) (Möhlig et al. (125)). Auch der vermehrte Zusatz von Weizenfaser bewirkte erhöhte postprandiale Ghrelinspiegel, während die postprandialen Ghrelinspiegel nach Haferfaser unverändert waren (126). Niedrigere postprandiale Ghrelinspiegel hatten sich nach Faserzugabe jedoch nie gezeigt. Der positive Effekt von Fasern auf das Körpergewicht erscheint somit nicht durch Ghrelin vermittelt zu sein.

Abbildung 9

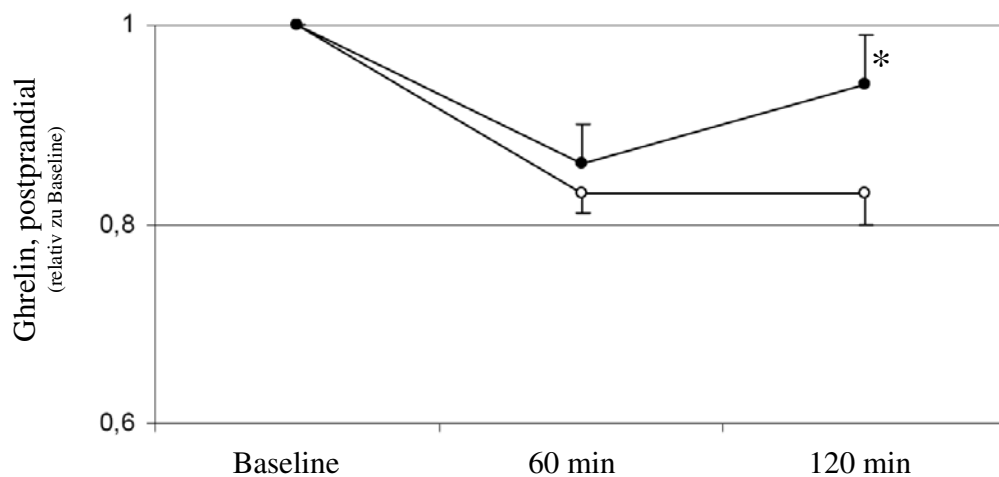


Abb 9: Plasmaghrelin relativ zu Baseline bei 11 Probanden (angegeben SEM). Offene Kreise: Verlauf nach Kontrollfrühstück (2 Brötchen, Margarine, Marmelade, Käse, Salat), geschlossene Kreise: Kontrollfrühstück + 6 g Arabinoxylan, eingebacken in die Brötchen. * sign. unterschiedl. Zeitpunkt (Möhlig et al. (125)).

Daneben scheinen auch noch weitere hormonelle Stimuli, wie beispielsweise Wachstumshormon, an der Regulation von Ghrelin beteiligt zu sein (127). Aktuell sind wir noch weit davon entfernt, die komplexe Regulation der postprandialen Ghrelinfreisetzung zu verstehen. Auch ist derzeit unklar, ob der postprandiale Ghrelinverlauf überhaupt einen wesentlichen Effekt auf die Appetitregulation hat (121,126).

3. Hyperandrogenismus und Insulinresistenz

3.1. Insulinresistenz, Ursache des Hyperandrogenismus oder vice versa

Das Syndrom der polyzystischen Ovarien (PCO-Syndrom) ist eine sehr häufige endokrine Störung bei Frauen. Die Häufigkeit wird mit 5-10% der Frauen im reproduktiven Alter angegeben (128). Klinisch ist das PCO-Syndrom charakterisiert durch Zyklus- und Fertilitätsstörungen und klinische oder biochemische Zeichen eines Hyperandrogenismus oder das Vorliegen von polyzystischen Ovarien. Die polyzystischen Ovarien haben dem Syndrom zwar den Namen gegeben, sind für das Vorliegen eines PCO-Syndroms aber keine zwingende Notwendigkeit. Die derzeit am häufigsten gebrauchten Definitionen des PCO-Syndroms sind die NIH-Definition (129) und die Rotterdam Konsensusdefinition (130). 20-40% der Frauen mit einem PCO-Syndrom haben einen gestörten Glukosestoffwechsel (131-134). In unserer Studiengruppe von jungen Frauen mit PCO-Syndrom hatten bereits 22% eine gestörte Glukosetoleranz oder einen Typ 2 Diabetes (Möhlig et al. (135)).

Mehrere Studien hatten eine Korrelation zwischen Hyperandrogenismus und Insulinresistenz bei Frauen mit PCO-Syndrom zeigen können (136-138). Der pathogenetische Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und Hyperandrogenismus ist jedoch nicht gut verstanden. Eine Reihe von Arbeiten hatte zeigen können, dass sich nach Verbesserung der Insulinresistenz durch Lebensstiländerung oder einer Behandlung mit dem Biguanid Metformin auch der Hyperandrogenismus, die Zyklusstörungen und die Fertilität verbessern (139-142). Diese Arbeiten deuten darauf hin, dass die Insulinresistenz dem Hyperandrogenismus ursächlich zugrunde liegen könnte. Denkbar ist hier

beispielsweise eine verstärkte Insulinwirkung an ovariellen Zellen als Folge der peripheren Insulinresistenz, wodurch es zur Reifungsstörung der Follikel kommt. Umgekehrt war allerdings auch durch eine anti-androgene Therapie eine Verbesserung der Insulinresistenz zu dokumentieren (143). Dies spricht dafür, dass auch die Hyperandrogenämie zu Insulinresistenz führen kann. Somit ist hier ein sich gegenseitig verstärkender Mechanismus vorstellbar. Einerseits scheint Insulinresistenz zu Hyperandrogenämie zu führen und andererseits verschlechtert auch die Hyperandrogenämie selbst wieder die Insulinresistenz.

Die Wirkung von Testosteron wird vermittelt über die Bindung von Testosteron an den Androgenrezeptor. Die Fähigkeit des Androgenrezeptors, abhängige Gene zu beeinflussen, ist abhängig von einem CAG Repeat Polymorphismus im Exon 1 (144). Je kürzer die CAG Repeat Länge, desto stärker war die Transkriptionsaktivität des Androgenrezeptors. Wir haben daher untersucht, ob bei Frauen mit PCO-Syndrom ein Zusammenhang besteht zwischen diesem Polymorphismus und der Insulinresistenz. Sollte sich ein solcher Zusammenhang zwischen einem vorgegebenen Polymorphismus und Hyperandrogenämie einerseits sowie Insulinresistenz andererseits zeigen lassen, so würde dies die Hypothese weiter stützen, dass tatsächlich die Hyperandrogenämie Insulinresistenz bedingen kann.

Bei 63 Frauen wurde der DNA-Bereich des CAG Repeat Polymorphismus im Androgenrezeptor mit PCR (Polymerasekettenreaktion) amplifiziert, und die Quantifizierung der CAG Repeats erfolgte über anschließende Gelelektrophorese. Da der Androgenrezeptor auf dem X Chromosom lokalisiert ist, war für weitere Berechnungen die mittlere Länge der beiden Allele benutzt

worden (siehe auch (145,146)). Diese mittlere Länge lag im Bereich 16,5 bis 26 (Mittelwert $21,9 \pm 0,3$ (SEM)). Die Hyperandrogenämie wurde über das freie Testosteron quantifiziert. Dieses wurde aus dem Gesamttestosteron und dem SHBG kalkuliert (147). Die Insulinresistenz wurde als HOMA-IR erfasst (Insulin (mU/l)/Blutzucker (mmol/l)/22,5). Während freies Testosteron signifikant korreliert war mit Insulinresistenz ($R= 0,295$, $p= 0,019$), zeigte sich für die Länge des CAG Repeat Polymorphismus nur eine grenzwertig signifikante Korrelation mit Insulinresistenz ($p= 0,08$). Es zeigte sich jedoch eine signifikante Interaktion zwischen dem freien Testosteron und der Länge des CAG Repeat Polymorphismus im Hinblick auf Insulinresistenz. Diese Interaktion war auch nach Adjustierung für Alter, BMI und Rauchstatus signifikant (Möhlig et al. (148)).

