

# **Untersuchungen zur Rolle von NT-proANP und dessen Rezeptor NPR-A bei Adipositas**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Maria Koukou  
aus Thessaloniki, Griechenland

Gießen 2022

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen,  
Medizinische Klinik und Poliklinik III

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Schäffler
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Nils Ewald

Tag der Disputation: 02.12.2022

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b> .....	1
1.1.	Entdeckung– Historie.....	1
1.2.	Familie der natriuretischen Peptide.....	1
1.2.1.	ANP (atrial natriuretic peptide).....	1
1.2.2.	BNP (B-type natriuretic peptide).....	2
1.2.3.	CNP (C-type natriuretic peptide).....	3
1.3.	Rezeptoren.....	3
1.4.	Sekretion.....	4
1.5.	Abbau.....	4
1.6.	Wirkung.....	5
1.6.1.	Renale Wirkung.....	5
1.6.2.	Kardiovaskuläre Wirkung.....	5
1.6.3.	Knochenmetabolismus.....	6
1.6.4.	Metabolische Effekte.....	6
1.7.	Natriuretische Peptide und Adipositas.....	7
1.8.	Fibroblast growth factors (FGFs).....	8
<b>2.</b>	<b>Zielsetzung/Fragestellung</b> .....	10
<b>3.</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	11
3.1.	Verwendete Materialien.....	11
3.1.1.	Geräte.....	11
3.1.2.	Verbrauchsmaterial.....	12
3.1.3.	Chemikalien und Reagenzien.....	13
3.1.4.	Kit-Systeme .....	13
3.1.5.	Oligonukleotide .....	14
3.1.6.	Puffer und Lösungen.....	14
3.1.7.	Software.....	14
3.2.	ROBS Kohorte.....	15
3.3.	In vitro Methoden.....	17
3.3.1.	Messung von NT-proANP, FGF19 und FGF21 in humanem Blutserum .....	17
3.3.1.1.	Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).....	17
3.3.2.	Expressionsanalyse von NPR-A.....	18

3.3.2.1. RNA Isolierung aus Fettgewebeproben.....	18
3.3.2.2. Reverse Transkription.....	19
3.3.2.3. Quantitative Real-time PCR.....	19
3.4. Statistische Methoden.....	20
<b>4. Ergebnisse.....</b>	<b>21</b>
4.1. ROBS Kohorte.....	21
4.2. NT-proANP im Zeitpunkt V0.....	23
4.3. NPR-A Expression im Fettgewebe.....	26
4.4. NT-proANP im Arm der konservativen Therapie .....	30
4.5. NT-proANP und NPR-A Expression im Arm der operativen Therapie .....	33
4.6. Korrelation der NT-proANP-Spiegel mit FGF19 und FGF21 .....	37
<b>5. Diskussion.....</b>	<b>41</b>
5.1. Allgemeine Diskussion.....	41
5.2. Spezielle Diskussion.....	43
5.2.1. NT-proANP im Serum.....	43
5.2.1.1. NT-proANP und Geschlecht.....	43
5.2.1.2. NT-proANP und Alter.....	44
5.2.1.3. NT-proANP und BMI.....	45
5.2.1.4. NT-proANP und Triglyzeride.....	47
5.2.2. NPR-A Expression im Fettgewebe.....	48
5.2.3. NT-proANP und Gewichtsabnahme.....	51
5.2.4. NT-proANP und FGF19 und FGF21 .....	54
5.2.5. Fazit.....	55
<b>6. Zusammenfassung / Summary .....</b>	<b>58/60</b>
<b>7. Verzeichnisse.....</b>	<b>61</b>
7.1. Abkürzungsverzeichnis.....	61
7.2. Tabellenverzeichnis.....	63
7.3. Abbildungsverzeichnis.....	64
7.4. Literaturverzeichnis.....	67
7.5. Eigene Publikationen.....	100
<b>8. Ehrenwörtliche Erklärung.....</b>	<b>101</b>
<b>9. Danksagung.....</b>	<b>102</b>
<b>10. Anhang.....</b>	<b>103</b>
10.1. Ethikvotum.....	103

## **1. Einleitung**

### **1.1. Entdeckung - Historie**

Eine endokrine Funktion des Herzens wurde nach der Identifikation von Speichergranula in den atrialen Myozyten, ähnlich denen, welche man in den endokrinen Organen findet, angenommen [91, 110, 220]. Im Jahre 1956 wurde in der Studie von Henry et al. beschrieben, dass eine atriale Dehnung diuretische und natriuretische Effekte für die Homöostase des Blutvolumens hat [52, 84], und in der Studie von De Bold et al., dass die intravenöse Injektion von Extrakten aus atrialen Myozyten in Labormäusen zur Hypotension, Diurese und Natriurese führt [19, 52]. In den folgenden Jahren konnten mehrere Arbeitsgruppen die Existenz von ANP (atrial natriuretic peptide) beschreiben [20, 52, 62, 96, 97, 99, 166, 245] und einige Jahre später konnten das BNP (brain-type natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide) [236] und das CNP (C-type natriuretic peptide) [237] identifiziert werden [98].

### **1.2. Familie der natriuretischen Peptide**

Zu den natriuretischen Peptiden (NPs) gehören das ANP, das BNP und das CNP [142]. Eine biochemische Ringstruktur von 17 Aminosäuren und eine Disulfidbrücke finden sich in allen drei Peptiden [79, 198]. Ein spezifischer Amino-Terminus und Carboxy-Terminus sind bei ANP und BNP zu finden. Im Gegensatz zu diesen beiden existiert bei CNP kein spezifischer Carboxy-Terminus [169, 214, 220]. Die aktive Form der Peptide ergibt sich nach der Spaltung der sekretierten Pro-Hormonen durch Proteasen [199]. Das Urodilatin und das DNP (Dendroaspis natriuretic peptide) gehören auch zur Familie der natriuretischen Peptide. Bis dato sind ihre Wirkungen noch nicht weitergehend aufgeklärt [220] [85].

#### **1.2.1. ANP (atrial natriuretic peptide)**

Das humane ANP wird vom NPPA-Gen auf dem Chromosom 1 (Lokalisation: 1p36.21) kodiert [201, 242]. Der Hauptproduktionsort von ANP ist das atriale Myokardium, in dem man einen hohen Spiegel seiner mRNA nachweisen kann. In den kardialen Ventrikeln ist die Produktion ca. 250-1000mal geringer. Die ventrikuläre Expression spielt vor der Geburt und postpartal nur in pathologischen Situationen eine Rolle [160, 174].

Extrakardial, wie in Niere, Lunge, Nebenniere, Hoden, Hypophyse, Hypothalamus, wird das ANP in deutlich geringeren Mengen produziert [71, 150, 184, 192, 212]. Des Weiteren konnte überraschenderweise auch eine Expression im Fettgewebe identifiziert werden [72]. Das initial produzierte Präprohormon (preproANP), ein 151-Aminosäuren-Peptid, wird durch Spaltung zu proANP (Pro-atrial natriuretic peptide) verkürzt, ein Peptid mit 126-Aminosäuren. Dieses wird intrazellulär in Granula gespeichert [34, 161, 179, 201, 220]. Nach seiner Freisetzung aus den Granula wird das Prohormon durch Corin, ein Serinprotease des Herzens [268], in NT-proANP (N-terminal pro-atrial natriuretic peptide) und die biologisch aktive Form von ANP gespalten [79]. Das NT-proANP ist ein Peptid mit 98 Aminosäuren und das ANP-Molekül ein Peptid mit 28 Aminosäuren [3, 34, 157, 160, 198, 220, 232, 261]. Das NT-proANP findet sich in vierfach höherer Konzentration in Plasma, ist ein stabileres Molekül [76] und hat eine ca. zehnmal längere Halbwertszeit im Vergleich zu ANP [122, 246]. Das  $\beta$ -ANP, ein ANP-Dimer, welches im Rahmen einer Herzinsuffizienz detektiert werden kann, hat eine noch nicht vollständig geklärte Wirkung [160]. Das produzierte ANP erreicht die Zielorgane durch die Zirkulation [201] und bindet an kein plasmatisches Protein [76]. ANP weist nur geringfügige Unterschiede zwischen den verschiedenen Spezies auf [201].

### **1.2.2. BNP (B-type natriuretic peptide)**

Da das BNP erstmals im Schweinegehirn entdeckt wurde, wurde es initial als ``Brain-type natriuretic peptide`` bezeichnet [236]. Im Verlauf konnte aber das ventrikuläre Myokardium als Hauptsekretionsort identifiziert werden [155, 156, 211, 220]. Extrakardial wird es in Gehirn, Lunge, Niere, Aorta, Nebenniere [142] und Fettgewebe [168], allerdings in geringeren Konzentrationen, exprimiert. Das humane BNP wird vom NPPB-Gen auf dem Chromosom 1 (1p36.2) kodiert [201]. Das produzierte Präprohormon (preproBNP), ein 134-Aminosäuren-Peptid, wird zuerst zu proBNP, ein Peptid mit 108-Aminosäuren, und dann durch die Wirkung von Serinproteasen Furin und Corin in die aktive BNP-Form prozessiert, das 32 Aminosäuren enthält [79, 164, 201, 219, 220]. Im Gegensatz zu proANP wird BNP nicht in Granula gespeichert, sondern wird nach entsprechender Stimulation direkt sezerniert [46, 160, 198]. Dieses Molekül weist größere Unterschiede zwischen den Spezies auf [136, 142, 199].

### **1.2.3. CNP (C-type natriuretic peptide)**

Die erste Identifikation von CNP erfolgte ebenfalls im Schweinegehirn [237]. Im Verlauf konnte gezeigt werden, dass es hauptsächlich im vaskulären Endothelium und im ZNS produziert wird [79, 86, 116, 211, 239]. Ebenfalls befindet es sich in den Chondrozyten und scheint eine bedeutsame Rolle bei der endochondralen Ossifikation zu spielen [36, 123]. Das humane CNP wird vom NPPC-Gen auf dem Chromosom 2 kodiert [176, 177, 201]. Das CNP ist ein 22-Aminosäuren-Peptid ohne spezifischen Carboxy-Terminus [169, 220] und wird aus preproCNP, einem 126-Aminosäuren-Peptid, und proCNP, einem 103-Aminosäuren-Peptid, abgeleitet [244]. Das CNP weist keine Unterschiede zwischen den Spezies auf [201].

### **1.3. Rezeptoren**

Es gibt bislang drei identifizierte Rezeptoren, NPR-A (Natriuretic Peptide Receptor Type A), NPR-B (Natriuretic Peptide Receptor Type B) und NPR-C (Natriuretic Peptide Receptor Type C) [142, 160]. Bei NPR-A und NPR-B handelt es sich um homologe, transmembranöse, homodimere Rezeptoren, die intrazellulär mit einer Guanylylcyclase (GC) verbunden sind, welche nach der Bindung des Liganden am extrazellulären Ligandenbindungsbereich aktiviert wird. Als Folge kommt es zur vermehrten intrazellulären Produktion des Signalmoleküls cGMP (cyclic guanosine monophosphate) [79, 198, 220, 231, 254] und zur cGMP-abhängigen Aktivierung von Proteinkinasen, Phosphodiesterasen und Ionenkanälen [119, 190]. Die Wirkung von ANP und BNP erfolgt hauptsächlich durch die Bindung an NPR-A [161, 220]. Dieser Rezeptor hat eine höhere Affinität für ANP als für BNP [79]. Expressionsorte von NPR-A sind die glatten Gefäßmuskelfasern, das Endothelium, das Fettgewebe, die Niere, die Nebenniere, die Leber, das Gehirn sowie das Myokard [24, 199, 215, 220]. Das Gen, welches den humanen NPR-A kodiert, befindet sich auf dem Chromosom 1 [135]. Als Expressionsorte von NPR-B konnten die Chondrozyten, das Gehirn, die Lunge, das Herz, die Ovarien, die glatten Gefäßmuskelfasern [220, 223, 264] und das Fettgewebe [221] identifiziert werden. Das Gen für das humane NPR-B befindet sich auf dem Chromosom 9 [135]. Der NPR-B wird hauptsächlich parakrin durch CNP aktiviert [115, 220, 238]. Der extrazelluläre Teil von NPR-C ist homolog zu den extrazellulären Domänen von NPR-A und NPR-B. Intrazellulär besitzt dieser Rezeptor hingegen nur 37 Aminosäuren und hat

keine GC-Wirkung [66, 198, 201]. Der NPR-C wird durch ein Gen auf dem Chromosom 5 kodiert [13]. Der NPR-C spielt eine Rolle beim Abbau der natriuretischen Peptide [79, 137, 220]. Der Rezeptor wird hauptsächlich im Fettgewebe und in der Niere exprimiert [158, 220]. Der NPR-C bindet alle natriuretischen Peptide, aber er weist eine höhere Affinität für ANP auf [13, 220, 238]. Lange Exposition der Rezeptoren NPR-A und NPR-B gegenüber NPs führt zur Dephosphorylierung und vermindert ihre Aktivität [136, 137, 199]. Ihre Aktivität wird auch durch Proliferations- und Wachstumsfaktoren gehemmt [199].

#### **1.4. Sekretion**

Die Sekretion der NPs wird hauptsächlich durch mechanische atriale und ventrikuläre Dehnung stimuliert [21, 79, 136, 144, 160, 199]. Humorale Faktoren beeinflussen ebenfalls ihre Transkription und Sekretion. Als solche konnten das Endothelin, das Angiotensin II, adrenerge Agonisten und einige Zytokine identifiziert werden [51, 63, 64, 79, 102, 159, 160, 203, 208, 230]. Kortikoide stimulieren gleichfalls die Sekretion [45, 229]. Eine Stimulation durch das GLP-1 wurde bereits in der Literatur beschrieben [107]. Die Sekretion von ANP wird auch bei Hypoxie und Ischämie durch verschiedene Faktoren stimuliert [31, 32, 52, 129]. Das NO (nitric oxid) konnte als hemmender Faktor für die ANP-Sekretion identifiziert werden [52, 128, 213, 230]. Die cGMP-Erhöhung hemmt die ANP-Sekretion [127]. Östrogene wirken stimulierend und Androgene hemmend auf die NPs-Sekretion [43, 79].

#### **1.5. Abbau**

Der Abbau der natriuretischen Peptide erfolgt durch die Bindung am NPR-C und durch die Wirkung von extrazellulären Proteasen [104, 198, 220]. Das ANP hat in gesunden Menschen eine Halbwertszeit von ca. 2-3 Minuten [162, 220, 262]. Das CNP weist eine gleichfalls kurze Halbwertszeit von 2,6 min auf [89]. Die Halbwertszeit von BNP ist deutlich länger (ca. 20 Minuten) [155, 156, 220]. Der rezeptorabhängige Abbau der natriuretischen Peptide wurde im Jahr 1987 erstmals beschrieben [137]. Nach der Bindung der Liganden werden sie durch Endozytose in die Zelle transportiert und dort lysosomal degradiert [79, 173, 198]. Extrazellulär werden die natriuretischen Peptide



durch Proteasen abgebaut [198]. Die „neural endopeptidase neprilysin“ (NEP) ist ein extrazelluläres membrangebundenes Enzym, welches die natriuretischen Peptide bindet und degradiert [44, 198]. Das ANP wird an sieben Stellen gespalten. Die initiale Spaltung, welche zur Inaktivierung des Peptides führt, erfolgt an der Ringstruktur zwischen Cys7 und Phe8 [198, 260]. Das CNP wird ebenfalls an mehreren Stellen gespalten. Die initiale Spaltung erfolgt analog zu der Spaltung von ANP, zwischen Cys7 und Phe8 an der Ringstruktur [198, 260]. Für BNP hat Neprilysin eine niedrigere Affinität und kann die Bindung zwischen Cys7 und Phe8 nicht spalten [198, 260]. Eine Spaltung durch das Neprilysin ist erst nach der Spaltung von BNP in der Niere durch die Metalloprotease Meprin A möglich [193, 201]. NT-proANP und NT-proBNP scheinen aufgrund ihrer biochemischen Struktur nicht durch NPR-C abgebaut zu werden [47, 148, 220]. In vitro Daten legen weitere Abbaumechanismen der natriuretischen Peptide, wie eine mögliche Rolle von Dipeptidylpeptidase 4 (DPPIV) und Insulysin (IDE), einer Zinkmetalloprotease, [44] nahe. Diese Mechanismen sind aber noch nicht im Detail aufgeklärt.

## **1.6. Wirkung**

Es konnten bisher pleiotrope Wirkungen der natriuretischen Peptide identifiziert werden. Am besten untersucht sind die kardiovaskulären und renalen Wirkungen [220], die metabolischen Effekte sind Gegenstand aktueller Forschung.

### **1.6.1. Renale Wirkung**

Die NPs führen zur Diurese mit konsekutiver Erhöhung der GFR (glomerular filtration rate), renaler Vasodilatation und Natriurese. Es wurde auch die Hemmung des RAAS-Systems (Renin-Aldosteron-Angiotensin-System) durch ihre Wirkung beschrieben [188, 189, 199, 220, 253].