Tabelle 1 Multivariate Regression. Abhängige Variable: HOMA-IR (Möhlig et al. (148))

Variable	β - Koeffizient	p-Wert
unadjustiertes Modell ($R^2=0.243$)		
freies Testosteron (pmol/l)	0.262	0.005
CAG Repeat Länge	0.243	0.261
freies Testosteron x CAG Repeat Länge	-0.011	0.009
adjustiertes Modell ($R^2=0.425$)		
freies Testosteron (pmol/l)	0.269	0.002
CAG Repeat Länge	0.208	0.282
freies Testosteron x CAG Repeat Länge	-0.012	0.002
Alter (Jahre)	-0.045	0.304
BMI (kg/m^2)	0.122	<0.001
Raucher (nein/ja)	0.275	0.787

Da eine solchen Interaktion schwierig zu erfassen ist, wurde die Insulinresistenz aus dem Modell kalkuliert für verschiedene Testosteronspiegel und verschiedene Längen des CAG Repeat Polymorphismus. Dabei wurde ersichtlich, dass sich für Längen des CAG Repeat Polymorphismus kleiner als 23 mit zunehmendem freien Testosteron die Insulinresistenz verschlechtert und zwar umso stärker, je kürzer die mittlere CAG Repeat Länge ist. Für Längen des CAG Repeat Polymorphismus länger als 23 scheint sich der Effekt des Testosteron umzukehren. Bei einer Polymorphismuslänge von 23 waren die Testosteronwerte nicht mit unterschiedlicher Insulinresistenz assoziiert.

Tabelle 2 Insulinresistenz (HOMA-IR) kalkuliert aus dem adjustierten Modell (Tabelle 1) für verschiedene freie Testosteronkonzentrationen und verschiedene Längen des CAG Repeat Polymorphismus (Möhlig et al. (148))

f-Testosteron pmol/l	Länge des CAG Repeat Polymorphismus						
	19	20	21	22	23	24	25
10	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5
20	2.4	2.4	2.4	2.3	2.3	2.3	2.3
30	2.9	2.7	2.6	2.5	2.3	2.2	2.0
40	3.3	3.1	2.8	2.6	2.3	2.1	1.8

Als Maß der Güte einer linearen Regression kann der R^2 -Wert angenommen werden. Unser Modell erklärte über 40% der Varianz der Insulinresistenz

unserer Studiengruppe, was ein sehr guter Wert ist. Es muß jedoch einschränkend betont werden, dass unsere Studiengruppe für genetische Untersuchungen sehr klein ist. Das Ergebnis muß daher zunächst noch an anderen Kohorten überprüft werden, bevor allgemeine Schlussfolgerungen gezogen werden können.

Zusammenfassend unterstützt dieses Ergebnis somit die Sichtweise, dass bei Frauen mit PCO-Syndrom die Hyperandrogenämie Insulinresistenz bedingen kann. Für die Beurteilung des Zusammenhangs zwischen Hyperandrogenämie und Insulinresistenz scheint es zukünftig wichtig, die Länge des CAG Repeat Polymorphismus zu berücksichtigen.

3.2. Inflammation bei Frauen mit PCO-Syndrom

Erhöhte Entzündungsparameter sind prädiktiv für die Entstehung eines Typ 2 Diabetes, ohne dass der genaue Pathomechanismus beim Menschen derzeit abschließend beurteilt werden könnte (wie bereits oben dargestellt). Ein wichtiger Entzündungsmediator, IL-6, erscheint primär mit Übergewicht und weniger mit Insulinresistenz assoziiert. Auch wir fanden IL-6 nicht erhöht bei insulinresistenten Frauen mit PCO-Syndrom im Vergleich zu gesunden Kontrollprobandinnen gleichen Alters (Möhlig et al. (75)), wie ebenfalls oben beschrieben. Sowohl bei Frauen mit PCO-Syndrom als auch bei den Kontrollen stieg IL-6 gleichermaßen mit dem BMI an (Abbildung 3). Dieser Befund passte gut zu Beobachtungen anderer, die ebenfalls IL-6 bei 85 Frauen mit Hyperandrogenismus und 25 Kontrollen gleich hoch fanden (149).

Das C-reaktive Protein (CRP), ein weiterer inflammatorischer Marker, war jedoch von einer anderen Arbeitsgruppe bei 17 Frauen mit PCO-Syndrom im Vergleich zu 15 Kontrollen erhöht beschrieben worden (150). In unserer Studiengruppe war CRP bei 57 Frauen mit PCO-Syndrom nicht unterschiedlich zu 20 Kontrollen gleichen Alters (Möhlig et al. (75)). Ähnlich wie für IL-6 fanden sich auch für CRP vergleichbar höhere Werte bei Übergewicht sowohl bei Frauen mit PCO-Syndrom als auch bei Kontrollen (Abbildung 10).

Abbildung 10

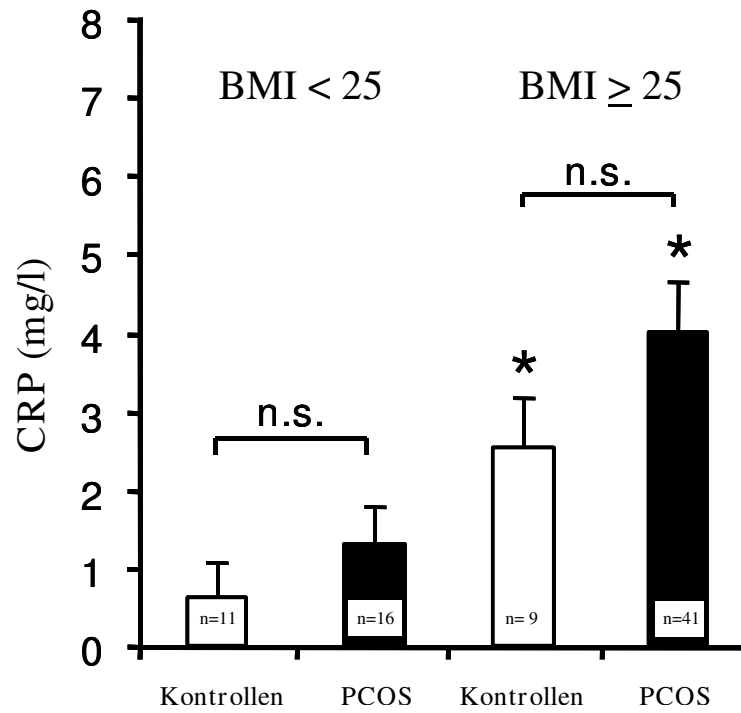


Abb 10: CRP bei Frauen mit PCO-Syndrom und gesunden Kontrollen gleichen Alters. BMI dichotomisiert bei 25 kg/m^2 (Möhlig et al. (75)).

Unsere Daten unterstützen daher nicht die Vorstellung, dass es sich bei einem PCO-Syndrom prinzipiell um eine Erkrankung mit aktiviertem Entzündungsniveau handelt. Vielmehr scheint es erst im Rahmen des häufig bei Frauen mit PCO-Syndrom vorliegenden Übergewichts zu einer aktivierten Entzündungsreaktion zu kommen.

3.3. Screening auf Glukosestoffwechselstörungen bei Frauen mit PCO-Syndrom

Der ungenügend eingestellte Diabetes ist eine Risikokonstellation für eine Reihe von Folgeerkrankungen, und durch eine verbesserte Stoffwechseleinstellung waren bei Patienten mit Typ 2 Diabetes günstige Effekte zu dokumentieren (151,152). Hieraus lässt sich ableiten, dass ein Screening für Diabetes sinnvoll ist.

Da zudem die Entwicklung eines Diabetes aus dem „Vorstadium“ der gestörten Glukosetoleranz durch Lebensstiländerung günstig beeinflusst werden kann (153,154), erscheint es sinnvoll, bereits diese Personen „at risk“ entsprechend zu beraten.

Darüberhinaus ist ein Diabetes-Screening auch in der Prävention der koronaren Herzerkrankung wichtig. In der Sekundärprävention der koronarer Herzerkrankung wird eine möglichst gute Diabeteseinstellung empfohlen, womit indirekt bei allen Patienten mit koronarer Herzerkrankung ein Screening bezüglich Diabetes empfohlen wird (155). Aber auch in der Primärprävention einer koronaren Herzerkrankung ist ein Diabetes-Screening notwendig (156), da andernfalls keine risikostratifizierte Therapie erhöhter Lipidwerte oder eines arteriellen Hypertonus möglich ist.