### **1.6.2. Kardiovaskuläre Wirkung**

Durch die NPR-A-Aktivierung und die nachfolgende Natriurese, Diurese, Vasodilatation, erhöhte endotheliale Permeabilität und RAAS-Hemmung spielen die NPs eine wichtige Rolle in der Blutdruckregulation [25, 111, 220, 222, 228, 265, 266, 160, 170, 188–190, 201, 202, 210]. Der NPR-B scheint im Gegenteil keine wichtige Rolle zu spielen, da bei

Mäusen das Fehlen von CNP oder NPR-B keinen Einfluss auf die Blutdruckwerte hat [36, 136, 201]. Bei Mäusen zeigte sich eine negative Korrelation zwischen ANP und Blutdruck [203]. In diesen Modellen zeigten sich beim Fehlen von ANP oder NPR-A höhere [94, 95, 133, 181] und bei gesteigerter Expression von NPs niedrigere Blutdruckwerte [52, 175, 235]. Diese Korrelation konnte auch bei Menschen beobachtet werden. Das Fehlen von NPR-A war mit Hypertonie assoziiert [165]. Die Aktivierung von NPR-A weist eine protektive Wirkung für die kardiale Hypertrophie auf. Beim Fehlen von NPR-A im Mäusen kam es zu einer signifikanten, von der Hypertonie unabhängigen kardialen Hypertrophie [48, 112, 114, 120, 132, 133, 136, 181, 201]. Das Fehlen von NPR-A war auch in Menschen mit kardialer Hypertrophie assoziiert [165, 249]. Die Aktivierung von NPR-A durch das BNP scheint zusätzlich die kardiale Fibrose zu hemmen [136, 201, 241]. Für das Remodeling des Myokards scheint die Aktivierung von NPR-B durch das CNP eine Rolle zu spielen [124, 201, 259].

### **1.6.3. Knochenmetabolismus**

Die Aktivierung von NPR-B durch CNP führt zu Knochenwachstum. Erhöhte CNP-Spiegel führten in Mäusen zu übermäßigem Skelett-Wachstum [92, 201, 263]. Im Gegenteil wurde bei fehlendem CNP oder NPR-B in Mäusen eine Störung der endochondrialen Ossifikation beobachtet [36, 136, 201, 247]. Auch in Menschen konnte eine Assoziation mit dem Knochenwachstum gezeigt werden. Bei Personen mit homologen NPR-B-Mutationen und nicht-funktionellem NPR-B zeigte sich vermindertes Skelett-Wachstum und die seltene „acromesomelic dysplasia, type Maroteaux“ [10]. Heterozygote Mutationen waren mit signifikant niedrigerer Körpergröße assoziiert [182].

### **1.6.4. Metabolische Effekte**

Die lipolytische Wirkung der NPs wurde erst im Jahre 2000 in der Arbeitsgruppe von Sengenès publiziert [226]. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden die Katecholamine als die Hauptregulatoren der Lipolyse angesehen [136, 220, 226]. Die katecholamininduzierte Lipolyse setzt die Aktivierung der  $\beta_3$ -adrenergen Rezeptoren voraus. Als Antwort kommt es zur Erhöhung von cAMP und Aktivierung von HSL (hormone sensitive lipase) und Perilipin [123, 220]. Die katecholaminabhängige Lipolyse kann durch Insulin gehemmt werden [93, 152, 220]. Die NP-induzierte Lipolyse erfolgt durch die Aktivierung von NPR-A und folgende cGMP-Erhöhung, welche zur Aktivierung von PKG (Protein Kinase G) führt. Als Folge werden Perilipin A und HSL aktiviert [16, 136, 152, 199, 203,

220, 225, 226]. Die NP-abhängige Lipolyse wird durch das Insulin nicht direkt gehemmt [136, 151, 152]. Eine indirekte Hemmung durch die Reduktion der NP-Spiegeln und die Expression von NPR-A und Erhöhung von NPR-C wurde schon diskutiert [163, 196, 220]. Die lipolytischen Effekte konnten bei allen drei NPs beobachtet werden, aber sie waren bei ANP im Vergleich zu BNP und CNP stärker ausgeprägt [226]. Dieser Effekt konnte nur in Primaten beobachtet werden. In anderen Spezies sowie aufgrund der höheren Expression von NPR-C und niedrigerer Expression von NPR-A konnte dies nicht beschrieben werden [220, 227]. Beim Fehlen von NPR-C in Mausmodellen konnten die NPs wiederum die Lipolyse induzieren [22]. Die katecholamin- und die NP-induzierte Lipolyse sind zwei an sich unabhängige Mechanismen, welche aber eine additive Wirkung aufweisen können [68, 151, 203].

Es wurde beschrieben, dass die NPs zur Lipidoxidation sowohl in vitro als auch in vivo führen können [17, 18, 57, 149, 203]. In den Muskelzellen steigt die Mitochondrien-Anzahl und die mitochondriale Respiration wird stimuliert [149, 220]. Es konnte auch beobachtet werden, dass die NPs den weißen Adipozyten einige Charakteristika der braunen Adipozyten verleihen [22, 220] und den Energieverbrauch steigern [220]. In zahlreichen Studien konnte eine Förderung der Insulinsekretion aus den B-Zellen und eine Hemmung der Glukagonsekretion durch die Wirkung der NPs gezeigt werden [18, 79, 207, 214, 220]. Diskutiert wurden eine Stimulation der B-Zellen-Funktion und eine Steigerung ihrer Größe [207, 220]. Die NPs scheinen durch mehrere mögliche Mechanismen eine protektive Rolle für die Entwicklung von Adipositas und Insulinresistenz zu haben [149, 154, 203, 220]. Die genaue Wirkung der NPs auf verschiedenen Adipokine ist noch nicht klar, trotzdem konnten einige Assoziationen bereits beschrieben werden [79, 105, 220, 248, 252]. Auf die Sekretion von Adiponektin wirken sie stimulierend [15, 220, 243], die Leptin-Sekretion wird dagegen gehemmt [58].

## **1.7. Natriuretische Peptide und Adipositas**

Bei Adipositas werden in einer großen Anzahl von Studien signifikant niedrigere Spiegel von NPs beobachtet [47, 143, 148, 214, 220, 240, 257]. Auch bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, welche insgesamt höhere NP-Spiegel aufweisen, konnte diese negative Assoziation der NPs mit dem Körpergewicht beobachtet werden [234]. Als Gründe wurden mehrere Mechanismen diskutiert: erhöhter Abbau durch NEP und NPR-

C [203, 257], welche bei Adipositas erhöht exprimiert werden [203], sowie eine primär verminderte NP-Sekretion [47]. Es konnte festgestellt werden, dass Adipositas bei einer Mutation von NPR-C, welche vermutlich zu reduzierter NPR-C-Aktivität und reduziertem Abbau der NPs führt, vermindert auftritt [218, 220]. Das Fehlen einer Korrelation oder eine positive Assoziation der NPs mit dem Gewicht wurde allerdings in einer kleinen Anzahl von Studien beobachtet [78, 220]. In adipösen Probanden wurde nach körperlicher Aktivität und nach Gewichtsabnahme eine gesteigerte ANP Sekretion beschrieben [2, 26, 28, 30, 141, 153, 214]. Die Rolle der niedrigen Insulinspiegel auf diesen Effekt wurde schon diskutiert [26, 220]. Das Wachstum von viszeralen Präadipozyten wird durch die Wirkung von NPs gehemmt [33, 216]. Eine hemmende Wirkung auf die Organverfettung konnte auch beschrieben werden [167, 220]. Das Fettgewebe scheint eine wichtige Rolle in der Regulation der NPs zu spielen. Die Rezeptoren NPR-A und NPR-C werden signifikant im menschlichen Fettgewebe exprimiert [49, 203, 215].

### **1.8. Fibroblast growth factors (FGFs)**

Zu der Familie der FGFs gehören insgesamt 22 strukturell ähnliche Proteine, aufgeteilt in 7 Subgruppen; FGF1, FGF4, FGF7, FGF8, FGF9, FGF11 und FGF19 [6, 53, 267]. Die Proteine FGF19, FGF21 und FGF23 gehören zur Gruppe FGF19 und haben endokrine Funktionen [53]. Sie binden an die Rezeptoren FGFR mit der Hilfe der Transmembranproteine der Familie Klotho, welche als Korezeptoren fungieren [6]. Die FGF19 und FGF21 Proteine binden an  $\beta$ -Klotho, welches in der Leber und im Fettgewebe exprimiert wird, und  $\gamma$ -Klotho, welche in den Augen, in der Niere und im Bindegewebe nachgewiesen wurde [53]. Das humane FGF19 ist ein Protein mit 216 Aminosäuren. Obwohl es im Jahr 1999 im embryonalen Gehirn erstmals entdeckt wurde [172], zeigt es bei Erwachsenen keine neuronale Aktivität [6]. Das humane FGF21 ist ein Protein von 209 Aminosäuren [6, 53, 171]. Seine Hauptsekretionsorte sind die Leber und das Fettgewebe. Eine Sekretion in den Muskeln, im Herz, in der Niere, im Pankreas und in den Hoden wurde auch beschrieben [6, 53]. Die Proteine der FGF19-Subgruppe regulieren die Produktion von Gallensäuren und weisen eine Rolle im Glukosestoffwechsel, im Lipidmetabolismus und in der Regulation von Vitamin D3 und Phosphat auf [53, 65, 267]. Das FGF19 stimuliert die Glykogen-Synthese und die

Insulinsensitivität, hemmt die Glukoneogenese und fördert die Produktion von braunen Adipozyten [6, 53, 109]. Das FGF21 wirkt positiv auf die Lipolyse und die Lipidoxidation und fördert die Transformation der weißen zu braunen Adipozyten [53]. FGF19 weist eine negative und FGF21 eine positive Korrelation mit dem Gewicht auf [53, 69, 267]. Daher ist eine molekulare Verschaltung von FGF-21/-19 mit dem Lipolyse-Pathway der NPs denkbar.

## **2. Zielsetzung der Arbeit**

In den letzten Jahrzehnten wurden die natriuretischen Peptide und ihre pleiotropen Wirkungen untersucht. Allerdings sind noch viele Mechanismen nicht vollständig aufgeklärt. Eine Assoziation der natriuretischen Peptide und ihrer Rezeptoren mit der Adipositas wurde beschrieben, ist aber noch unvollständig aufgeklärt. Ziel dieser Arbeit ist die Bestimmung der Konzentration von NT-proANP im Serum von adipösen Probanden mittels ELISA-Technik und die Untersuchung der Assoziation mit demographischen Charakteristika, dem BMI und der Lipid-Konzentration im Serum der Probanden. Weiterer Bestandteil dieser Arbeit ist die Bestimmung der Konzentration von NT-proANP im Serum mittels ELISA nach Gewichtsabnahme durch konservative und operative Maßnahmen. Anhand der Ergebnisse und der Veränderung der Konzentration nach Zeitpunkt, Ausmaß der Gewichtsreduktion und Therapiemethode können Rückschlüsse auf potenzielle Assoziationen gezogen werden. Des Weiteren soll die Expression des NPR-A in gepaarten Proben von subkutanem und viszeralem Fettgewebe adipöser Probanden bestimmt und ihre Assoziation mit der Konzentration von NT-proANP im Serum, mit dem Gewicht der Probanden und der erreichten Gewichtsreduktion nach Therapie überprüft werden.

In einer früheren Arbeit unserer Arbeitsgruppe [221] konnte gezeigt werden, dass die Konzentration von NT-proANP im Serum eine Korrelation mit der Konzentration von FGF19 und FGF21 im Serum aufweist. Dies sollte in dieser Arbeit in einem großen Kollektiv adipöser Patienten weiter untersucht werden.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Verwendete Materialien

##### 3.1.1. Geräte

In der folgenden Tabelle werden die verwendeten Geräte aufgelistet:

<b>Gerät</b>	<b>Hersteller</b>
Accu-Jet pro	BRAND GmbH
Flüssigstickstoffanlage ESPACE 600	AIR Liquide Karyotechnik
Gefrierschrank GP4013	Liebherr
GentleMACS-Dissociator	Miltenyi Biotec
Magnetrührer IKA RH basic 2	IKA
Microplate Spectrophotometer	Epoch, BIO-TEK
Micro-Volume Plate Take 3	BIO-TEK Instruments GmbH
Mikrozentrifuge, LLG-uniCFUGE 2	Lab Logistics Group GmbH
Mikroliterzentrifuge Mikro 200 R	Hettich
PCR Cycler T-Gradient Thermocycler,CFX Connect Real-Time System	BIO-RAD
Plattformschüttler Rotamax 120	Heidolph
Schüttelgerät ELISA Platten, MKR 13	Ditabis
T100 Thermal Cycler	BIO-RAD
Tischzentrifuge Mikro 120	Hettich
Vortex VTX-3000L	LMS
Waage ACJ 220-4M	KERN
Waage, EMB 500-I	KERN
Zentrifuge Rotina 380	Hettich
-80°C-Schrank HFU600TV	Thermo Fisher

**Tabelle 1:** Auflistung der verwendeten Geräte (Gerätetyp und Hersteller)

### 3.1.2. Verbrauchsmaterial

Die verwendeten Verbrauchsmaterialien werden in der folgenden Tabelle aufgelistet:

<b>Material</b>	<b>Hersteller</b>
Combitips (0,2ml, 0,5ml, 1ml, 5ml, 10ml)	Eppendorf
CryoPure Gefäß 1,6ml	Sarstedt
ELISA-Platte (96 Loch)	Corning Coster
Filtertips (10µl, 20µl, 100µl, 200µl)	Nerbe-plus
Filtertips (1250µl)	Biosphere
Gentle MACS M Tubes	Miltenyi Biotec
Hard-Shell 96-Well PCR Plates	BIO-RAD
Microplatte 96-Well	Greiner Bio-one
Multipette M4	Eppendorf
Multipette plus	Eppendorf
Multipette stream	Eppendorf
Multiply Pro 0,2ml	Sarstedt
Pipettenspitzen	Sarstedt
Pipettensatz	Eppendorf
Reaktionsgefäße (1,5ml, 2,0 ml)	Eppendorf
Serologische Einwegpipetten	Greiner Bio-one
Skalpell	pfmmedical
S-Monovette	Sarstedt
Tubes 50ml	Greiner Bio-one

**Tabelle 2:** Auflistung der verwendeten Verbrauchsmaterialien (Materialtyp und Hersteller)



### 3.1.3. Chemikalien und Reagenzien

In der folgenden Tabelle finden sich aufgelistet die verwendeten Chemikalien:

<b>Chemikalien</b>	<b>Hersteller</b>
Ethanol absolut	Chemsolut
Bovine Serum Albumin	Sigma-Aldrich
Freka NOL AF	Dr. Schumacher GmbH
Nuklease free water	Quiagen
PBS Dulbecco	Biochrom
Schwefelsäure 95-97%	Merck
Trichlormethan/Chloroform	Carl Roth GmbH
Trizol Reagent	Ambion
TWEEN 20	Carl Roth GmbH

**Tabelle 3:** Auflistung der verwendeten Chemikalien (Chemikaliertyp und Hersteller)

### 3.1.4. Kit-Systeme

In der folgenden Tabelle werden die verwendeten Kit-Systeme präsentiert:

<b>Kit-Systeme</b>	<b>Hersteller</b>
Human NT-proANP DuoSet ELISA	R&D Systems
Human FGF19 DuoSet ELISA	R&D Systems
Human FGF21 DuoSet ELISA	R&D Systems
iTaq Universal SYBR Green Supermix	Bio-Rad
Reverse Transcription Kit	QuantiTect, Quiagen
RNase-Free DNase Set	Qiagen
RNeasy Mini Kit (RNeasy MinElute Spin Columns, Collection Tubes, RNase-Free DNase I, Carrier RNA, RNase-Free Reagents and Buffers)	Qiagen
Substrate Reagent Pack	R&D Systems

**Tabelle 4:** Auflistung der verwendeten Kit-Systeme (Kitsystem und Hersteller)

### 3.1.5. Oligonukleotide

Die verwendeten Oligonukleotide für die quantitative PCR werden in der folgenden Tabelle aufgelistet:

<b>NPR-A (human)</b>	
forward	5'-GGAGATTGCCCTGAGGAGTG-3'
reverse	5'-TTGCTGCTGTTCTCCCTGTTA-3'
<b>GAPDH (human)</b>	
forward	5'-GAGTCCACTGGCGTCTTCAC-3'
reverse	5'-CCAGGGGTGCTAAGCAGTT-3'

**Tabelle 5:** Auflistung der verwendeten Primer-Paare für NPR-A (human) und GAPDH (human)

### 3.1.6. Puffer und Lösungen

In der folgenden Tabelle werden die verwendeten Puffer und Lösungen präsentiert:

<b>ELISA Wash Buffer</b>	0,05% Tween 20 in PBS
<b>ELISA Reagent Diluent</b>	1% BSA in PBS
<b>ELISA Stop Solution</b>	2N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

**Tabelle 6:** Auflistung der verwendeten Puffer und Lösungen

### 3.1.7. Software

Die verwendeten Software-Programme werden in der folgenden Tabelle aufgelistet:

<b>Bio-Rad CFX Manager</b>
<b>Gen 5 2.05</b>
<b>SPSS (IBM Statistics; Version 26.0)</b>

**Tabelle 7:** Auflistung der verwendeten Software-Programme

### 3.2. ROBS Kohorte

Bei dem ROBS-Kollektiv (Research in Obesity and Bariatric Surgery) [23] handelt es sich um adipöse Patienten, welche sich in der interdisziplinären Adipositasprechstunde des Adipositaszentrums Mittelhessen, Standort Giessen (UAZM), vorgestellt haben. Es handelt sich um eine unizentrische, nicht randomisierte, observative und longitudinale Studie, der Patienteneinschluss begann Anfang 2015. Den Patienten wurde, je nach Indikation und Patientenwunsch, die Teilnahme an dem Langzeitadipositasstherapieprogramm mittels strukturierter Formula-Diät über einen Zeitraum von 52 Wochen (Arm der konservativen Therapie) oder eine bariatrische Operation im Sinne von Roux-en-Y Magenbypass (RYGB) oder Schlauchmagen (vertical sleeve gastrectomy - VSG) (Arm der operativen Therapie) angeboten. Die Patienten wurden nach entsprechender Information und ausführlicher Aufklärung inklusive schriftlicher Einwilligungserklärung in die Studie eingeschlossen. Es besteht ein positives Ethikvotum an der Universität Gießen (Aktenzeichen 101/14). Die Teilnehmer waren Erwachsene (>18 Jahren) mit  $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ . Als Ausschlusskriterien galten das Nichterfüllen der Kriterien der Adipositas sowie Erkrankungen, welche die vorgesehenen Therapiemaßnahmen nicht erlaubten, z.B. instabile psychopathologische Zustände, aktive Substanzabhängigkeit, unbehandelte Bulimia nervosa, konsumierende Grunderkrankungen, Neoplasien, chronische Erkrankungen wie Leberzirrhose oder andere gesundheitlich einschränkende Erkrankungen. Zu dieser Kohorte gehörten 284 Probanden, 121 davon im Arm der konservativen Therapie und 163 davon im Arm der operativen Therapie. Es erfolgte eine Pseudonymisierung und die Probanden erhielten eine fortlaufende Nummer. Bei der ersten Vorstellung wurden anthropometrische Daten erhoben und eine Venenblutabnahme durchgeführt. Bei den bariatrisch operierten Patienten wurde subkutanes und viszerales Fettgewebe intraoperativ entnommen und in flüssigem Stickstoff noch im Operationssaal schockgefroren. Aus einem Teil des venös entnommenen Blutes wurde Blutserum durch Zentrifugation (4000 rpm, 15 min) gewonnen und anschließend bei  $-20^\circ\text{C}$  aufbewahrt. Es erfolgten regelmäßige Nachuntersuchungen mit Venenblutentnahmen und die Erhebung anthropometrischer Daten. Die asservierten Fettgewebsproben wurden bei  $-80^\circ\text{C}$  gelagert. Die Labormessungen erfolgten im Forschungslabor der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Schäffler (Medizinische Klinik und Poliklinik III, Universitätsklinik Gießen). Die klinisch-chemischen Routine-Parameter im Blut wurden vom Zentrallabor des

Universitätsklinikums Gießen gemessen. Die gesamten Daten wurden anonymisiert in einer SPSS 26.0 Datenbank eingetragen.

Im Ergebnisteil (s. u.) wird zu jeder Tabelle/Grafik die Anzahl der Probanden angegeben, da nicht alle Parameter für ausnahmslos jeden Probanden dokumentiert werden konnten.

Arm der konservativen Therapie (strukturierte Formula-Diät)

Visite	Zeitpunkt	
V0	Programmstart	+/-2 Wochen
V3	Nach 3 Monaten	+/-2 Wochen
V12	Nach 12 Monaten	+/-2 Wochen

**Tabelle 8:** Zeitpunkte der Untersuchungen der Probanden (in Monaten) im Arm der konservativen Therapie

Arm der operativen Therapie (Roux-en-Y gastric bypass, VSG)

Visite	Zeitpunkt	
V0	Einschluss präoperativ	0-6 Wochen
V1	4.-7. Postoperativer Tag	
V12	Nach 12 Monaten	+/-2 Wochen

**Tabelle 9:** Zeitpunkte der Untersuchungen der Probanden (in Monaten) im Arm der operativen Therapie

### **3.3. In vitro Methoden**

#### **3.3.1. Messung von NT-proANP, FGF19 und FGF21 in humanem Blutserum**

Die Messung von NT-proANP, FGF19 und FGF21 im Serum erfolgte mittels ELISA durch Anwendung von humanen Antikörpern. Jede Probe wurde im Duplikat gemessen.

##### **3.3.1.1. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)**

Der ELISA ist ein antikörperbasiertes Verfahren. Zum Nachweis des untersuchten Antigens benutzten wir das „Sandwich Prinzip“. Die ELISA-Mikrotiterplatte wurde mit dem spezifischen Capture-Antikörper über Nacht bei Raumtemperatur beschichtet. Die Lösung vom Capture-Antikörper erfolgte in 0,5 ml PBS. In jedes Well einer ELISA-Mikrotiterplatte wurden 50 µl vom verdünnten Antikörper gegeben. Der überschüssige Antikörper wurde am nächsten Tag durch Waschschriffe mit Waschpuffer (PBS + 0.05% Tween) entfernt und unspezifische Bindungsstellen mittels 1% BSA in PBS einfach blockiert. Nach einstündiger Inkubation unter Rotationsbewegungen und bei Raumtemperatur und erneutem Waschschriff wurden die Serumproben und die Standards, welche das nachzuweisende Antigen beinhalteten, als Duplikate auf die Mikrotiterplatte pipettiert. Die Lösung von Proteinstandard erfolgte mit 0,5 ml 1% BSA in PBS. Davon erfolgten weitere Verdünnungen mit einem Faktor von 0,4 in 1% BSA in PBS. Die Serumproben wurden in 1% BSA in PBS verdünnt eingesetzt. Die Verdünnung der Proben wurde abhängig von der Konzentration des Zielparameters sowie vom Messbereich des jeweiligen ELISA-Kits vorgenommen. Das untersuchte Antigen wurde vom Capture-Antikörper spezifisch gebunden. Nach zweistündiger Inkubation unter Rotationsbewegungen und einem anschließenden nochmaligen Waschschriff zur Entfernung des ungebundenen Materials wurde der spezifische biotinylierte Detektionsantikörper zugegeben und für weitere zwei Stunden unter Rotationsbewegungen bei Raumtemperatur inkubiert. Die Lösung des Detektionsantikörpers erfolgte mit 1 ml von 1% BSA in PBS. In jedes Well wurden 50 µl des verdünnten Antikörpers gegeben. Durch erneutes Waschen wurde der überschüssige Detektionsantikörper entfernt. Streptavidin-Horseradish Peroxidase 1:200 wurde dazugegeben und mit dem Antikörper gekoppelt. Nach 20-minütiger Inkubation (lichtgeschützt) unter Rotationsbewegungen bei Raumtemperatur erfolgte die Zugabe des chromogenen Substrats (1:1 Mischung von Chromogene A (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und B (Tetramethylbenzidin)). Das HRP katalysierte die enzymatische Farbreaktion. Nach ca.

30-60 Minuten lichtgeschützter Inkubation wurde die Enzymreaktion mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gestoppt. Zur Quantifizierung der Konzentration des untersuchenden Antigens in jeder Probe wurde die Optische Dichte photometrisch bei 450 nm und 540 nm gemessen. Mit Hilfe der Standardreihe mit bekannten Antigenkonzentrationen wurde aus der gemessenen optischen Dichte die Protein-Konzentration abgeleitet. Die Konzentrationen von NT-proANP und FGF19 konnten – den verwendeten Standardkurven entsprechend – zwischen 15,6 und 1000 pg/ml gemessen werden. Für FGF21 waren die Konzentrationsmessungsgrenzen 31,2 und 2000 pg/ml. Innerhalb der gemessenen Duplikate wurde ein Varianzkoeffizient <20% akzeptiert, bei größerer Abweichung wurde die Messung wiederholt.

### **3.3.2. Expressionsanalyse von NPR-A**

Die mRNA-Expression des Rezeptors NPR-A wurde in allen subkutanen und viszeralen Fettgewebeproben der Probanden des Arms der operativen Therapie, welche intraoperativ asserviert wurden, durch RNA-Isolation, Reverse Transkription und real-time PCR bestimmt.

#### **3.3.2.1. RNA-Isolierung aus Fettgewebeproben**

Die Fettgewebeproben wurden von -80°C, wo sie gelagert waren, auf Trockeneis genommen. In ein Miltenyi Gentle MACS Tube wurden ca. 90 mg Fettgewebeprobe eingewogen und mit 1 ml Trizol bedeckt. Die Probe wurde zerkleinert und homogenisiert mit Hilfe des GentleMACS-Dissociator (Programm RNA 2.1). Nach 5-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde das M-Tube bei 2000 rpm für 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Die Suspension wurde unter Zurücklassung des aufschwimmenden Fetts in ein Rnase-freies Reaktionsgefäß überführt. Dazu wurden 200 µl Chloroform gegeben. Das Gemisch wurde für 15 Sekunden kräftig geschüttelt und für drei Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach einem erneuten Zentrifugationsschritt für 15 Minuten bei 11200 rpm bei 4°C wurde die entstandene klare obere Phase in ein neues RNase-freies Reaktionsgefäß überführt und 1:1 mit 70% EtOH gut vermischt. Für die weiteren Schritte der RNA-Isolation wurde das Qiagen Rneasy Mini Kit benutzt. Das RNA-haltige Gemisch wurde in RNeasy Columns gegeben und für 30 Sekunden bei 10000 rpm bei Raumtemperatur zentrifugiert. Der Durchfluss wurde verworfen. Nach

Zugabe von 350 µl RW1 folgte eine Zentrifugation für 30 Sekunden bei 10000 rpm bei Raumtemperatur. Dann wurden 10 µl DNase und 70 µl RDD auf die Membran pipettiert. Nach 15-minütiger Inkubation erfolgte die Zugabe von 350 µl RW1 und die Zentrifugation für 30 Sekunden bei 10000 rpm bei Raumtemperatur. Folgend wurden 500 µl RPE dazugegeben und es erfolgte erneute Zentrifugation für 30 Sekunden bei 10000 rpm bei RT und anschließend 500 µl RPE und es fand eine Zentrifugation für 2 Minuten bei 10000 rpm bei Raumtemperatur statt. Jedes Mal wurde nach der Zentrifugation das Flow Through verworfen. Der RNeasy Column wurde in einem neuen RNase freien Reaktionsgefäß gesetzt und 40 µl RNase freies Wasser wurde in die Mitte der Membran pipettiert. Nach 1-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur erfolgte die Zentrifugation für 1 Minute bei 10000 rpm. Das Eluat wurde erneut auf die Säule gegeben und für 1 Minute bei 10000 rpm nochmals zentrifugiert. Die RNA wurde bis zur späteren Verwendung auf -80°C gelagert. Das RNA Gehalt wurde mittels Biotek Take3 Platte ermittelt.

### **3.3.2.2. Reverse Transkription**

Für die reverse Transkription wurden 300 ng der isolierten RNA benutzt und auf 12 µl mit Nuklease freiem Wasser aufgefüllt. Dazu wurden 2 µl gDNA Wipeout Buffer 7x zur Elimination des genomischen DNA gegeben. Der Ansatz wurde für 5 Minuten auf 42°C erhitzt und anschließend wieder auf Eis abgekühlt. Dann wurden 6 µl Reverse Transcription master mix (1 µl Quantiscript Reverse Transcriptase, 4 µl Quantiscript RT Buffer 5x, 1 µl RT Primer Mix) dazugegeben und der Ansatz für 15 Minuten auf 42°C zur Aktivierung der Transkription und für 3 Minuten auf 95°C zur Inaktivierung des Prozesses erhitzt. Anschließend wurde das synthetisierte cDNA wieder abgekühlt und bis zur späteren Verwendung bei -20°C eingefroren. Die Temperaturschritte der reversen Transkription erfolgten in einem T100<sup>TM</sup> Thermal Cycler BIO-RAD.

### **3.3.2.3. Quantitative Real-time PCR (qPCR)**

Die PCR erlaubt die Vervielfachung der nachzuweisende DNA-Sequenz. Jeder Zyklus besteht aus der Denaturierung- (Denaturation), der Hybridisierung- (Annealing) und der Kettenverlängerung- (Elongation) Phase. Die qPCR wurde mit dem iTaq Universal SYBR Green Supermix, welcher Puffer, DNA-Polymerase, dNTPs und SYBR Green enthält, und einem Real-Time-PCR-Gerät durchgeführt. Zu 4 µl synthetisiertem cDNA wurden 5 µl SYBR Green Supermix und 1 µl Primer Mix für das nachzuweisende Gen

dazugegeben. Der Ansatz wurde dann zur spezifischen Amplifikation der mRNA von humanem NPR-A wie folgend inkubiert:

- 95 °C, 10 sec
- 62 °C, 30 sec
- 72 °C, 20 sec

Durch dieses Protokoll wurden die cDNA zu Einzelsträngen denaturiert, die Primer hybridisiert und die Kettenverlängerung in Gang gesetzt. Während der Reaktion wurde am Ende jedes Zyklus die Fluoreszenz der Probe gemessen. Das Fluoreszenzsignal war analog zur DNA-Menge. Als Referenz-Gen wurde die GAPDH („housekeeping gene“) gemessen. Es erfolgte dann ein Mengenvergleich mit dem Referenz-Gen und damit eine relative Quantifizierung der zu untersuchenden Sequenz.

### **3.4. Statistische Methoden**

Alle Berechnungen wurden mit Hilfe des Programms SPSS (IBM Statistics; Version 26.0) durchgeführt. Nicht normalverteilte numerische Parameter wurden unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests (zum Vergleich 2er unabhängiger Variablen), des Kruskal-Wallis-Tests (> 2 unabhängige Variablen), des Wilcoxon-Tests (2 abhängige Variablen) oder des Friedman-Tests (> 2 abhängige Variablen) untersucht. Unterschiede mit einem p-Wert < 0,05 (zwei-seitig) wurden als statistisch signifikant angesehen. Korrelationsanalysen nicht normalverteilter Variablen wurden unter Verwendung des Spearman-rho-Tests und eines Signifikanzniveaus von 0,05 durchgeführt. Bei multiplen Testen mehrerer Subgruppen wurde auf die sog. Bonferroni-Korrektur geachtet.



## 4. Ergebnisse

### 4.1. ROBS Kohorte

Zu dieser Kohorte gehörten 284 Probanden, 121 davon im Arm der konservativen Therapie und 163 im Arm der operativen Therapie.

Die Probanden der konservativen Therapie waren 39 Männer und 82 Frauen, mit mittlerem Alter von 41,8 Jahren und einer Standardabweichung von 12,1 Jahren. Der BMI lag im Mittel bei  $43,41 \pm 5,89 \text{ kg/m}^2$ . Zu Beginn der Therapie betrug der Serumspiegel von NT-proANP im Mittel  $1452 \pm 2681 \text{ pg/ml}$ , von FGF19  $135,3 \pm 287,9 \text{ pg/ml}$  und von FGF21  $319,8 \pm 418,0 \text{ pg/ml}$ . Die Werte der Serumkonzentration von FGF19 und FGF21 waren in 118 und 119 Probanden entsprechend messbar.

Arm der konservativen Therapie (n=121)

	n(%)	Mean $\pm$ SD	Range
Alter (Jahre)	121 (100)	$41,8 \pm 12,1$	19 – 67
Männlich	39 (32,2)		
Weiblich	82 (67,8)		
BMI ( $\text{kg/m}^2$ )	121	$43,41 \pm 5,89$	29,65 – 62,11
Gewicht V0 (kg)	121	$128,5 \pm 22,1$	85,7 – 185,4
NT-proANP V0 (pg/ml)	121	$1452 \pm 2681$	69 – 18789
FGF19 V0 (pg/ml)	118	$135,3 \pm 287,9$	3,3 – 2545,2
FGF21 V0 (pg/ml)	119	$319,8 \pm 418,0$	14,7 – 3252,3

**Tabelle 10:** Charakteristika der Probanden des ROBS-Kollektivs (konservative Therapie). n=121, Zeitpunkt V0.

Im Arm der operativen Therapie waren 33 Männer und 130 Frauen, mit mittlerem Alter von 39,9 Jahren und einer Standardabweichung von 11,2 Jahren. Der Mittelwert für den BMI lag vor der bariatrischen Operation bei  $53,21 \pm 6,99 \text{ kg/m}^2$  und war somit höher als im konservativen Arm. Zum Zeitpunkt der ersten Vorstellung betrug der Mittelwert der Serumkonzentration für NT-proANP  $1891 \pm 4345 \text{ pg/ml}$ , für FGF19  $105,7 \pm 142,7 \text{ pg/ml}$  und für FGF21  $422,3 \pm 406,1 \text{ pg/ml}$ . Die Werte der Serumkonzentration für FGF19 und FGF21 waren in 159 bzw. 158 Probanden entsprechend messbar.

**Arm der operativen Therapie (n=163)**

	<b>n(%)</b>	<b>Mean <math>\pm</math> SD</b>	<b>Range</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	163 (100)	$39,9 \pm 11,2$	19 – 73
<b>Männlich</b>	33 (20,2)		
<b>Weiblich</b>	130 (79,8)		
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	163	$53,21 \pm 6,99$	40,16 – 83,68
<b>Gewicht V0 (kg)</b>	163	$153,1 \pm 26,2$	104,1 – 244,0
<b>NTproANP V0 (pg/ml)</b>	163	$1891 \pm 4345$	103 – 35331
<b>FGF19 V0 (pg/ml)</b>	159	$105,7 \pm 142,7$	5,7 – 925,3
<b>FGF21 V0 (pg/ml)</b>	158	$422,3 \pm 406,1$	17,3 – 2356,1

**Tabelle 11:** Charakteristika der Probanden des ROBS-Kollektivs (Bariatrische Operation). n=163, Zeitpunkt V0.

#### 4.2. Serum NT-proANP im Zeitpunkt V0

Zum Zeitpunkt der ersten Vorstellung zeigte sich kein signifikanter Unterschied des Mittelwertes der Serumspiegel von NT-proANP zwischen den Geschlechtern in beiden Armen der ROBS Kohorte (Tabelle 12).