Daß jedoch in Deutschland viel zu wenig effektiv nach Diabetes gescreent wird, zeigen zwei neuere Arbeiten. Im Rahmen der KORA-Studie wurde in der Gruppe der 55- bis 74-jährigen bei 8,2% der Teilnehmer ein bisher unbekannter Diabetes diagnostiziert (157), und unter den elektiv zur Koronarangiografie vorgestellten Patienten konnte ganz aktuell ein bisher unbekannter Diabetes bei 22,3% der Patienten diagnostiziert werden (158).

Für das Diabetes-Screening der Allgemeinbevölkerung wird zunächst der Nüchternblutzucker empfohlen (159). Ist der Nüchternblutzuckerwert grenzwertig hoch (sogenannte erhöhte Nüchternglukose (im Plasma ≥ 100 und < 126 mg/dl)) wird beispielsweise von der Deutschen-Diabetes-Gesellschaft ein oraler Glukosetoleranztest (OGTT, 75 g Glukose) empfohlen (160).

Für Frauen mit PCO-Syndrom war jedoch in mehreren Arbeiten bisher zu zeigen, dass die Nüchternglukose kein geeigneter Screeningparameter ist (131-133). Hierzu passend war auch in unserer Kohorte die Nüchternglukose nicht geeignet, Frauen mit gestörtem Glukosestoffwechsel von solchen mit normalem Glukosestoffwechsel zu diskriminieren (Möhlig et al. (135)), und 92% der PCOS Frauen unserer Studiengruppe mit erhöhtem 120 min Wert im OGTT (120 min Wert ≥ 140 mg/dl (gestörte Glukosetoleranz) oder ≥ 200 mg/dl (Diabetes mellitus)) hatten einen normalen Nüchternblutzucker von kleiner als 100 mg/dl.

Aus dem Konsens, dass Frauen mit PCO-Syndrom ein erhöhtes Risiko einer metabolischen Störung haben (130), lässt sich ableiten, dass eine regelmäßige Stoffwechselkontrolle sinnvoll ist (161). Da nach den bisherigen Daten die Nüchternglukose ungeeignet ist, erscheint für das Screening von Frauen mit PCO-Syndrom nach Glukosestoffwechselstörungen ein OGTT unumgänglich. Wir haben daher nach solchen Parametern gesucht, die eine Vorauswahl der Patientinnen erlauben und somit helfen können, die Zahl der notwendigen OGTT's zu minimieren. Die Untersuchungen wurden durchgeführt an 118 Frauen mit PCO-Syndrom und normalem Nüchternblutzucker (Definition nach WHO, Nüchternblutzucker < 110 mg/dl (162)). 25 dieser Frauen hatten einen

erhöhten 120 min Wert im OGTT (≥ 140 mg/dl, gestörter Glukosestoffwechsel, IGM), 93 hatten eine normale Glukosetoleranz (NGT).

Tabelle 3 Vergleich der PCOS-Frauen mit normaler Glukosetoleranz (NGT) und der Frauen mit gestörtem Glukosestoffwechsel (IGM). MW \pm SEM. ^anormal verteilte Variablen ^bVariablen, die für die Entscheidungsbaummodelle nur basierend auf Anamnese und Anthropometrie benutzt wurden.

Variable	NGT (n = 93)	IGM (n = 25)	p-Wert
Alter (Jahre) ^{ab}	28.3 \pm 0.59	30.2 \pm 0.89	0.128
BMI (kg/m ²) ^{ab}	31.0 \pm 0.83	34.6 \pm 1.39	0.042
WHR ^{ab}	0.80 \pm 0.008	0.86 \pm 0.01	0.001
Hüftumfang (cm) ^{ab}	89.4 \pm 1.9	101.7 \pm 3.1	0.003
HOMA %B ^a	168.0 \pm 9.4	194.4 \pm 15.9	0.182
Nüchternglukose (mmol/l) ^a	4.57 \pm 0.07	4.81 \pm 0.12	0.097
LH (U/l) ^a	8.9 \pm 0.6	7.0 \pm 0.8	0.109
DHEAS (μ mol/l) ^a	7.29 \pm 0.27	8.64 \pm 0.81	0.160
Androstenedion (nmol/l) ^a	8.1 \pm 0.3	9.1 \pm 0.7	0.152
Cholesterin ges. (mmol/l) ^a	4.8 \pm 0.1	5.0 \pm 0.3	0.564
HDL (mmol/l) ^a	1.39 \pm 0.05	1.1 \pm 0.06	0.004
LDL (mmol/l) ^a	3.0 \pm 0.09	3.3 \pm 0.22	0.110
Triglyzeride (mmol/l) ^a	1.21 \pm 0.07	2.38 \pm 0.39	0.007
hsCRP (mg/l)	3.56 \pm 0.56	6.41 \pm 1.98	0.087
HOMA %S	82.97 \pm 5.54	48.24 \pm 3.85	0.001
HOMA-IR	2.79 \pm 0.23	4.16 \pm 0.51	0.001
Insulin (nüchtern) (pmol/l)	92.77 \pm 6.78	131.1 \pm 12.23	< 0.001
Proinsulin (nüchtern) (pmol/l)	11.44 \pm 1.72	22.64 \pm 5.00	<0.001
Proinsulin/Insulin	0.12 \pm 0.01	0.16 \pm 0.02	0.006
Testosteron ges. (nmol/l)	3.26 \pm 0.14	3.92 \pm 0.24	0.010
LH/ FSH	1.89 \pm 0.21	1.52 \pm 0.18	0.444
Östradiol (pmol/l)	257.5 \pm 33.1	193.1 \pm 16.7	0.675
Progesteron (nmol/l)	4.7 \pm 1.1	3.9 \pm 1.4	0.931
SHBG (nmol/l)	55.93 \pm 4.94	30.44 \pm 3.76	0.009
17-OH-Progesteron (nmol/l)	2.42 \pm 0.16	2.25 \pm 0.21	0.693
RR syst (kPa) ^b	17.0 \pm 0.2	17.7 \pm 0.6	0.344
RR diast (kPa) ^b	10.7 \pm 0.1	11.6 \pm 0.4	0.053
ACTH (pmol/l)	3.96 \pm 0.22	4.62 \pm 0.44	0.385
Cortisol (nach 1 mg Dexamethason, nmol/l)	19.31 \pm 4.14	26.21 \pm 8.0	0.475
TSH (μ U/ml)	1.73 \pm 0.14	2.27 \pm 0.35	0.12
Familienanamnese für Typ 2 Diabetes ^b	33 (35.5%)	12 (48%)	0.30
Metabolisches Syndrom	18 (19.4%)	12 (48%)	0.005
Raucher ^b	6 (6.5%)	1 (4%)	0.54

Entscheidungsbaummodelle wurden zunächst auf dem Boden aller erhobener Variablen kalkuliert. In einem zweiten Schritt wurden die Variablen beschränkt auf anamnestische Angaben und einfach zu erhebende klinische Parameter.

Der am besten geeignete Entscheidungsbaum bestand nacheinander aus HOMA-IR, einem Parameter der Insulinresistenz, dem Verhältnis aus Proinsulin/Insulin, Proinsulin, 17-OH-Progesteron und dem Verhältnis aus LH/FSH (luteinisierendes Hormon/ Follikel stimulierendes Hormon). Dieser Baum konnte 69 Frauen mit normalem Glukosemetabolismus separieren. Unter den restlichen 49 Frauen waren alle 25 Frauen mit gestörtem Glukosestoffwechsel (IGM). Der Entscheidungsbaum wurde überprüft mit einer „leave-10%-out“-Kreuzvalidierung. Hier ergab sich einerseits eine starke Konsistenz in den Entscheidungen und andererseits wurden im Mittel in 10 solcher „leave-10%-out“-Kreuzvalidierungen nur 5,4 Frauen mit IGM falsch eingeteilt. Anschließend wurde dieser Entscheidungsbaum von Hand weiter auf 3 Stufen gekürzt (an der Pruninglinie). Dieser gekürzte Baum benutzt nacheinander die Parameter HOMA-IR, das Verhältnis Proinsulin/Insulin und Proinsulin und erlaubt 53 Frauen mit NGT abzutrennen. Unter den verbliebenen 65 PCOS-Frauen waren alle 25 Frauen mit IGM (Abbildung 11). Damit kann mit der Bestimmung von Nüchternblutzucker, Insulin und Proinsulin und der Berechnung des HOMA-IR aus Nüchterblutzucker und Insulin ($(\text{Insulin (mU/l)}/\text{Blutzucker (mmol/l)}/22,5)$) die Zahl der notwendigen OGTT's um etwa 50% reduziert werden (Möhlig et al. (163)).