<b>NT-proANP und Geschlecht</b>		
	<b>n</b>	<b>p</b>
<b>Arm der konservativen Therapie</b> (82 Frauen, 39 Männer)		
	121	0,126
<b>Arm der operativen Therapie</b> (130 Frauen, 33 Männer)		
	163	0,124

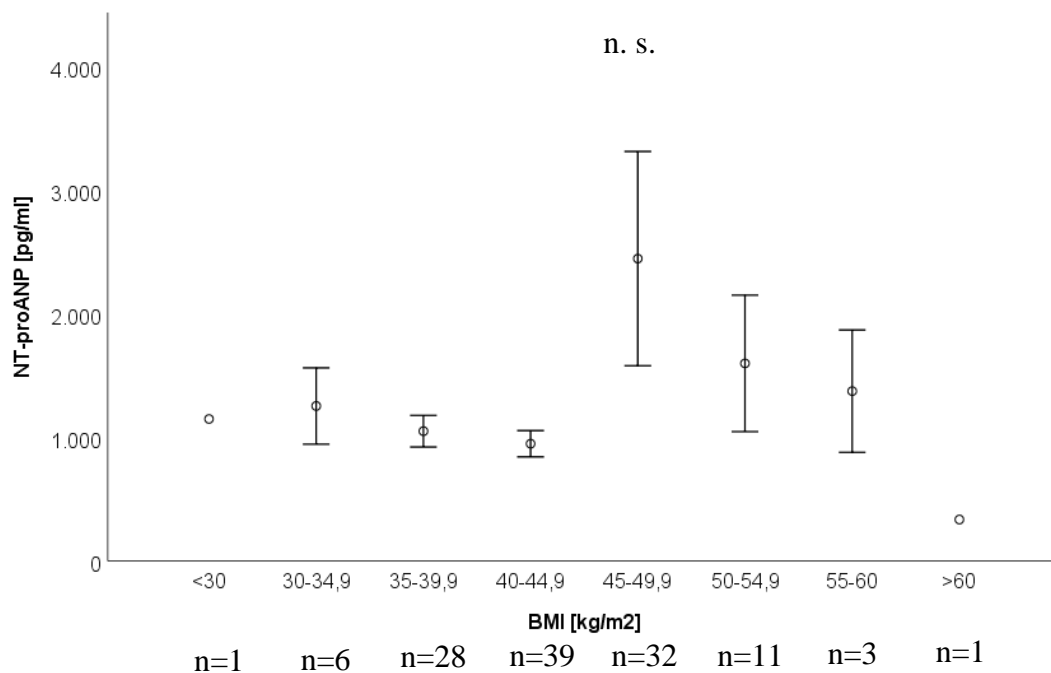
**Tabelle 12:** Kein Unterschied im Mittelwert von NT-proANP im Serum zwischen beiden Geschlechtern (Konservative Therapie und operative Therapie). Mann-Whitney-U-Test.

Bei der ersten Vorstellung zeigte sich zwischen der Serumkonzentration von NT-proANP und dem Alter der Probanden, auch nach Bereinigung für den BMI, eine zwar schwache, aber signifikante positive Korrelation in beiden Armen der ROBS Kohorte (Tabelle 13).

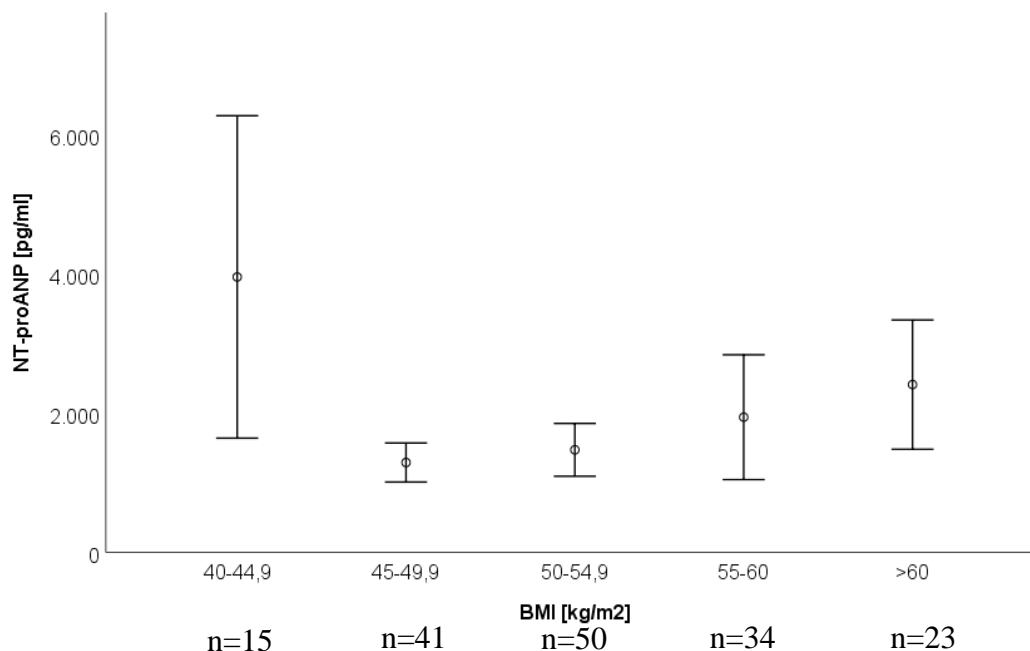
<b>NT-proANP und Alter (korrigiert für BMI)</b>			
	<b>n</b>	<b>rho</b>	<b>p</b>
<b>Arm der konservativen Therapie</b>			
	121	0,189	0,039
<b>Arm der operativen Therapie</b>			
	163	0,235	0,003

**Tabelle 13:** Korrelation des Mittelwertes von NT-proANP im Serum mit dem Alter (korrigiert für BMI) (Konservative Therapie und operative Therapie). Spearman-Test und partielle Korrelationsanalyse.

Zur Beurteilung einer Korrelation der Serumspiegel von NT-proANP mit dem BMI unterteilen wir die Probanden je nach BMI in Gruppen. Hier konnte keine signifikante Korrelation gezeigt werden. Dies galt für die Probanden beider Armen (Abb. 1 und 2).

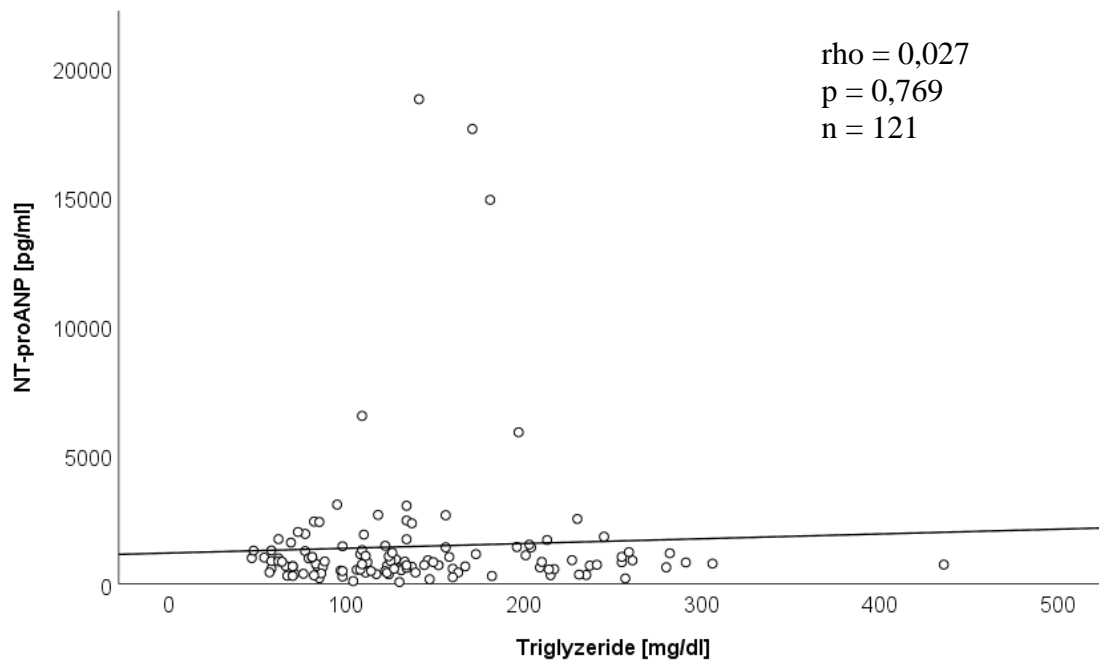


**Abbildung 1:** Mittelwert-Vergleich der NT-proANP-Spiegel (pg/ml) im Serum nach BMI (kg/m<sup>2</sup>) im Arm der konservativen Therapie. n=121. Kruskal-Wallis-Test, mean ±SEM.

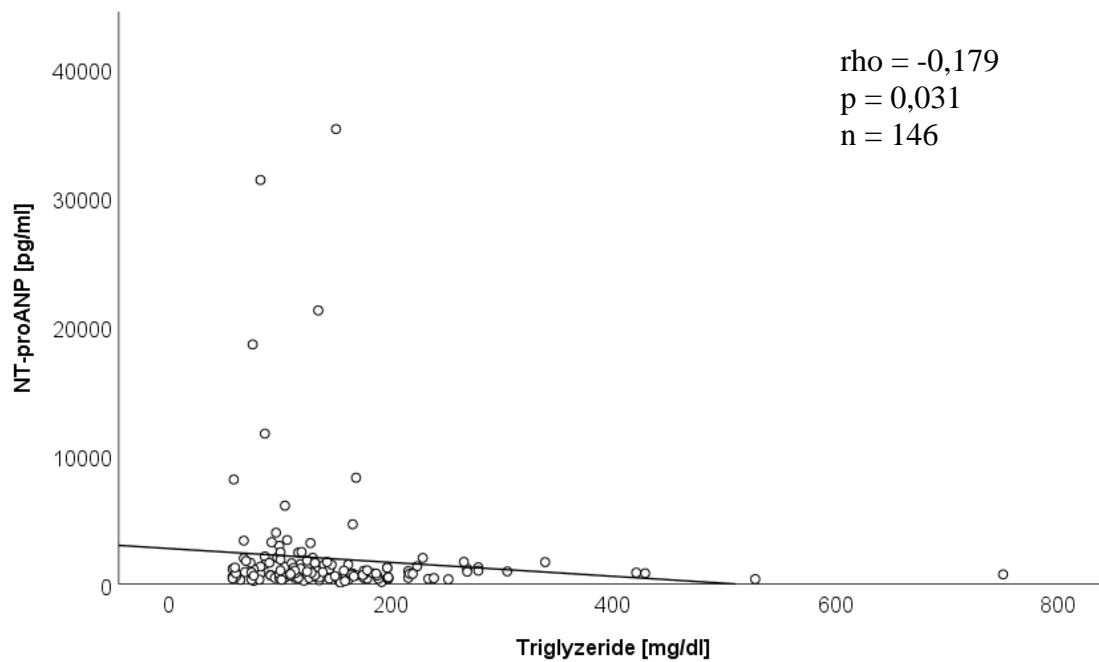


**Abbildung 2:** Fehlender Zusammenhang von NT-proANP (pg/ml) im Serum mit dem BMI (kg/m<sup>2</sup>) im Arm der operativen Therapie. n=163. Kruskal-Wallis-Test, mean ±SEM.

Die Abbildungen 3 und 4 zeigen die Korrelation von NT-proANP mit den Serum-Triglyzeriden. Hier fand sich eine signifikante, schwach negative Korrelation im Arm der operativen Therapie ( $\rho = -0,179$ ,  $p = 0,031$ ) (Abb. 4). Im Arm der konservativen Therapie wurde keine signifikante Assoziation festgestellt (Abb. 3).



**Abbildung 3:** Fehlende Korrelation zwischen NT-proANP (pg/ml) im Serum und Triglyzeride (mg/dl) im Arm der konservativen Therapie. n=121. Spearman-Test.

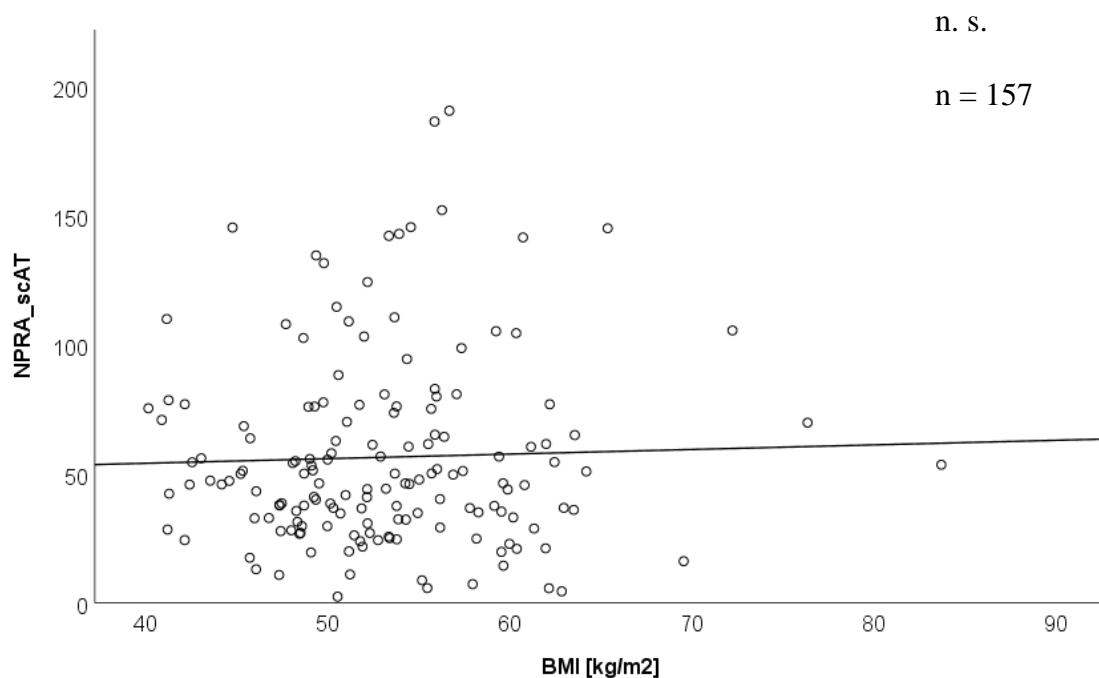


**Abbildung 4:** Korrelation zwischen NT-proANP (pg/ml) im Serum und Triglyzeriden (mg/dl) im Arm der operativen Therapie. n=146. Spearman-Test.

### 4.3. NPR-A Expression im Fettgewebe

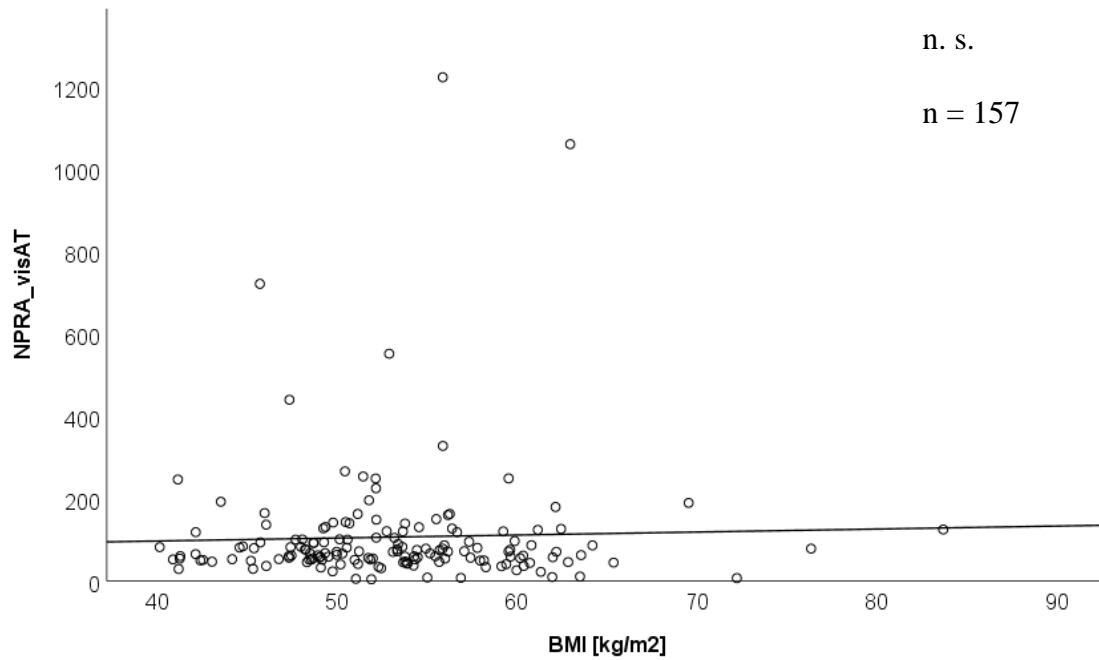
Die NPR-A-Expression wurde in den gepaarten subkutanen und viszeralen Fettgewebeproben der Probanden des operativen Arms der ROBS-Kohorte untersucht, welche intraoperativ asserviert wurden. Hier war die Anzahl der gepaarten Fettgewebeproben 157, da nicht bei allen Probanden auswertbare Fettgewebeproben oder komplette Datensätze vorhanden waren. Dennoch ist die Anzahl der Fettgewebeproben im Vergleich zur Literatur als sehr hoch einzuschätzen.

Die Expression von NPR-A im subkutanen Fettgewebe zeigte keine Korrelation mit dem BMI der Probanden zu Zeitpunkt der Visite V0 (Abb. 5).



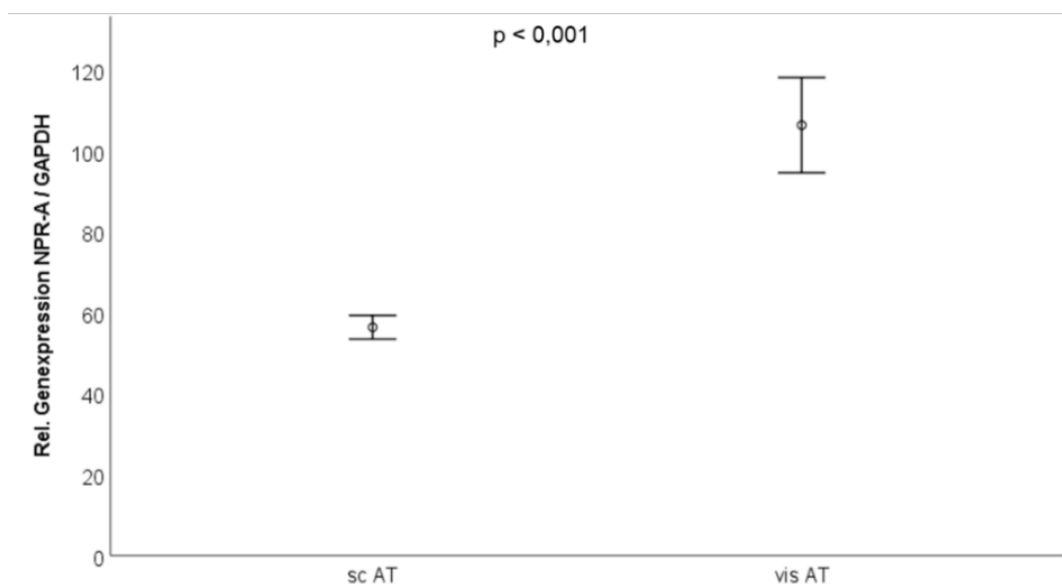
**Abbildung 5:** Fehlende Korrelation der Expression von NPR-A im subkutanen Fettgewebe mit dem BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) der Probanden zu Zeitpunkt V0.  $n=157$ . Spearman-Test.

Keine Assoziation fand sich auch zwischen der NPR-A-Expression im viszeralen Fettgewebe und dem BMI der Probanden präoperativ (Abb. 6).



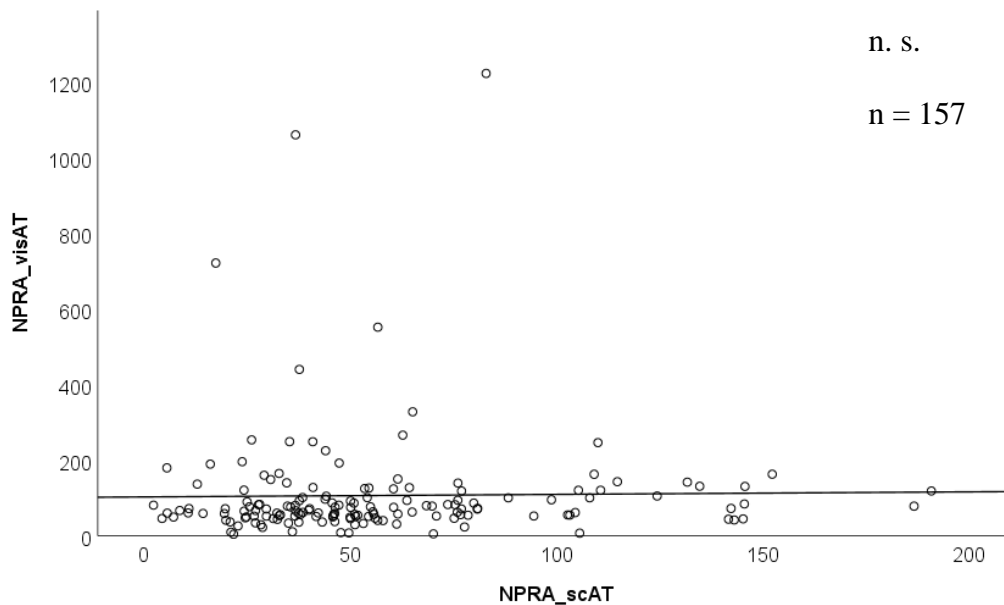
**Abbildung 6:** Fehlende Korrelation der Expression von NPR-A im viszeralen Fettgewebe mit dem BMI ( $\text{kg/m}^2$ ) der Probanden zu Zeitpunkt V0.  $n=157$ . Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression,  $\times 10^3$ .

Wichtigerweise konnte gezeigt werden, dass in den Fettgewebeproben die Expression von NPR-A im viszeralen Fettgewebe signifikant höher war als im subkutanen Fettgewebe ( $p < 0,001$ ) (Abb. 7).



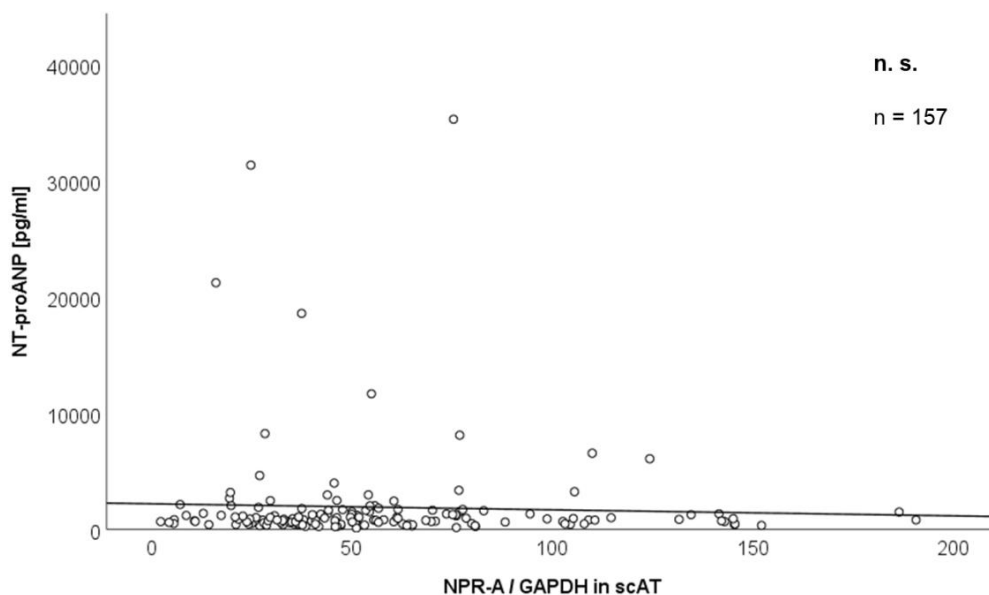
**Abbildung 7:** Expression von NPR-A im subkutanen und im viszeralen Fettgewebe.  $n=157$ . Wilcoxon-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression,  $\times 10^3$ .

Es besteht keine signifikante Korrelation zwischen der Expression von NPR-A im subkutanen und viszeralen Fettgewebe in den gepaarten Fettgewebeproben (Abb. 8).



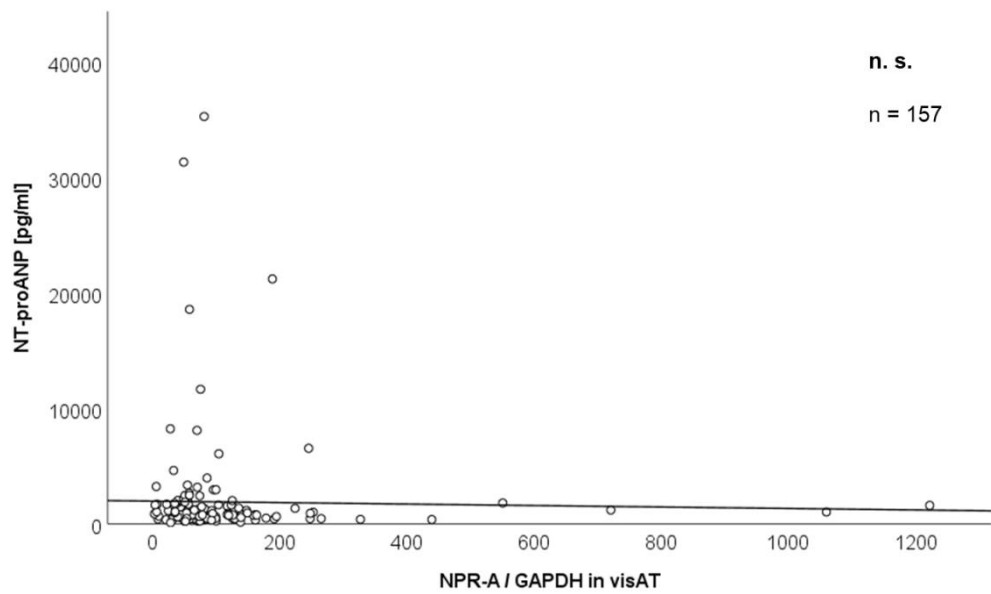
**Abbildung 8:** Fehlende Korrelation zwischen der Expression von NPR-A im subkutanen und viszeralen Fettgewebe. n=157. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression,  $\times 10^3$ .

Des Weiteren bestand keine signifikante Korrelation zwischen dem Serumspiegel von NT-proANP und der NPR-A-Expression im subkutanen und viszeralen Fettgewebe (Abb. 9 und 10).



**Abbildung 9:** Fehlende Korrelation von NT-proANP im Serum mit der Expression von NPR-A im subkutanen Fettgewebe. n=157. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression,  $\times 10^3$ .

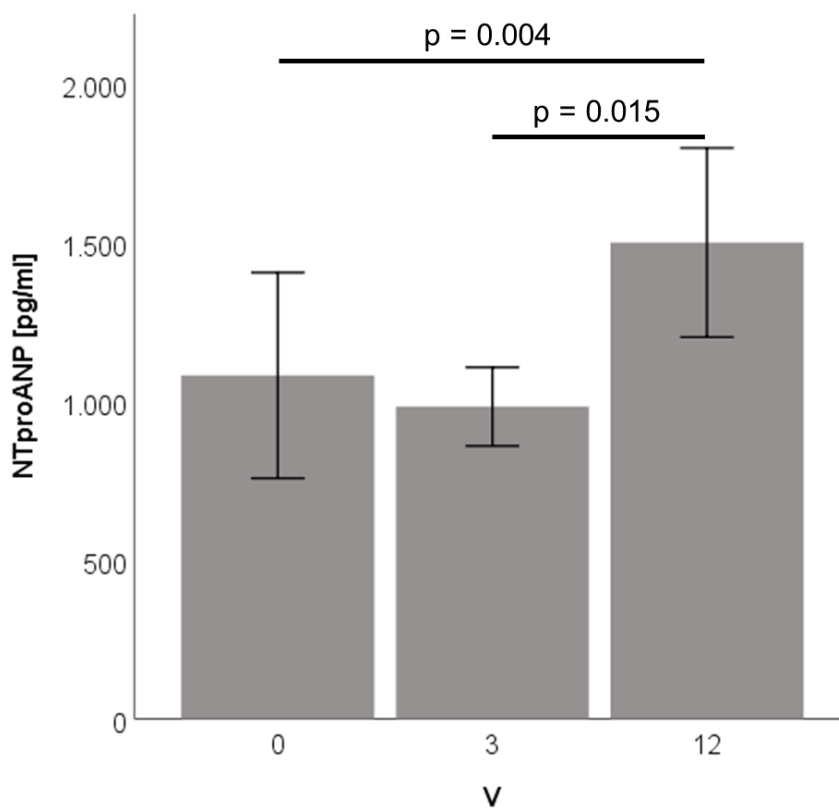




**Abbildung 10:** Fehlende Korrelation von NT-proANP im Serum mit der Expression von NPR-A im viszeralen Fettgewebe. n=157. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression,  $\times 10^3$ .

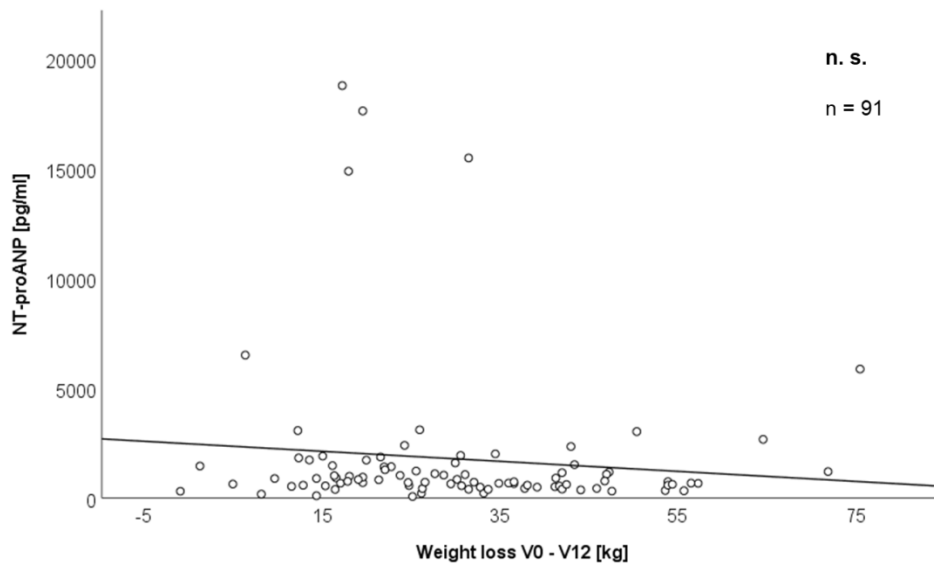
#### 4.4. Serum NT-proANP im Arm der konservativen Therapie

Die Serumspiegel von NT-proANP zum Zeitpunkt V0 wurden mit denjenigen zum Zeitpunkt V3 und V12 verglichen. Dies konnte bei 57 Probanden untersucht werden, da diese die konservative Therapie planmäßig beendet hatten und für alle 3 Visitenzeitpunkte Serumproben vorhanden waren. Der Serumspiegel von NT-proANP zum Zeitpunkt V12 war signifikant erhöht im Vergleich zu Zeitpunkt V0 ( $p=0,004$ ) sowie im Vergleich zu Zeitpunkt V3 ( $p=0,015$ ) (Abb. 11).



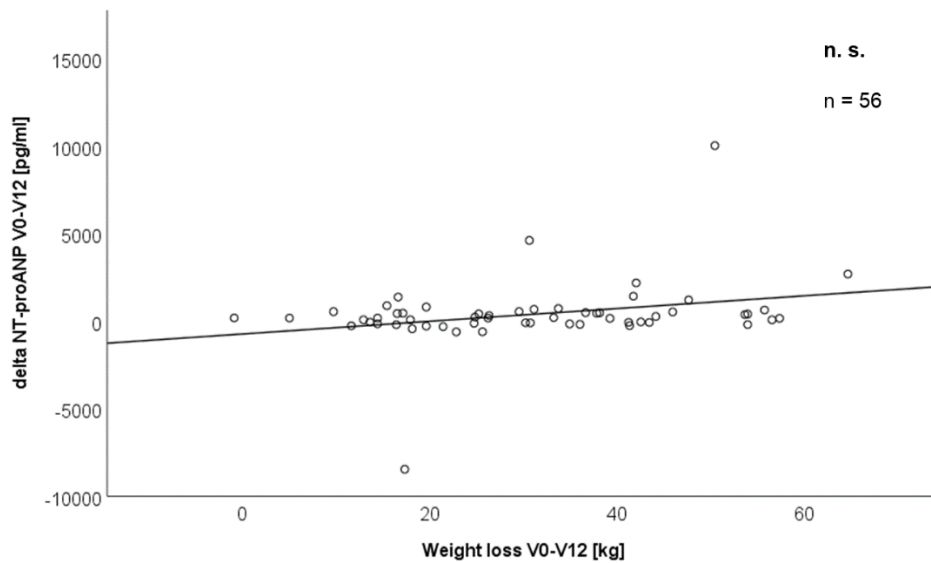
**Abbildung 11:** NT-proANP im Serum zu den Zeitpunkten V0, V3 und V12 bei den Probanden der konservativen Therapie.  $n=57$ . Friedman-Test für die Subgruppen,  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ .

Die basalen Serumspiegel von NT-proANP zeigten keine signifikante Korrelation mit der Gewichtsabnahme zwischen V0 und V12 (Abb. 12). Dies konnte bei 91 Probanden untersucht werden, da diese zum Zeitpunkt der Datenauswertung die konservative Therapie planmäßig beendet hatten .