Abbildung 11

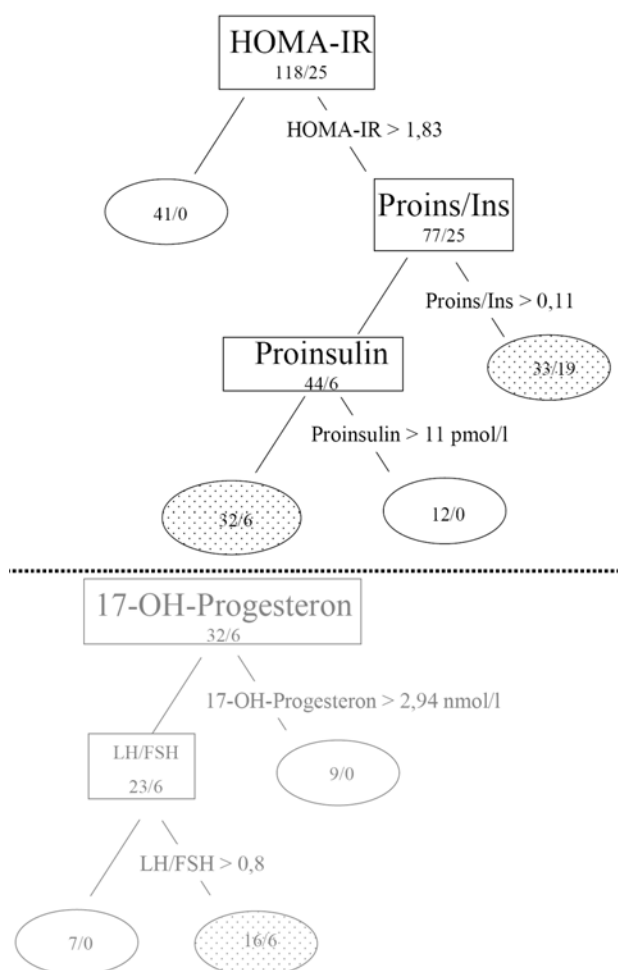


Abb 11: Der best mögliche Entscheidungsbaum basierend auf allen Parametern der Tabelle 3. Die horizontale Linie gibt die manuelle Pruninglinie an. x/y geben die Gesamtzahl an PCOS-Frauen/Frauen mit IGM an. In den unterlegten Blättern sind noch Frauen mit IGM enthalten, in den weißen Blättern sind nur noch Frauen mit NGT enthalten (Möhlig et al (163)).

Der erste Entscheidungspunkt, der die wichtigste Diskriminierungsvariable darstellt, ist HOMA-IR, ein Parameter, der Insulinresistenz beschreibt. Damit bestätigen die Entscheidungsbaummodelle unsere vorherigen Berechnungen, die Insulinresistenz als best geeigneten Parameter gezeigt haben, um innerhalb

der PCOS-Frauen mit normalem Nüchternblutzucker Frauen mit gestörtem von solchen mit normalem Glukosestoffwechsel zu diskriminieren (Möhlig et al. (135)).

In einer zweiten Analyse wurde die Datenmatrix zur Berechnung der Entscheidungsbaummodelle auf anamnestische und einfache klinische Variablen beschränkt (Tabelle 3). Der beste Entscheidungsbaum basierend auf dieser Datenmatrix benutzte den BMI, den Hüftumfang und die Waist-Hip-Ratio (WHR) (Möhlig et al. (163)). Dieser Baum trennte 30 PCOS-Frauen mit NGT ab. Innerhalb der verbliebenen 88 Frauen waren die 25 Frauen mit gestörtem Glukosestoffwechsel (IGM).

Abbildung 12

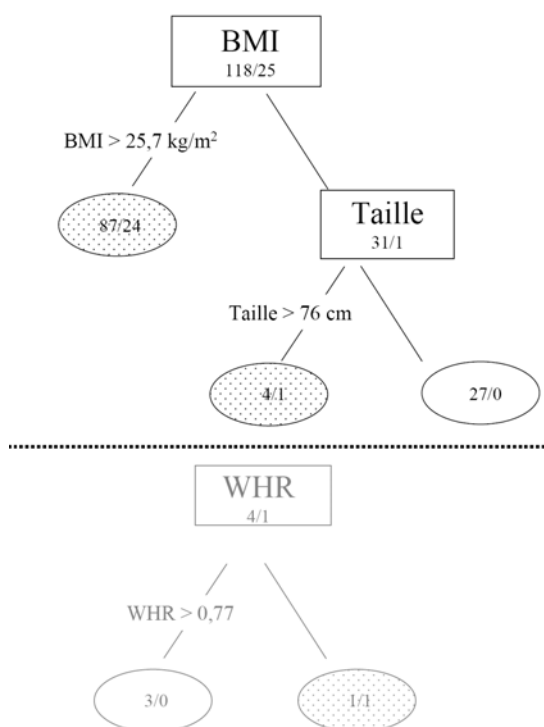


Abb 12: Der beste Entscheidungsbaum basierend auf den anamnestischen und klinischen Parametern, markiert mit b in Tabelle 3. Die horizontale Linie gibt die manuelle Pruninglinie an. x/y geben die Gesamtzahl an PCOS-Frauen/Frauen mit IGM an. In den unterlegten Blättern sind Frauen mit IGM enthalten, in den weißen Blättern sind nur noch Frauen mit NGT enthalten (Möhlig et al. (163)).

Auch dieses Modell konnte in der Kreuzvalidierung ein starkes Maß an Konsistenz zeigen und nur 3,6 Frauen mit gestörtem Glukosestoffwechsel wurden im Mittel innerhalb von 10 „leave-10%-out“-Kreuzvalidierungen missklassifiziert. Ein weiteres manuelles Pruning zu zwei Entscheidungsniveaus erlaubte 27 Frauen mit normaler Glukosetoleranz zu separieren (Abbildung 12). Damit ist dieser Baum deutlich weniger effektiv als der oben beschriebene best erreichbare Entscheidungsbaum. Andererseits erlauben die einfach zu erhebenden Parameter BMI und Hüftumfang immer noch ca. 23% der notwendigen OGTT's einzusparen.

Entscheidungsbaumalgorithmen können somit helfen, die Zahl der notwendigen OGTT's bei Frauen mit PCO-Syndrom zu reduzieren. Abhängig von den individuellen Notwendigkeiten können verschiedene Entscheidungsbäume genutzt werden. Ein sehr aufwendiger Baum, der die Bestimmung von Nüchternblutzucker, Nüchterninsulin und Nüchternproinsulin benötigt, könnte 50% der OGTT's einsparen. Ein sehr einfacher Entscheidungsbaum, der nur Größe, Gewicht und Hüftumfang nutzt, und der sehr schnell und günstig durchführbar ist, könnte immer noch fast ein Viertel an OGTT's einsparen.

Entscheidungsbaumalgorithmen, die einfache Parameter nutzen, könnten auch für die Allgemeinbevölkerung sinnvoll sein und könnten helfen, das Screening künftig schneller und einfacher werden zu lassen.

4. Danksagung

Danken möchte ich allen, die bei den Experimenten mitgearbeitet haben oder durch Gesprächsbereitschaft und anregende Diskussion mitgeholfen haben, neue Ideen zu generieren.

Ganz besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Pfeiffer für die langjährige wissenschaftliche Begleitung und seine stetige Unterstützung und Motivation.