**Abbildung 12:** Fehlende Korrelation der basalen NT-proANP-Serumspiegel mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der konservativen Therapie. n=91. Spearman-Test.

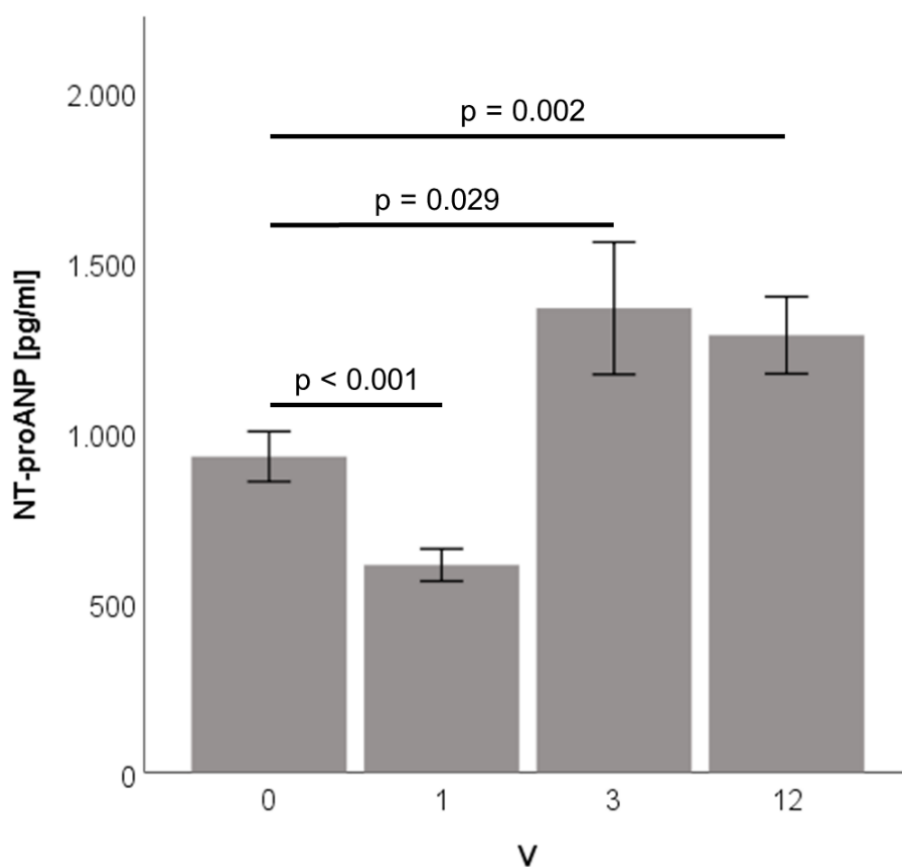
Die Veränderung der NT-proANP-Serumspiegel zeigte auch keine signifikante Korrelation mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 (Abb. 13). Dies konnte bei 56 Probanden untersucht werden, da diese die konservative Therapie planmäßig beendet hatten und für beide Visitenzeitpunkte Serumproben und Daten über das Gewicht der Probanden vorhanden waren.



**Abbildung 13:** Fehlende Korrelation der Veränderung der NT-proANP-Serumspiegel mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der konservativen Therapie. n=56. Spearman-Test.

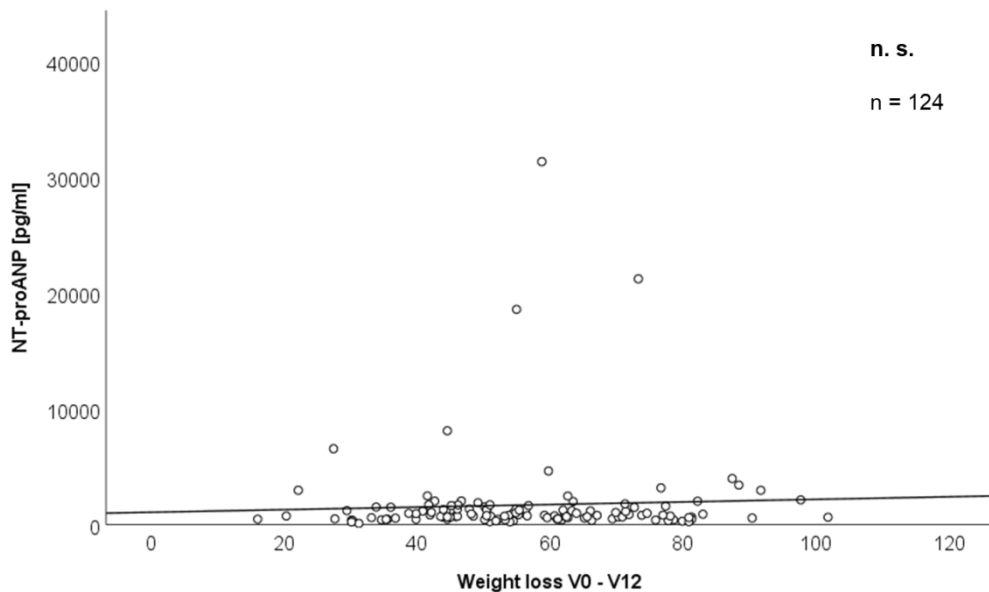
#### 4.5. Serum NT-proANP und NPR-A-Expression im Arm der operativen Therapie

Es wurden Serumproben von 73 operierten Patienten untersucht, von denen Probenmaterial aus sämtlichen Visitenzeitpunkten V0, V1, V3 und V12 vorlag. Hierbei zeigte sich eine signifikante Reduktion der NT-proANP-Serumspiegel in den ersten Tagen (Visite V1) nach der bariatrischen Operation ( $p < 0,001$ ). Zu den Zeitpunkten V3 ( $p = 0,029$ ) und V12 ( $p = 0,002$ ) waren die Spiegel hingegen signifikant erhöht gegenüber dem basalen Niveau (Abb. 14).



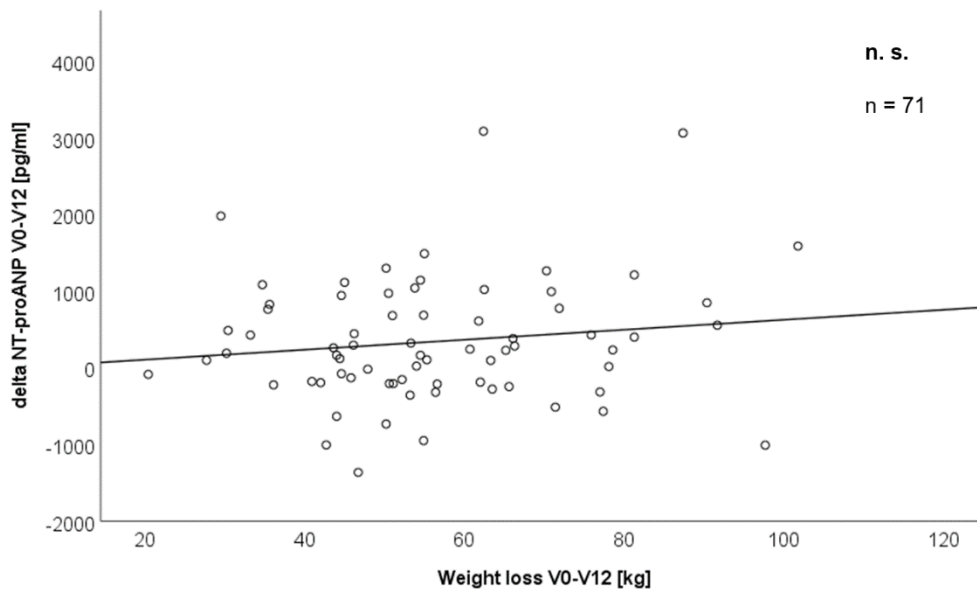
**Abbildung 14:** NT-proANP-Serumspiegel zu den Zeitpunkten V0, V1, V3 und V12 in der Gruppe der bariatrisch operierten Patienten.  $n=73$ . Friedman-Test.

Die basalen Serumspiegel von NT-proANP waren auch bei den Probanden des operativen Armes der Kohorte nicht signifikant korreliert mit der Gewichtsabnahme zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 (Abb. 15). Dies konnte bei 124 operierten Probanden untersucht werden, da für beide Visitenzeitpunkte Daten vorhanden waren.



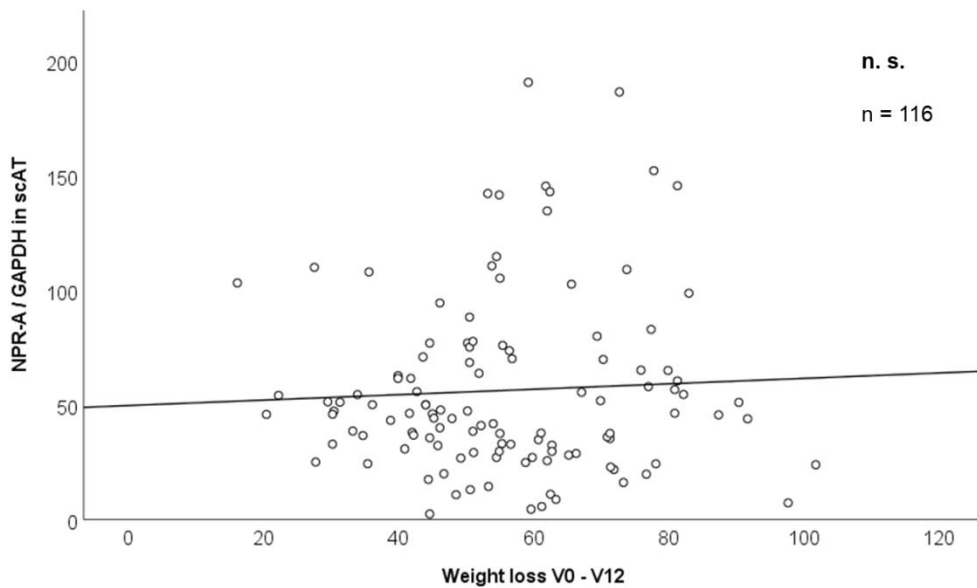
**Abbildung 15:** Fehlende Korrelation der basalen NT-proANP-Serumspiegel mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der operativen Therapie. n=124. Spearman-Test.

Die Veränderung der NT-proANP-Serumspiegel zeigte keine signifikante Korrelation mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 (Abb. 16). Dies konnte bei 71 Probanden untersucht werden, da für beide Visitenzeitpunkte Serumproben und Daten über das Gewicht der Probanden vorhanden waren.

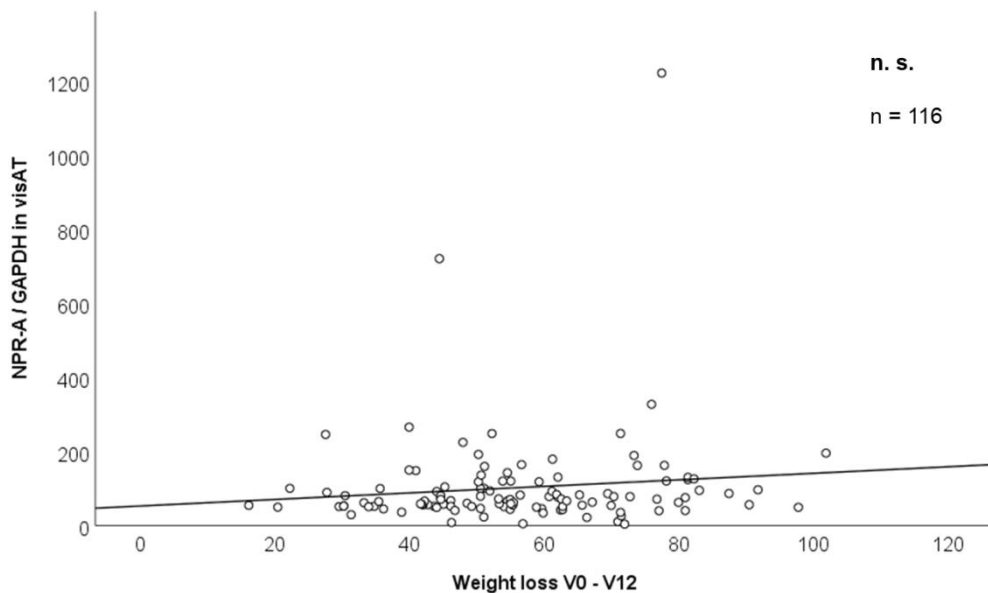


**Abbildung 16:** Fehlende Korrelation der Veränderung der NT-proANP-Serumspiegel mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der operativen Therapie. n=71. Spearman-Test.

Es zeigte sich keine Korrelation zwischen der NPR-A-Expression im subkutanen und viszeralen Fettgewebe mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 (Abb. 17 und 18). Dies konnte bei 116 Probanden untersucht werden, da diese zum Zeitpunkt der Auswertung den Zeitpunkt V12 erreicht hatten und Fettgewebeproben initial vorhanden waren.



**Abbildung 17:** Fehlende Korrelation der NPR-A-Expression im subkutanen Fettgewebe mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der operativen Therapie. n=116. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression,  $\times 10^3$ .

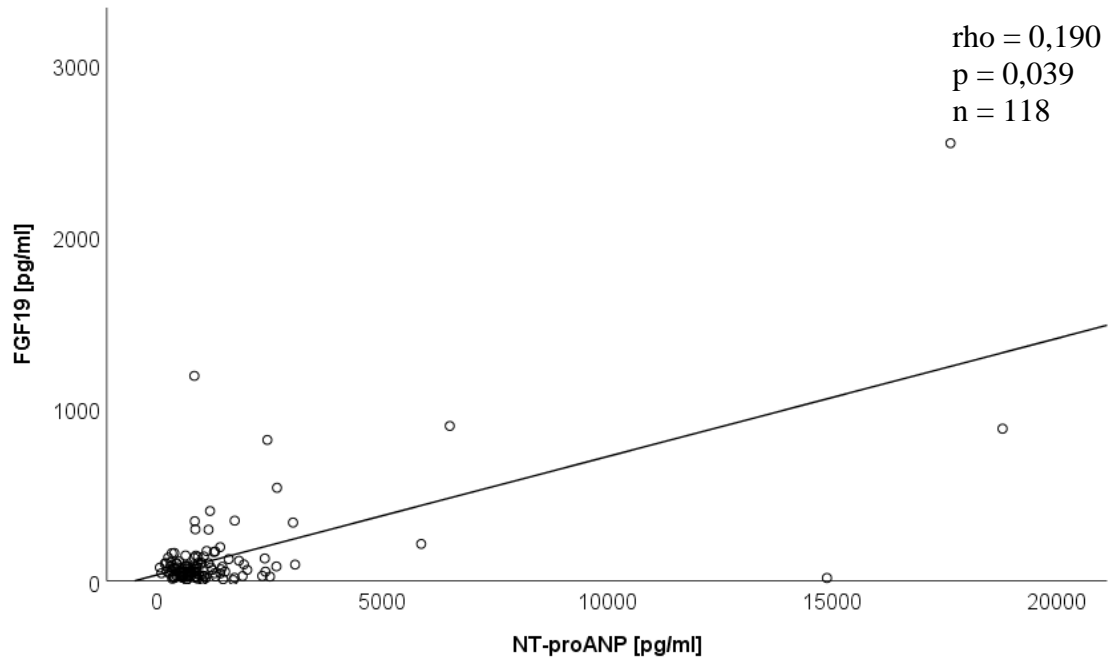


**Abbildung 18:** Fehlende Korrelation der NPR-A-Expression im viszeralen Fettgewebe mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der operativen Therapie. n=116. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression,  $\times 10^3$ .

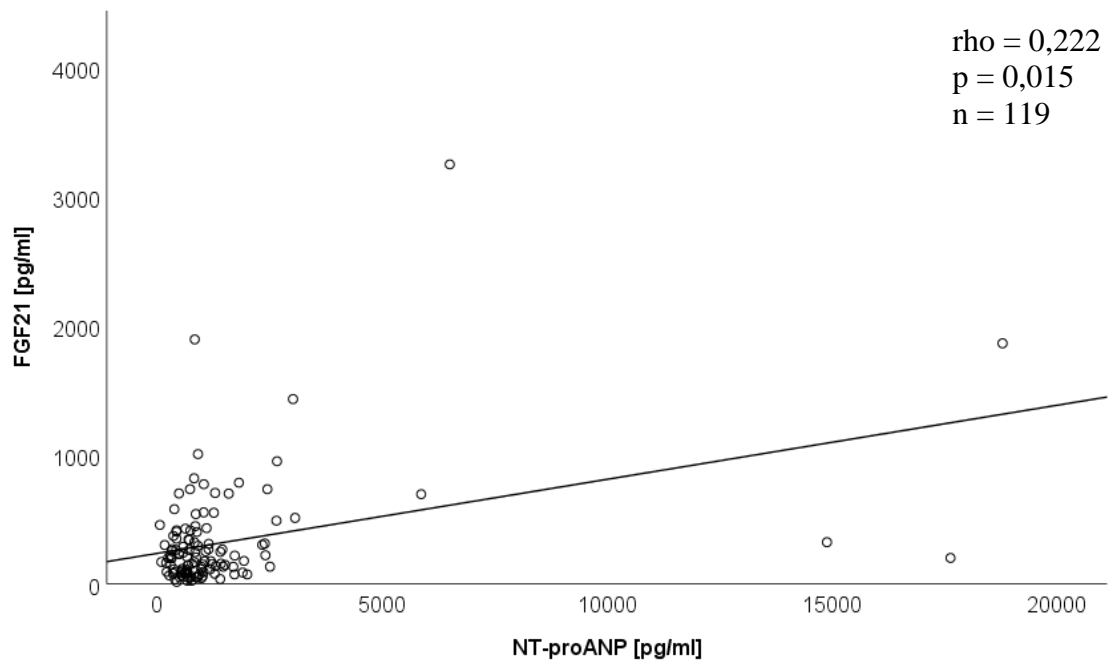


#### 4.6. Korrelation der NT-proANP-Spiegel mit FGF19 und FGF21

Der Serumspiegel von NT-proANP zeigte eine positive Korrelation mit dem Serumspiegel von FGF19 und FGF21, gemessen zum Zeitpunkt V0 bei den Probanden der konservativen Therapie (Abb. 19 und 20).