Herrn PD Dr. Mayer danke ich dafür, dass er ursprünglich mein Interesse für die Forschung geweckt hat.

Herrn Prof. Dr. Ristow, Herrn Prof. Dr. Schöfl, Herrn PD Dr. Spranger, Herrn Dr. Osterhoff und Herrn Dr. Weickert danke ich für Ihre stete Diskussionsbereitschaft und Unterstützung.

Allen Mitarbeitern der Abteilung Klinische Ernährung des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung und der Abteilung für Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin der Charité-Universitätsmedizin Berlin sowie den Kooperationspartnern danke ich für die immer sehr gute Zusammenarbeit.

Ganz besonders danken möchte ich aber meinen Eltern und meiner Familie für die geduldige Nachsicht und die große Unterstützung.

5. Literatur

1. Kopelman PG: Obesity as a medical problem. *Nature*. 2000 404 635-643.
2. Hinney A, Schmidt A, Nottebom K, Heibult O, Becker I, Ziegler A, Gerber G, Sina M, Gorg T, Mayer H, Siegfried W, Fichter M, Remschmidt H & Hebebrand J: Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 84 1483-1486.
3. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB & O'Rahilly S: Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997 387 903-908.
4. Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G & Gruters A: Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet* 1998 19 155-157.
5. Alberti KG & Zimmet PZ: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998 15 539-553.
6. Kylin E: Studien über das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämiesyndrom. *Zentralbl Inn Med* 1923 44 105-127.
7. Vague J: La différenciation sexuelle, facteur déterminant des formes de l'obésité. *Presse Med* 1947 53 339-340.
8. Avogaro P & Crepaldi G: Essential hyperlipidemia, obesity and diabetes. *Diabetologia*. *Diabetologia* 1965 1 137.
9. Reaven GM: Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988 37 1595-1607.
10. Ford ES, Giles WH & Dietz WH: Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Jama* 2002 287 356-359.
11. Klein BE, Klein R & Lee KE: Components of the metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease and diabetes in beaver dam. *Diabetes Care* 2002 25 1790-1794.

12. Weyer C, Hanson K, Bogardus C & Pratley RE: Long-term changes in insulin action and insulin secretion associated with gain, loss, regain and maintenance of body weight. *Diabetologia*. 2000 43 36-46.
13. Pyorala M, Miettinen H, Laakso M & Pyorala K: Hyperinsulinemia predicts coronary heart disease risk in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Circulation*. 1998 98 398-404.
14. Hu FB, Stampfer MJ, Haffner SM, Solomon CG, Willett WC & Manson JE: Elevated risk of cardiovascular disease prior to clinical diagnosis of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2002 25 1129-1134.
15. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N & Mingrone G: Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *J Clin Invest*. 1997 100 1166-1173.
16. Greenberg AS & Obin MS: Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr*. 2006 83 461S-465S.
17. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL & Ferrante AW, Jr.: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003 112 1796-1808.
18. Linder K, Arner P, Flores-Morales A, Tollet-Egnell P & Norstedt G: Differentially expressed genes in visceral or subcutaneous adipose tissue of obese men and women. *J Lipid Res* 2004 45 148-154.
19. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S & Coppack SW: Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 82 4196-4200.
20. Di Rocco P, Manco M, Rosa G, Greco AV & Mingrone G: Lowered tumor necrosis factor receptors, but not increased insulin sensitivity, with infliximab. *Obes Res* 2004 12 734-739.
21. Hotamisligil GS, Shargill NS & Spiegelman BM: Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993 259 87-91.
22. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA, McCamish MA & O'Rahilly S: Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med* 1999 341 879-884.

23. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, Sanna V, Jebb SA, Perna F, Fontana S, Lechler RI, DePaoli AM & O'Rahilly S: Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest* 2002 110 1093-1103.
24. Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K, Dixon RM, Kushner R, Hunt T, Lubina JA, Patane J, Self B, Hunt P & McCamish M: Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *Jama* 1999 282 1568-1575.
25. Stepan CM & Lazar MA: Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2002 13 18-23.
26. Nagaev I & Smith U: Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 285 561-564.
27. Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC & Sharma AM: Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res* 2002 10 1-5.
28. Vozarova de Courten B, Degawa-Yamauchi M, Considine RV & Tataranni PA: High serum resistin is associated with an increase in adiposity but not a worsening of insulin resistance in Pima Indians. *Diabetes* 2004 53 1279-1284.
29. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G & Lodish HF: A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995 270 26746-26749.
30. Hu E, Liang P & Spiegelman BM: AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1996 271 10697-10703.
31. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y & Matsubara K: cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996 221 286-289.
32. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE & Tataranni PA: Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86 1930-1935.
33. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, Arita Y, Okamoto Y, Shimomura I, Hiraoka H, Nakamura T, Funahashi T & Matsuzawa Y: Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003 23 85-89.

34. Engeli S, Feldpausch M, Gorzelniak K, Hartwig F, Heintze U, Janke J, Möhlig M, Pfeiffer AF, Luft FC & Sharma AM: Association Between Adiponectin and Mediators of Inflammation in Obese Women. *Diabetes* 2003 52 942-947.
35. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P & Kadowaki T: The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotatropy and obesity. *Nat Med* 2001 7 941-946.
36. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M & Scherer PE: The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 2001 7 947-953.
37. Combs TP, Berg AH, Obici S, Scherer PE & Rossetti L: Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest* 2001 108 1875-1881.
38. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R & Kadowaki T: Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003 423 762-769.
39. Wu X, Motoshima H, Mahadev K, Stalker TJ, Scalia R & Goldstein BJ: Involvement of AMP-activated protein kinase in glucose uptake stimulated by the globular domain of adiponectin in primary rat adipocytes. *Diabetes* 2003 52 1355-1363.
40. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC & Krakoff J: Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet* 2002 360 57-58.
41. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H & Pfeiffer A: Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2003 361 226-228.
42. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB & Rimm EB: Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *Jama* 2004 291 1730-1737.
43. Möhlig M, Wegewitz U, Osterhoff M, Isken F, Ristow M, Pfeiffer AF & Spranger J: Insulin decreases human adiponectin plasma levels. *Horm Metab Res* 2002 34 655-658.

44. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M & Paschke R: Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 290 1084-1089.
45. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R & Giugliano D: Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA* 2003 289 1799-1804.
46. Kopp HP, Krzyzanowska K, Möhlig M, Spranger J, Pfeiffer AF & Schernthaner G: Effects of marked weight loss on plasma levels of adiponectin, markers of chronic subclinical inflammation and insulin resistance in morbidly obese women. *Int J Obes (Lond)* 2005 29 766-771.
47. Corpeleijn E, Saris WH, Jansen EH, Roekaerts PM, Feskens EJ & Blaak EE: Postprandial interleukin-6 release from skeletal muscle in men with impaired glucose tolerance can be reduced by weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 90 5819-5824.
48. Pedersen BK, Ostrowski K, Rohde T & Bruunsgaard H: The cytokine response to strenuous exercise. *Can J Physiol Pharmacol*. 1998 76 505-511.
49. Fernandez-Real JM, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell J & Ricart W: Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86 1154-1159.
50. Bastard JP, Maachi M, Van Nhieu JT, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A, Robert JJ, Capeau J & Hainque B: Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 87 2084-2089.
51. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD & Burt D: NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia* 1997 40 1286-1292.
52. Ebstein W: [About the Therapy of Diabetes Mellitus, especially about the Use of Sodium Salicylate]. *Berliner Klinische Wochenschrift* 1876 24 337-340.
53. Giugliano D, Sacca L, Scognamiglio G, Ungaro B & Torella R: Influence of acetylsalicylic acid on glucose turnover in normal man. *Diabete Metab* 1982 8 279-282.
54. Newman WP & Brodows RG: Aspirin causes tissue insensitivity to insulin in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 1983 57 1102-1106.