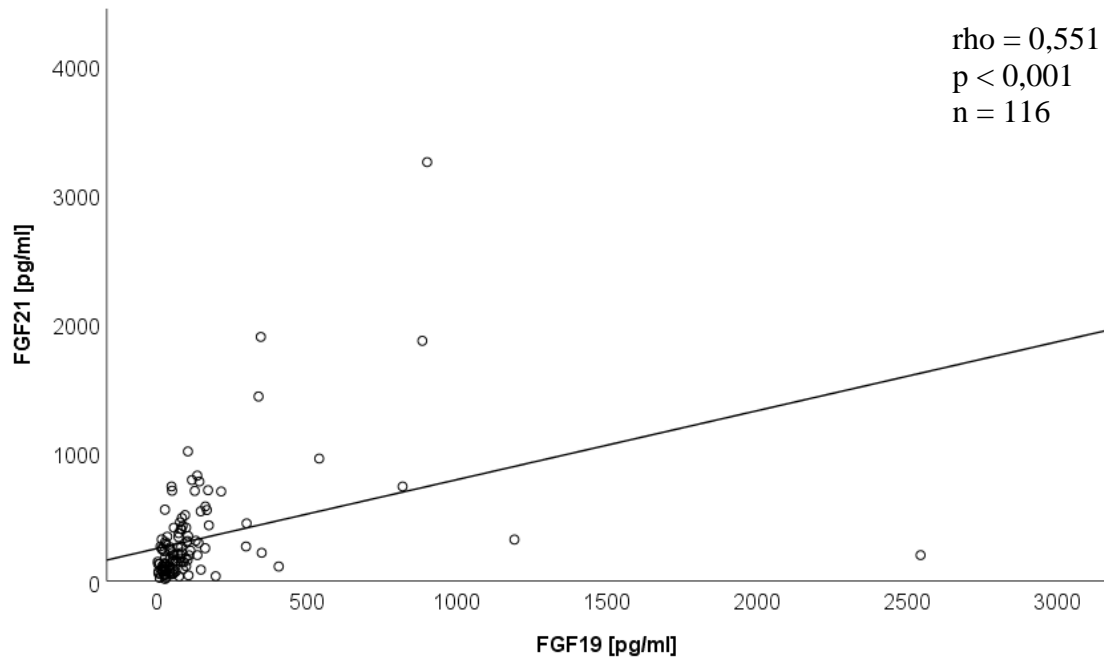


**Abbildung 19:** Korrelation von NT-proANP im Serum mit FGF19 im Serum im Arm der konservativen Therapie zum Zeitpunkt V0. n=118. Spearman-Test.



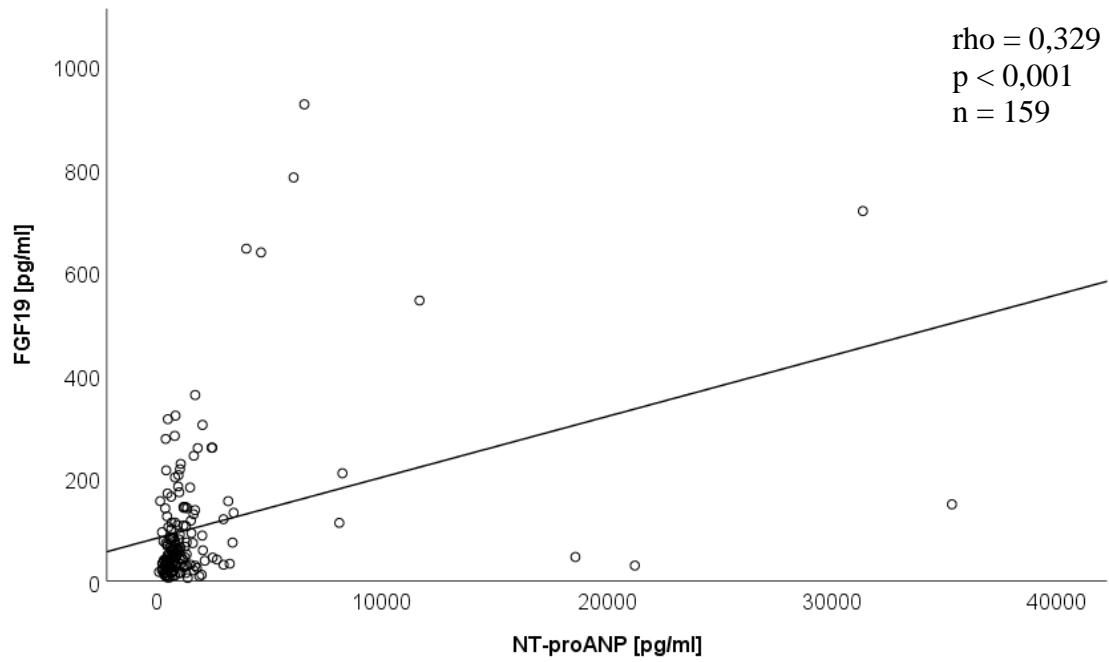
**Abbildung 20:** Korrelation von NT-proANP im Serum mit FGF21 im Serum im Arm der konservativen Therapie zum Zeitpunkt V0. n=119. Spearman-Test.

Positiv assoziiert waren auch die Serumspiegel von FGF19 und FGF21 zum Zeitpunkt V0 im konservativen Arm der Kohorte (Abb. 21).

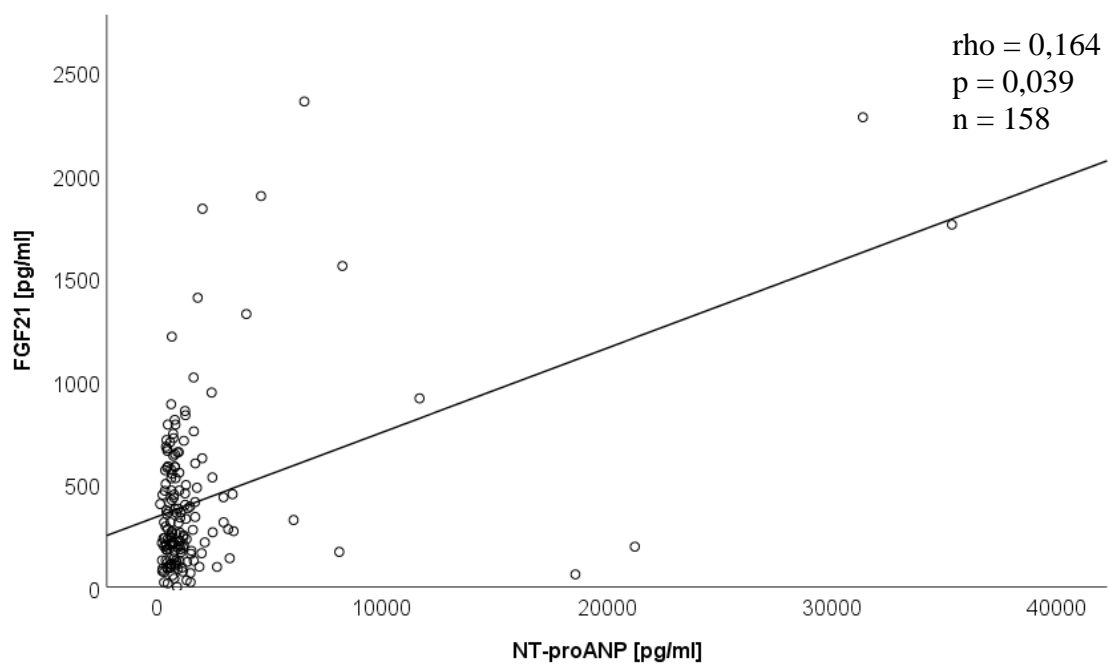


**Abbildung 21:** Korrelation von FGF19 mit FGF21 im Serum im Arm der konservativen Therapie zum Zeitpunkt V0. Spearman-Test.

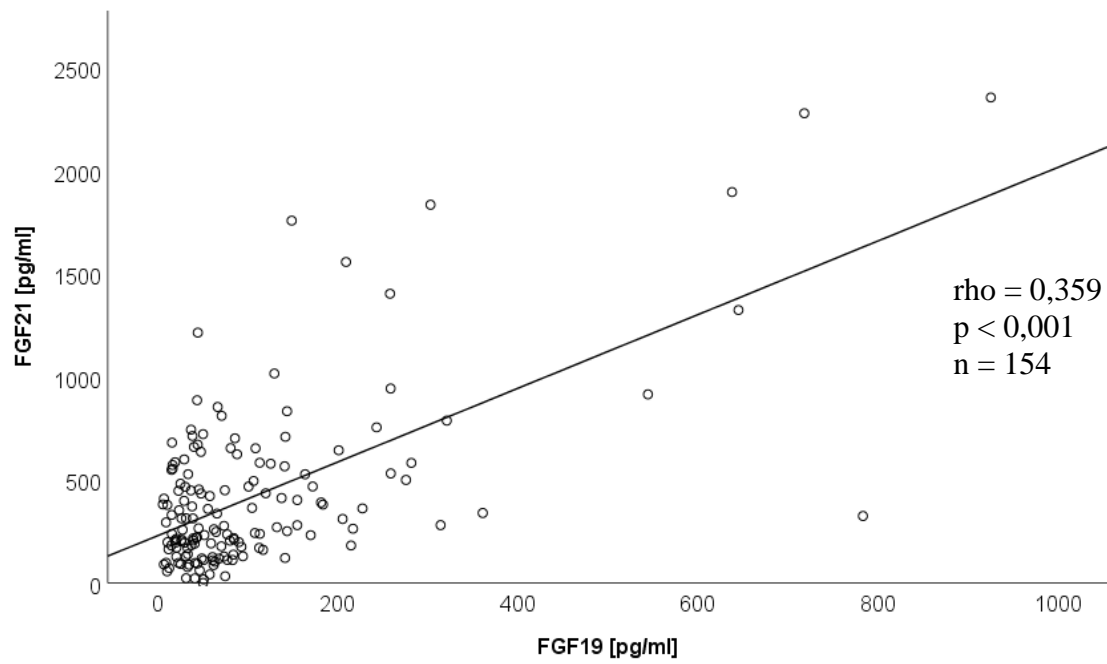
Auch bei den Probanden der operativen Therapie besteht eine positive Korrelation zwischen den Serumspiegel von NT-proANP und FGF19 und FGF21, gemessen zum Zeitpunkt V0 (Abb. 22 und 23). Auch in diesem Arm der Kohorte war die Assoziation von FGF19 und FGF21 im Serum zu diesem Zeitpunkt positiv (Abb. 24).



**Abbildung 22:** Korrelation von NT-proANP mit FGF19 im Serum im Arm der operativen Therapie zu Zeitpunkt V0. Spearman-Test.



**Abbildung 23:** Korrelation von NT-proANP mit FGF21 im Serum im Arm der operativen Therapie zu Zeitpunkt V0. Spearman-Test.



**Abbildung 24:** Korrelation von FGF19 mit FGF21 im Serum im Arm der operativen Therapie zu Zeitpunkt V0. Spearman-Test.

## 5. Diskussion

### 5.1. Allgemeine Diskussion

Die natriuretischen Peptide weisen zahlreiche metabolische Wirkungen auf. Sie scheinen eine wichtige Rolle im Metabolismus, wie in der Lipolyse [226], der Lipidoxidation [17, 18, 57, 149, 203], dem Glucosestoffwechsel [18, 79, 207, 214, 220], zu spielen. Ihre Funktion und Regulation werden intensiv erforscht. Die genaue Wirkung und Assoziation mit der Adipositas [47, 143, 148, 214, 220, 240, 257] sind aber bisher nicht völlig aufgeklärt und weitere Untersuchungen, um diese Mechanismen zu verstehen, sind von großem Interesse.

In dieser Arbeit konnte diese Assoziation in einem großen, gut charakterisierten Kollektiv von adipösen Probanden untersucht werden. Vorteile dieser Kohorte sind die große Anzahl der Probanden und die langzeitige Beobachtungsdauer sowohl nach bariatrischer Operation als auch während des konservativen Therapieprogramms. Besonderer Vorteil ist auch die Asservierung gepaarter Fettgewebeproben aus subkutanem und viszeralem Fett bei den Probanden des operativen Arms, in welchen schon gezeigt wurde, dass die Rezeptoren der natriuretischen Peptide signifikant exprimiert werden [49, 203, 215].

Es wurden die Konzentration von NT-proANP im Serum und bei den Probanden des operativen Arms parallel die Expression von NPR-A im Fettgewebe, sowohl subkutan als auch viszeral, bestimmt und beurteilt. Diese konnten mit demographischen Charakteristika und dem BMI der Probanden untersucht werden. Ein möglicher Zusammenhang der Serumspiegel von NT-proANP mit der Expression von NPR-A im Fettgewebe wurde ebenfalls beforscht. Außerdem wurde der Verlauf nach Gewichtsabnahme sowohl nach konservativer Therapie als auch nach bariatrischer Operation beobachtet. Des Weiteren wurde eine mögliche Assoziation von NT-proANP mit FGF19 und FGF21 geprüft. Durch diese Daten und die erhaltenen Erkenntnisse konnten Rückschlüsse auf die Regulationsmechanismen der natriuretischen Peptide bei Adipositas gezogen werden.

Die Mehrheit der Probanden in beiden Armen waren Frauen - 67,8% im Arm der konservativen Therapie und 79,8% im Arm der operativen Therapie -, was bei der Interpretation der Ergebnisse dieser Arbeit zu beachten ist. Bei vielen anderen veröffentlichten Studien liegt auch eine Mehrheit weiblicher Probanden vor [11, 47, 56, 73, 106, 195, 206, 258]. Das Alter der Probanden war  $41,8 \pm 12,1$  bzw.  $39,9 \pm 11,2$  Jahre

alt im konservativen und im operativen Arm und somit insgesamt jünger als bei vielen früheren Studien [9, 38, 87, 118, 143, 145]. Die Probanden wiesen sehr hohe BMI-Werte auf, im Mittel  $43,41 \pm 5,89 \text{ kg/m}^2$  bzw.  $53,21 \pm 6,99 \text{ kg/m}^2$  für den konservativen und den operativen Arm. In der Literatur liegen in den meisten Studien geringere BMI-Werte vor [256–258] . Dieses soll bei dem Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit anderen Studien ebenfalls berücksichtigt werden.

In dieser Arbeit wurde das NT-proANP als Vertreter der natriuretischen Peptide gemessen, ein zuverlässiger Parameter mit längerer Halbwertszeit und Stabilität [76]. In den verschiedenen veröffentlichten Studien wurden aber unterschiedliche natriuretische Peptide untersucht; ANP [37, 56], BNP [204, 224], NT-proBNP [9, 269]. Aufgrund der heterogenen Charakteristika sind direkte Vergleiche nicht immer möglich.

## **5.2. Spezielle Diskussion**

### **5.2.1. NT-proANP im Serum**

Die Konzentration von NT-proANP war zum Zeitpunkt V0 in allen Serumproben messbar. Diese konnte daher zusammen mit verschiedenen Charakteristika der Probanden untersucht werden.

#### **5.2.1.1. NT-proANP und Geschlecht**

In dem untersuchten Studienkollektiv konnte keine signifikante Korrelation der Serumkonzentration von NT-proANP mit dem Geschlecht der Probanden nachgewiesen werden, weder im Arm der konservativen noch der operativen Therapie. Wichtig zu erwähnen ist, dass die deutliche Mehrheit der Probanden in der ROBS-Kohorte aus Frauen bestand - 67,8% im konservativen und 79,8% im operativen Arm.

In mehreren Studien wurde der Zusammenhang der natriuretischen Peptide mit dem Geschlecht untersucht. In der Studie von Emdin et al. zeigten sich bei 239 Patienten mit Herzinsuffizienz (Alter von  $64.7 \pm 11.6$  Jahre) signifikant höhere ANP-Spiegel bei Männern [56]. In einer anderen Studie mit gesunden Probanden in einem mittleren Alter von 55 Jahren konnte im Gegenteil eine höhere Konzentration von NT-proANP bei Frauen nachgewiesen werden [258]. NT-proANP-Spiegel waren auch höher bei den weiblichen Probanden in der Arbeit von Zhu et al. [269]. In einer älteren, kleineren Studie fanden sich höhere Konzentration von ANP bei prämenopausalen Frauen im Vergleich zu jungen Männern [37]. Postmenopausal konnte dieser Unterschied aber nicht mehr nachgewiesen werden [37]. Die Arbeitsgruppe von Clerico et al. beschrieb bei gesunden Probanden mit Alter  $43.2 \pm 14.8$  Jahren eine positive Korrelation des weiblichen Geschlechts mit ANP und BNP [41]. In einem großen Kollektiv von gesunden Probanden wurden ebenfalls höhere Spiegel von ANP und BNP bei den Frauen nachgewiesen [80]. In einer früheren Arbeit von Schmid et al. wurde bei gesunden Probanden keine Assoziation von NT-proANP und NT-proBNP mit dem Geschlecht der Probanden festgestellt [221]. Eine Mausmodell-Studie ergab, dass die weiblichen Geschlechtshormone die Expression von ANP stimulieren [88].