55. Bratusch-Marrain PR, Vierhapper H, Komjati M & Waldhausl WK: Acetylsalicylic acid impairs insulin-mediated glucose utilization and reduces insulin clearance in healthy and non-insulin-dependent diabetic man. *Diabetologia* 1985 28 671-676.
56. Hundal RS, Petersen KF, Mayerson AB, Randhawa PS, Inzucchi S, Shoelson SE & Shulman GI: Mechanism by which high-dose aspirin improves glucose metabolism in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2002 109 1321-1326.
57. Boden G: Free fatty acids-the link between obesity and insulin resistance. *Endocr Pract.* 2001 7 44-51.
58. Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F & Boden G: Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I κ B- α . *Diabetes* 2002 51 2005-2011.
59. Kim JK, Kim YJ, Fillmore JJ, Chen Y, Moore I, Lee J, Yuan M, Li ZW, Karin M, Perret P, Shoelson SE & Shulman GI: Prevention of fat-induced insulin resistance by salicylate. *J Clin Invest* 2001 108 437-446.
60. M \ddot{o} hlig M, Freudenberg M, Bobbert T, Ristow M, Rochlitz H, Weickert MO, Pfeiffer AFH & Spranger J: Acetylsalicylic Acid Improves Lipid-Induced Insulin Resistance in Healthy Men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 91 964-967.
61. Netea MG, Tack CJ, Netten PM, Lutterman JA & Van der Meer JW: The effect of salicylates on insulin sensitivity. *J Clin Invest* 2001 108 1723-1724.
62. Jiang G, Dallas-Yang Q, Liu F, Moller DE & Zhang BB: Salicylic acid reverses phorbol 12-myristate-13-acetate (PMA)- and tumor necrosis factor alpha (TNF α)-induced insulin receptor substrate 1 (IRS1) serine 307 phosphorylation and insulin resistance in human embryonic kidney 293 (HEK293) cells. *J Biol Chem* 2003 278 180-186.
63. Festa A, D'Agostino R, Jr., Howard G, Mykkanen L, Tracy RP & Haffner SM: Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000 102 42-47.
64. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE & Ridker PM: C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama* 2001 286 327-334.
65. Lindsay RS, Krakoff J, Hanson RL, Bennett PH & Knowler WC: Gamma globulin levels predict type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Diabetes* 2001 50 1598-1603.

66. Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ, Gaw A, Ford I, Lowe GD, O'Reilly DS, Packard CJ & Sattar N: C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes* 2002 51 1596-1600.
67. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H & Pfeiffer A: Inflammatory Cytokines and the Risk to Develop Type 2 Diabetes: Results of the Prospective Population-Based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes* 2003 52 812-817.
68. Thorand B, Lowel H, Schneider A, Kolb H, Meisinger C, Frohlich M & Koenig W: C-reactive protein as a predictor for incident diabetes mellitus among middle-aged men: results from the MONICA Augsburg cohort study, 1984- 1998. *Arch Intern Med* 2003 163 93-99.
69. Jove M, Planavila A, Laguna JC & Vazquez-Carrera M: Palmitate-induced interleukin 6 production is mediated by protein kinase C and nuclear-factor kappaB activation and leads to glucose transporter 4 down-regulation in skeletal muscle cells. *Endocrinology*. 2005 146 3087-3095. Epub 2005 Mar 3031.
70. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA & Mooney RA: Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. *Diabetes* 2002 51 3391-3399.
71. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Zimmers TA, Koniaris LG, Furlanetto RW & Mooney RA: Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem* 2003 278 13740-13746.
72. Rotter V, Nagaev I & Smith U: Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J Biol Chem* 2003 278 45777-45784.
73. Carey AL, Bruce CR, Sacchetti M, Anderson MJ, Olsen DB, Saltin B, Hawley JA & Febbraio MA: Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha are not increased in patients with Type 2 diabetes: evidence that plasma interleukin-6 is related to fat mass and not insulin responsiveness. *Diabetologia* 2004 47 1029-1037.
74. Escobar-Morreale HF, Villuendas G, Botella-Carretero JI, Sancho J & San Millan JL: Obesity, and not insulin resistance, is the major determinant of serum inflammatory cardiovascular risk markers in premenopausal women. *Diabetologia* 2003 46 625-633.

75. Möhlig M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Schlösser HW, Brabant G & Schöfl C: The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation. *Eur J Endocrinol* 2004 150 525-532.
76. Steensberg A, Fischer CP, Sacchetti M, Keller C, Osada T, Schjerling P, Hall Gv G, Febbraio MA & Pedersen BK: Acute interleukin-6 administration does not impair muscle glucose uptake or whole-body glucose disposal in healthy humans. *J Physiol* 2003 548 631-638.
77. Shimizu H, Ohtani K, Kato Y & Mori M: Interleukin-6 increases insulin secretion and preproinsulin mRNA expression via Ca²⁺-dependent mechanism. *J Endocrinol*. 2000 166 121-126.
78. German MS, Moss LG & Rutter WJ: Regulation of insulin gene expression by glucose and calcium in transfected primary islet cultures. *J Biol Chem*. 1990 265 22063-22066.
79. Holdstock JG, Aylwin SJ & Burrin JM: Calcium and glycoprotein hormone alpha-subunit gene expression and secretion in alpha T3-1 gonadotropes. *Mol Endocrinol*. 1996 10 1308-1317.
80. Raymond R & Millhorn D: Regulation of tyrosine hydroxylase gene expression during hypoxia: role of Ca²⁺ and PKC. *Kidney Int*. 1997 51 536-541.
81. Soderling TR: The Ca-calmodulin-dependent protein kinase cascade. *Trends Biochem Sci*. 1999 24 232-236.
82. Mayer P, Möhlig M, Schatz H & Pfeiffer A: New isoforms of multifunctional calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. *FEBS Lett* 1993 333 315-318.
83. Mayer P, Möhlig M, Schatz H & Pfeiffer A: Additional isoforms of multifunctional calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in rat heart tissue. *Biochem J* 1994 298 Pt 3 757-758.
84. Mayer P, Möhlig M, Seidler U, Rochlitz H, Fahrmann M, Schatz H, Hidaka H & Pfeiffer A: Characterization of gamma- and delta-subunits of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in rat gastric mucosal cell populations. *Biochem J* 1994 297 (Pt 1) 157-162.
85. Mayer P, Möhlig M, Idlibe D & Pfeiffer A: Novel and uncommon isoforms of the calcium sensing enzyme calcium/calmodulin dependent protein kinase II in heart tissue. *Basic Res Cardiol* 1995 90 372-379.

86. Möhlig M, Wolter S, Mayer P, Lang J, Osterhoff M, Horn PA, Schatz H & Pfeiffer A: Insulinoma cells contain an isoform of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II delta associated with insulin secretion vesicles. *Endocrinology* 1997 138 2577-2584.
87. Osterhoff M, Möhlig M, Schwanstecher M, Seufert J, Ortmann J, Schatz H & Pfeiffer AF: Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II delta2 regulates gene expression of insulin in INS-1 rat insulinoma cells. *Cell Calcium*. 2003 33 175-184.
88. Weigert C, Hennige AM, Lehmann R, Brodbeck K, Baumgartner F, Schauble M, Häring HU & Schleicher ED: Direct cross-talk of interleukin-6 and insulin signal transduction via insulin receptor substrate-1 in skeletal muscle cells. *J Biol Chem* 2006 281 7060-7067.
89. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S & Woo P: The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998 102 1369-1376.
90. Hulkkonen J, Pertovaara M, Anttonen J, Pasternack A & Hurme M: Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjogren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease. *Rheumatology (Oxford)* 2001 40 656-661.
91. Jones KG, Brull DJ, Brown LC, Sian M, Greenhalgh RM, Humphries SE & Powell JT: Interleukin-6 (IL-6) and the prognosis of abdominal aortic aneurysms. *Circulation* 2001 103 2260-2265.
92. Yang X, Jansson PA, Pellme F, Laakso M & Smith U: Effect of the interleukin-6 (-174) g/c promoter polymorphism on adiponectin and insulin sensitivity. *Obes Res*. 2005 13 813-817.
93. Klipstein-Grobusch K, Möhlig M, Spranger J, Hoffmann K, Rodrigues FU, Sharma AM, Klaus S, Pfeiffer AF & Boeing H: Interleukin-6 g.-174G>C promoter polymorphism is associated with obesity in the EPIC-Potsdam Study. *Obesity (Silver Spring)* 2006 14 14-18.
94. Berthier MT, Paradis AM, Tchernof A, Bergeron J, Prud'homme D, Despres JP & Vohl MC: The interleukin 6 -174G/C Polymorphism is associated with indices of obesity in men. *J Hum Genet* 2003 48 14-19.
95. Kubaszek A, Pihlajamaki J, Punnonen K, Karhapaa P, Vauhkonen I & Laakso M: The C-174G Promoter Polymorphism of the IL-6 Gene Affects Energy Expenditure and Insulin Sensitivity. *Diabetes* 2003 52 558-561.

96. Wallenius V, Wallenius K, Ahren B, Rudling M, Carlsten H, Dickson SL, Ohlsson C & Jansson JO: Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med.* 2002 8 75-79.
97. Möhlig M, Boeing H, Spranger J, Osterhoff M, Kroke A, Fisher E, Bergmann MM, Ristow M, Hoffmann K & Pfeiffer AF: Body mass index and C-174G interleukin-6 promoter polymorphism interact in predicting type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 89 1885-1890.
98. Herbert A, Liu C, Karamohamed S, Liu J, Manning A, Fox CS, Meigs JB & Cupples LA: BMI modifies associations of IL-6 genotypes with insulin resistance: the Framingham Study. *Obesity (Silver Spring).* 2006 14 1454-1461.
99. Qi L, van Dam RM, Meigs JB, Manson JE, Hunter D & Hu FB: Genetic variation in IL6 gene and type 2 diabetes: tagging-SNP haplotype analysis in large-scale case-control study and meta-analysis. *Hum Mol Genet.* 2006 15 1914-1920. Epub 2006 Apr 19 2006.
100. Huth C, Heid IM, Vollmert C, Gieger C, Grallert H, Wolford JK, Langer B, Thorand B, Klopp N, Hamid YH, Pedersen O, Hansen T, Lyssenko V, Groop L, Meisinger C, Doring A, Lowel H, Lieb W, Hengstenberg C, Rathmann W, Martin S, Stephens JW, Ireland H, Mather H, Miller GJ, Stringham HM, Boehnke M, Tuomilehto J, Boeing H, Möhlig M, Spranger J, Pfeiffer A, Wernstedt I, Niklason A, Lopez-Bermejo A, Fernandez-Real JM, Hanson RL, Gallart L, Vendrell J, Tsiavou A, Hatziaelaki E, Humphries SE, Wichmann HE, Herder C & Illig T: IL6 gene promoter polymorphisms and type 2 diabetes: joint analysis of individual participants' data from 21 studies. *Diabetes.* 2006 55 2915-2921.
101. Abizaid A, Gao Q & Horvath TL: Thoughts for food: brain mechanisms and peripheral energy balance. *Neuron.* 2006 51 691-702.
102. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ & Baskin DG: Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2000 404 661-671.
103. Cummings DE & Schwartz MW: Genetics and pathophysiology of human obesity. *Annu Rev Med.* 2003 54 453-471. Epub 2001 Dec 2003.
104. Cummings DE & Overduin J: Gastrointestinal regulation of food intake. *J Clin Invest.* 2007 117 13-23.
105. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L & Friedman JM: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994 372 425-432.
106. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H & Kangawa K: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 1999 402 656-660.

107. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K & Nakazato M: Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000 141 4255-4261.
108. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E & Heiman ML: Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*. 2001 50 707-709.
109. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE & Weigle DS: A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001 50 1714-1719.
110. Tschöp M, Smiley DL & Heiman ML: Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000 407 908-913.
111. Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillo WS, Seal LJ, Cohen MA, Batterham RL, Taheri S, Stanley SA, Ghatei MA & Bloom SR: Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 2001 50 2540-2547.
112. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillo WS, Ghatei MA & Bloom SR: Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86 5992.
113. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K & Matsukura S: Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 87 240-244.
114. Möhlig M, Spranger J, Otto B, Ristow M, Tschöp M & Pfeiffer AF: Euglycemic hyperinsulinemia, but not lipid infusion, decreases circulating ghrelin levels in humans. *J Endocrinol Invest* 2002 25 RC36-38.
115. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E & Boyadjian R: Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 87 3997-4000.
116. Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto C, De Cicco A, Parlanti N, Fanelli C, Santeusanio F, Bolli GB & De Feo P: Ghrelin is not necessary for adequate hormonal counterregulation of insulin-induced hypoglycemia. *Diabetes*. 2002 51 2911-2914.
117. Flanagan DE, Evans ML, Monsod TP, Rife F, Heptulla RA, Tamborlane WV & Sherwin RS: The influence of insulin on circulating ghrelin. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003 284 E313-316.

118. Schaller G, Schmidt A, Pleiner J, Woloszczuk W, Wolzt M & Luger A: Plasma ghrelin concentrations are not regulated by glucose or insulin: a double-blind, placebo-controlled crossover clamp study. *Diabetes*. 2003 52 16-20.
119. Spranger J, Ristow M, Otto B, Heldwein W, Tschop M, Pfeiffer AF & Möhlig M: Post-prandial decrease of human plasma ghrelin in the absence of insulin. *J Endocrinol Invest* 2003 26 RC19-22.
120. Murdolo G, Lucidi P, Di Loreto C, Parlanti N, De Cicco A, Fatone C, Fanelli CG, Bolli GB, Santeusano F & De Feo P: Insulin is required for prandial ghrelin suppression in humans. *Diabetes*. 2003 52 2923-2927.
121. Erdmann J, Topsch R, Lippl F, Gussmann P & Schusdziarra V: Postprandial response of plasma ghrelin levels to various test meals in relation to food intake, plasma insulin, and glucose. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 89 3048-3054.
122. Overduin J, Frayo RS, Grill HJ, Kaplan JM & Cummings DE: Role of the duodenum and macronutrient type in ghrelin regulation. *Endocrinology*. 2005 146 845-850. Epub 2004 Nov 2004.
123. English PJ, Ghatei MA, Malik IA, Bloom SR & Wilding JP: Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 87 2984.
124. Ludwig DS, Pereira MA, Kroenke CH, Hilner JE, Van Horn L, Slattery ML & Jacobs DR, Jr.: Dietary fiber, weight gain, and cardiovascular disease risk factors in young adults. *Jama*. 1999 282 1539-1546.
125. Möhlig M, Koebnick C, Weickert MO, Lueder W, Otto B, Steiniger J, Twilfert M, Meuser F, Pfeiffer AF & Zunft HJ: Arabinoxylan-enriched meal increases serum ghrelin levels in healthy humans. *Horm Metab Res*. 2005 37 303-308.
126. Weickert MO, Spranger J, Holst JJ, Otto B, Koebnick C, Möhlig M & Pfeiffer AF: Wheat-fibre-induced changes of postprandial peptide YY and ghrelin responses are not associated with acute alterations of satiety. *Br J Nutr*. 2006 96 795-798.
127. Cappiello V, Ronchi C, Morpurgo PS, Epaminonda P, Arosio M, Beck-Peccoz P & Spada A: Circulating ghrelin levels in basal conditions and during glucose tolerance test in acromegalic patients. *Eur J Endocrinol* 2002 147 189-194.
128. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES & Yildiz BO: The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 89 2745-2749.

129. Zawadzki JK & Dunaif A: Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. *In* Current issues in endocrinology and metabolism: polycystic ovary syndrome. Edited by A Dunaif, J Givens, F Haseltine and G Merriam. New York, Blackwell, 1992, pp 377-384.
130. PCOS Consensus Workshop Group: Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004 81 19-25.
131. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK & Imperial J: Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999 22 141-146.
132. Legro RS, Kusanman AR, Dodson WC & Dunaif A: Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 84 165-169.
133. Palmert MR, Gordon CM, Kartashov AI, Legro RS, Emans SJ & Dunaif A: Screening for abnormal glucose tolerance in adolescents with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 87 1017-1023.
134. Gambineri A, Pelusi C, Manicardi E, Vicennati V, Cacciari M, Morselli-Labate AM, Pagotto U & Pasquali R: Glucose intolerance in a large cohort of mediterranean women with polycystic ovary syndrome: phenotype and associated factors. *Diabetes* 2004 53 2353-2358.
135. Möhlig M, Spranger J, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Schlösser HW, Moltz L, Brabant G & Schöfl C: Predictors of abnormal glucose metabolism in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2006 154 295-301.
136. Franks S: Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995 333 853-861.
137. Dunaif A: Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997 18 774-800.
138. Burghen GA, Givens JR & Kitabchi AE: Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980 50 113-116.
139. Velazquez EM, Mendoza S, Hamer T, Sosa F & Glueck CJ: Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperandrogenemia, and systolic blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy. *Metabolism* 1994 43 647-654.

140. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, Fiorini S, Cognigni GE, Filicori M & Morselli-Labate AM: Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 85 2767-2774.
141. Haas DA, Carr BR & Attia GR: Effects of metformin on body mass index, menstrual cyclicity, and ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003 79 469-481.
142. Costello MF & Eden JA: A systematic review of the reproductive system effects of metformin in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003 79 1-13.
143. Moghetti P, Tosi F, Castello R, Magnani CM, Negri C, Brun E, Furlani L, Caputo M & Muggeo M: The insulin resistance in women with hyperandrogenism is partially reversed by antiandrogen treatment: evidence that androgens impair insulin action in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 81 952-960.
144. Beilin J, Ball EM, Favaloro JM & Zajac JD: Effect of the androgen receptor CAG repeat polymorphism on transcriptional activity: specificity in prostate and non-prostate cell lines. *J Mol Endocrinol* 2000 25 85-96.
145. Ibanez L, Ong KK, Mongan N, Jaaskelainen J, Marcos MV, Hughes IA, De Zegher F & Dunger DB: Androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in the development of ovarian hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 88 3333-3338.
146. Jaaskelainen J, Korhonen S, Voutilainen R, Hippelainen M & Heinonen S: Androgen receptor gene CAG length polymorphism in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005 83 1724-1728.
147. Vermeulen A, Verdonck L & Kaufman JM: A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 84 3666-3672.
148. Möhlig M, Jürgens A, Spranger J, Hoffmann K, Weickert MO, Schlösser HW, Schill T, Brabant G, Schüring A, Pfeiffer AF, Gromoll J & Schöfl C: The androgen receptor CAG repeat modifies the impact of testosterone on insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2006 155 127-130.
149. Villuendas G, San Millan JL, Sancho J & Escobar-Morreale HF: The -597 G-->A and -174 G-->C polymorphisms in the promoter of the IL-6 gene are associated with hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 87 1134-1141.

150. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM & Sattar N: Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86 2453-2455.
151. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 1998 352 854-865.
152. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998 352 837-853.
153. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukkaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V & Uusitupa M: Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001 344 1343-1350.
154. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA & Nathan DM: Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002 346 393-403.
155. Smith SC, Jr., Allen J, Blair SN, Bonow RO, Brass LM, Fonarow GC, Grundy SM, Hiratzka L, Jones D, Krumholz HM, Mosca L, Pasternak RC, Pearson T, Pfeffer MA & Taubert KA: AHA/ACC guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update: endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation*. 2006 113 2363-2372.
156. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, Eckel RH, Fair JM, Fortmann SP, Franklin BA, Goldstein LB, Greenland P, Grundy SM, Hong Y, Miller NH, Lauer RM, Ockene IS, Sacco RL, Sallis JF, Jr., Smith SC, Jr., Stone NJ & Taubert KA: AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases. American Heart Association Science Advisory and Coordinating Committee. *Circulation*. 2002 106 388-391.
157. Rathmann W, Haastert B, Icks A, Lowel H, Meisinger C, Holle R & Giani G: High prevalence of undiagnosed diabetes mellitus in Southern Germany: target populations for efficient screening. The KORA survey 2000. *Diabetologia*. 2003 46 182-189. Epub 2003 Feb 2003.

158. Lankisch M, Futh R, Schotes D, Rose B, Lapp H, Rathmann W, Haastert B, Gulker H, Scherbaum WA & Martin S: High prevalence of undiagnosed impaired glucose regulation and diabetes mellitus in patients scheduled for an elective coronary angiography. *Clin Res Cardiol.* 2006 95 80-87. Epub 2006 Jan 2016.
159. American Diabetes Association: Clinical practice recommendations 2002. *Diabetes Care* 2002 25 (Suppl 1) S1-147.
160. Kerner W, Brückel J & Böhm BO: Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. In *Evidenzbasierte Diabetes-Leitlinien DDG*. Edited by WA Scherbaum and W Kiess. Düsseldorf, Deutsche-Diabetes-Gesellschaft, 2004.
161. Schöfl C, Schill T, Geithövel F & Brabant G: Polyzystisches Ovarsyndrom und Insulinresistenz. *Deutsches-Ärzteblatt* 2004 101 A346-351.
162. World Health Organization: Laboratory Diagnosis and Monitoring of Diabetes Mellitus. *World Health Org* 2002 1-26.
163. Möhlig M, Flöter A, Spranger J, Weickert MO, Schill T, Schlösser HW, Brabant G, Pfeiffer AF, Selbig J & Schöfl C: Predicting impaired glucose metabolism in women with polycystic ovary syndrome by decision tree modelling. *Diabetologia* 2006 49 2572-2579.

6. Publikationen des Habilitanden zum Thema

1. Möhlig M, Flöter A, Spranger J, Weickert MO, Schill T, Schlösser HW, Brabant G, Pfeiffer AF, Selbig J & Schöfl C: Predicting impaired glucose metabolism in women with polycystic ovary syndrome by decision tree modelling. *Diabetologia* 2006 49 2572-2579.
2. Möhlig M, Spranger J, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Schlösser HW, Moltz L, Brabant G & Schöfl C: Predictors of abnormal glucose metabolism in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2006 154 295-301.
3. Möhlig M, Jürgens A, Spranger J, Hoffmann K, Weickert MO, Schlösser HW, Schill T, Brabant G, Schüring A, Pfeiffer AF, Gromoll J & Schöfl C: The androgen receptor CAG repeat modifies the impact of testosterone on insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2006 155 127-130.
4. Möhlig M, Freudenberg M, Bobbert T, Ristow M, Rochlitz H, Weickert MO, Pfeiffer AF & Spranger J: Acetylsalicylic acid improves lipid-induced insulin resistance in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 91 964-967.
5. Möhlig M, Koebnick C, Weickert MO, Lueder W, Otto B, Steiniger J, Twilfert M, Meuser F, Pfeiffer AF & Zunft HJ: Arabinoxylan-enriched meal increases serum ghrelin levels in healthy humans. *Horm Metab Res* 2005 37 303-308.
6. Möhlig M, Boeing H, Spranger J, Osterhoff M, Kroke A, Fisher E, Bergmann MM, Ristow M, Hoffmann K & Pfeiffer AF: Body mass index and C-174G interleukin-6 promoter polymorphism interact in predicting type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 89 1885-1890.
7. Möhlig M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Schlösser HW, Brabant G & Schöfl C: The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation. *Eur J Endocrinol* 2004 150 525-532.
8. Möhlig M, Wegewitz U, Osterhoff M, Isken F, Ristow M, Pfeiffer AF & Spranger J: Insulin decreases human adiponectin plasma levels. *Horm Metab Res* 2002 34 655-658.
9. Spranger J, Ristow M, Otto B, Heldwein W, Tschöp M, Pfeiffer AF & Möhlig M: Post-prandial decrease of human plasma ghrelin in the absence of insulin. *J Endocrinol Invest* 2003 26 RC19-22.

10. Möhlig M, Spranger J, Otto B, Ristow M, Tschöp M & Pfeiffer AF: Euglycemic hyperinsulinemia, but not lipid infusion, decreases circulating ghrelin levels in humans. *J Endocrinol Invest* 2002 25 RC36-38.
11. Möhlig M, Wolter S, Mayer P, Lang J, Osterhoff M, Horn PA, Schatz H & Pfeiffer A: Insulinoma cells contain an isoform of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II delta associated with insulin secretion vesicles. *Endocrinology* 1997 138 2577-2584.

7. Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde.

Die vorgelegte Habilitationsschrift wurde ohne fremde Hilfe verfasst. Die beschriebenen Ergebnisse wurden selbst gewonnen und die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur wurden vollständig angegeben.

Mir ist die geltende Habilitationsordnung bekannt.

Berlin, 30.05.2007