Basierend auf Daten von mehreren Autoren erscheint es möglich, dass die weiblichen Sexual-Steroide einen positiven Effekt und die Androgene einen negativen Effekt auf die natriuretischen Peptide ausüben [27, 39, 40, 103, 139]. Somit könnten die

unterschiedlichen Ergebnisse auch durch die Einnahme von Hormonpräparaten oder der „Pille“ erklärt sein. In dieser Kohorte war die Einnahme der „Pille“ kein signifikanter Faktor für die Serumspiegel von NT-proANP (Daten nicht gezeigt).

### **5.2.1.2. NT-proANP und Alter**

In der vorliegenden Studie wurde eine schwache, positive Korrelation der NT-proANP-Serumkonzentration mit dem Alter der Probanden (nach Bereinigung für BMI) für beide Arme der ROBS Kohorte festgestellt. In dieser Arbeit waren die Probanden  $41,8 \pm 12,1$  bzw.  $39,9 \pm 11,2$  Jahre alt im konservativen und im operativen Arm, somit insgesamt jünger als bei den meisten bisher durchgeführten Studien.

In mehreren früheren Studien wurde überwiegend ein ähnlicher Zusammenhang beschrieben. In der Studie von Kato et al. zeigte sich eine positive Korrelation von ANP mit dem Alter in gesunden Probanden im Alter von  $56,3 \pm 10,7$  Jahren [101]. Eine positive Korrelation von NT-proANP mit dem Alter zeigte sich auch in der Studie von Wang et al. bei 911 Probanden der Framingham Heart Study mit einem mittleren Alter von 55 Jahren (62% Frauen) [258]. In der Studie von Hogenhuis et al. zeigten sich bei 311 Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz im Alter von  $68 \pm 8$  Jahren höhere Konzentrationen von NT-proANP und ANP bei höherem Alter [87]. 76% der Untersuchten waren Männer und es gab eine signifikante Altersdifferenz im Vergleich zu den weiblichen Probanden [87]. In einer kleinen Studie wurde dieser Zusammenhang bei gesunden Männern in unterschiedlichem Alter untersucht [178]. Hier war die Konzentration von ANP signifikant höher in den älteren im Vergleich zu den jüngeren Männern [178]. In einer kleinen älteren Studie war die ANP Konzentration bei gesunden normalgewichtigen Probanden untersucht. Auch hier war die Konzentration von ANP signifikant höher bei höherem Alter. Nach ANP Infusion war die Halbwertszeit von ANP länger bei den älteren Probanden [38]. Einen Anstieg der NT-proBNP-Spiegel mit dem Alter fanden auch die Studie von Zhu et al. und die Arbeitsgruppe von Bao et al. [9, 269]. Auch BNP zeigte eine positive Korrelation mit dem Alter [204, 224]. Im Gegensatz zu diesen Daten korrelierte in einer Studie bei 216 gesunden Probanden mit mittlerem Alter von  $43,2 \pm 14,8$  Jahren nur leicht das ANP mit dem Alter [41]. In der Arbeit von Dutka et al. fand sich sogar eine negative Assoziation von ANP mit dem Alter bei Probanden mit Herzinsuffizienz [55]. In Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe ergab sich keine



signifikante Korrelation von NT-proANP und NT-proBNP mit dem Geschlecht in zwei unterschiedlichen Studienkollektiven mit jungen, gesunden Probanden [221].

Die Autoren diskutierten als mögliche Erklärung der höheren Konzentrationen der NPs bei älteren Probanden eine reduzierte Aktivität im Alter [178] sowie einen reduzierten Abbau [38] als Folge der reduzierten Expression des Clearing-Rezeptors NPR-C im Alter [75]. Weitere Faktoren, welche zu diesem Anstieg der NPs im Alter beitragen können, sind eine schlechtere kardiale Funktion sowie eine Verringerung der Ausscheidung der NPs über die Niere mit dem Alter [269].

### **5.2.1.3. NT-proANP und BMI**

Die Korrelation von NPs mit dem Gewicht und dem BMI haben schon mehrere Arbeitsgruppen in verschiedenen Kollektiven untersucht. In mehreren Studien waren die NPs negativ korreliert mit dem BMI [8, 11, 143, 145, 195, 206, 240, 256, 257, 12, 47, 73, 90, 106, 118, 126, 138]. In diesen Studien untersuchten die Autoren verschiedene NPs und die Kollektive sowie die genaue Fragestellung waren sehr unterschiedlich. Wang et al. beschrieb bei 3389 Probanden der Framingham Study signifikant niedrigere Spiegel für BNP und NT-proANP bei adipösen und übergewichtigen Probanden im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden für beide Geschlechter [257]. Auch in einer weiteren Studie dieser Arbeitsgruppe konnte diese negative Korrelation nachgewiesen werden [256]. Auch die NT-proBNP Konzentration wurde als signifikant niedriger bei übergewichtigen und adipösen im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden beschrieben, unabhängig vom Bestehen einer Herzinsuffizienz [11]. Das et al. zeigten ähnliche Ergebnisse für die Konzentration von BNP und NT-proBNP [47]. Auch bei nicht adipösen Probanden ohne Hypertension fand sich eine negative Assoziation von BNP und NT-proANP mit dem BMI [258]. Bei Probanden mit akutem myokardischämischem Ereignis fanden sich auch signifikant niedrigere NT-proBNP Konzentration bei vorliegender Adipositas oder Übergewicht im Vergleich zu Normalgewichtigen [134, 145]. Eine andere Arbeitsgruppe zeigte hingegen höhere NT-proBNP-Spiegel bei adipösen Probanden im Vergleich zu Normalgewichtigen [81]. Eine fehlende Korrelation fand sich in anderen Studien [117]. Auch unsere Arbeitsgruppe fand bei gesunden und hauptsächlich normalgewichtigen Probanden keine Korrelation mit dem BMI für NT-proANP und NT-proBNP [221]. In der Arbeit von Pandey et al. zeigte die Korrelation

der natriuretischen Peptide mit dem BMI eine U-förmige Kurve mit erhöhten Konzentrationen bei sehr niedrigen und sehr hohen BMI-Werten bei Probanden mit chronischer stabiler Herzinsuffizienz. Die niedrigsten Konzentrationen konnten bei einem BMI von  $35 \text{ kg/m}^2$  nachgewiesen werden [187]. In einer weiteren Arbeit stellten die Autoren bei normalgewichtigen Probanden mit Insulinresistenz niedrige Spiegel von natriuretischen Peptide wie bei adipösen insulinresistenten Probanden fest und folgerten daraus eine negative Assoziation der natriuretischen Peptide mit der Insulinresistenz auch unabhängig von BMI [7, 106]. Ein interessantes Ergebnis war auch, dass die negative Korrelation von NT-proBNP mit dem Gewicht nach Anpassung für den HOMA-Index schwächer ausgeprägt war [8, 106]. Eine negative Assoziation von BNP und NT-proBNP mit der Fettmasse, welche unabhängig vom Bestehen einer Adipositas beobachtet wurde, ist auch erwähnenswert [167].

Als mögliche Gründe für die negative Korrelation der NPs mit dem BMI wurden mehrere Mechanismen diskutiert. Als mögliche Erklärung dieser negativen Korrelation wurde die Rolle des NPR-C, welcher auch im Fettgewebe exprimiert wird und den Abbau der natriuretischen Peptiden induziert, diskutiert [50, 215, 257]. Die Expression von NPR-C im Fettgewebe wird auch bei erhöhtem Insulinspiegel gefördert [196]. Daher könnte auch die Insulinresistenz [8] eine Rolle in diesem Mechanismus spielen. Neprilysin wird auch von den Adipozyten produziert, in Adipositas in vermehrtem Maße. Der Abbau der NPs durch Neprilysin ist eine weitere mögliche Ursache der niedrigen NP-Konzentration bei Adipositas [185]. Die gleichzeitig bestehende negative Korrelation von BNP und NT-proBNP und die negative Korrelation bei NT-proANP sprechen allerdings eher gegen einen erhöhten Abbau als einzigen Faktor, da das NT-proBNP und das NT-proANP nicht über NPR-C und durch Neprilysin abgebaut werden. Zusätzlich existiert die Hypothese einer primär verminderten NP-Sekretion [42, 47, 257]. Weitere Faktoren wie die Einnahme von Medikamenten wurden auch diskutiert [40]. Die Glykosylierung von proBNP an Threonin 71, welche vermehrt bei adipösen Patienten gefunden wurde, hat eine Reduktion der Spaltung von proBNP in BNP und NT-proBNP zur Folge [130, 194, 197]. Dieser Mechanismus könnte ein möglicher Mechanismus der beobachteten negativen Korrelation der N-terminalen Prohormone der natriuretischen Peptide mit dem Gewicht sein. Des Weiteren ist nicht geklärt, ob die niedrigeren Spiegel der NPs Folge der Adipositas sind oder ob die niedrigeren Spiegel vorbestehen und zur Adipositas

führen [8]. Die nachgewiesene lipolytische Wirkung der NPs [226] könnte eine mechanistische Verbindung mit der Fettmasse darstellen.

In der ROBS-Kohorte bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang der Serumkonzentration von NT-proANP mit dem BMI der Probanden. Allerdings waren die Probanden stark adipös mit einem BMI von  $43,41 \pm 5,89 \text{ kg/m}^2$  bzw.  $53,21 \pm 6,99 \text{ kg/m}^2$  für die konservative und die operative Gruppe, was nicht der Zusammensetzung der Kollektive anderer Studien entspricht. Zum Beispiel waren im Kollektiv von 3389 Probanden in der Studie von Wang et al. nur 28% der Probanden adipös und nur 3% hatten ein  $\text{BMI} \geq 40 \text{ kg/m}^2$  [257]. Eine mögliche Schlussfolgerung kann darin bestehen, dass ab einem bestimmten BMI keine weiteren Unterschiede erkennbar sind. Auch der höhere Anteil an Frauen in dieser Studie könnte Einfluss auf die Ergebnisse haben. Des Weiteren waren die Probanden dieser Kohorte relativ gesund, was auch eine Rolle spielen konnte. Das Vorliegen eines Diabetes mellitus war kein signifikanter Faktor für die Serumspiegel von NT-proANP.

#### **5.2.1.4. NT-proANP und Triglyzeride**

Laut einem Review aus dem Jahr 2019 wurde die Korrelation von NPs mit zirkulierenden Triglyzeriden in 39 Studien untersucht [233]. In Zusammenschau der Studien zeigte sich eine negative Korrelation [233]. Wang et al. fanden eine negative Assoziation zwischen NT-proANP und Triglyzerid-Konzentration [256]. Auch zwischen NT-proBNP und Triglyzeriden ergab sich eine negative Korrelation [9, 183, 255, 269]. Auch die Spiegel von BNP [83, 206] und NT-proANP [77] korrelierten negativ mit den Triglyzeriden. Keine Korrelation zwischen Triglyzeriden und ANP fand sich in einem Kollektiv mit PCOS-Patientinnen [125]. Gleichermaßen keine Korrelation mit dem BNP wurde in einer Studie aus der Türkei festgestellt [100]. Eine hingegen positive Korrelation von NT-proBNP mit den Triglyzeriden wurde in einem Kollektiv von Patienten mit akutem Schlaganfall [131] und HIV [180] gefunden.

Die Autoren diskutierten einige mögliche Mechanismen, welche die Korrelation der NPs mit den Triglyzeriden erklären könnten. Durch die Wirkung der NPs auf die weißen Adipozyten, womit sie diesen einige Charakteristika der braunen Adipozyten verleihen, steigt die Aufnahme von Triglyzeriden [233]. Die NPs führen auch zur Degradation der

Triglyzeride [233]. Ein negativer Rückkopplungsmechanismus könnte gleichfalls vorliegen [221].

In dem untersuchten Studienkollektiv ergab sich nur im Arm der operativen Therapie eine signifikante, schwach negative Korrelation, welche im Arm der konservativen Therapie keine Entsprechung hatte.

### **5.2.2. NPR-A Expression im Fettgewebe**

Die Expression von NPR-A wurde in den 157 vorhandenen gepaarten Fettgewebsproben aus subkutanem und viszeralem Fettgewebe der Probanden des operativen Arms untersucht.

Als Hauptergebnis der Studie konnte nicht nur eine starke mRNA Expression des NPR-A im humanen Fettgewebe festgestellt werden, sondern auch eine hochsignifikante Dominanz dieser Expression im viszeralen versus dem subkutanen Fettgewebe.

In dieser Arbeit fand sich eine signifikant höhere Expression von NPR-A im viszeralen im Vergleich zum subkutanen Fettgewebe bei adipösen Probanden. Die NPR-A-Expressionen im subkutanen und viszeralen Fettgewebe waren nicht signifikant miteinander korreliert.

Die Arbeitsgruppe von Pivovarova zeigte im Jahr 2012 zum ersten Mal bei Menschen ebenfalls eine signifikant höhere NPR-A Expression in viszeralem im Vergleich zu subkutanem Fettgewebe in einer Untersuchung von 157 Probanden [196]. Die NPR-A-Expression in beiden Fettgewebesorten korrelierte schwach positiv [196]. Die Autoren diskutierten als mögliche Interpretation dieses Ergebnisses eine wichtigere Rolle des viszeralen Fettgewebes als Zielorgan für die NPs [196]. Bei adipösen, ausschließlich männlichen Probanden mit Diabetes mellitus fand sich ebenfalls eine höhere NPR-A-Expression im viszeralen im Vergleich zum subkutanen Fettgewebe [250]. Auch bei adipösen Probanden ohne Diabetes mellitus zeigte sich eine entsprechende Tendenz, welche aber nicht signifikant war [250].

Weitere Studien zur Aufklärung der genaueren Mechanismen der Expression von NPR-A im subkutanen und viszeralen Fettgewebe sind erforderlich. Basierend auf den vorliegenden Daten ist eine sichere Schlussfolgerung nicht möglich. Da die NPs ihre

Wirkungen über den Rezeptor NPR-A induzieren und die Lipolyse ein wichtiges Ziel dieser ist, könnte eine stärkere Lipolyse im viszeralen Fettgewebe, wo die NPR-A-Expression erhöht ist, vermutet und diskutiert werden. Allerdings gibt es Daten, welche dieser Hypothese widersprechen. Die NP-induzierte Lipolyse war bei normalgewichtigen Probanden im viszeralen Fettgewebe reduziert im Vergleich zu subkutanem Fettgewebe [250]. Bei adipösen Probanden zeigte sich keine Differenz zwischen dem viszeralen und subkutanen Fettgewebe [250]. Die Autoren diskutierten basierend auf diesen Ergebnissen eine ANP-Resistenz im subkutanen Fettgewebe bei Adipositas [250]. Ob die Unterschiede bezüglich der metabolischen Funktionen der beiden Fettgewebesorten eine Rolle spielen, ist auf Basis der bisher vorliegenden Daten nicht zu beurteilen.

In der hier untersuchten Studienpopulation ließ sich jedoch keine Korrelation der NPR-A-Expression im subkutanen und viszeralen Fettgewebe mit dem jeweiligen BMI der Probanden nachweisen.

In der Literatur gibt es nicht viele Daten bezüglich dieser Fragestellung. In 32 gesunden männlichen Probanden mit einem mittleren Alter von  $36,06 \pm 7,36$  Jahren und mit einem mittleren BMI von  $27,60 \pm 4,63$  kg/m<sup>2</sup> zeigte sich eine negative Assoziation zwischen der Expression von NPR-A im subkutanen Fettgewebe und dem BMI [61]. Die Anzahl der Probanden war gering und es handelte sich ausschließlich um Männer [61]. In einer weiteren Arbeit von Kovacova et al. zeigte sich eine signifikant niedrigere NPR-A-Expression im subkutanen Fettgewebe bei adipösen im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden [117]. Der mittlere BMI der Probanden war  $30,4 \pm 1,3$  kg/m<sup>2</sup> [117]. Eine niedrigere NPR-A-Expression in subkutanem und viszeralem Fettgewebe von adipösen Probanden mit einem mittleren BMI von  $46,5$  kg/m<sup>2</sup> fanden auch Gentili et al. [73]. Niedrigere Expression von NPR-A in Fettgewebe bei adipösen Probanden zeigten auch die Arbeit von Coué [43] und die Arbeitsgruppe von Rydén [209]. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen wurde eine Reduktion der NPR-A-Expression im subkutanen Fett nach Gewichtsabnahme durch eine kalorienarme Diät nach 10 Wochen beschrieben [196, 251]. Dies spricht eher für eine positive Assoziation von NPR-A und BMI. Die von anderen Arbeitsgruppen beschriebene negative Assoziation der NPR-A-Expression und des BMI wurde in diesem Kollektiv nicht gezeigt. Das Kollektiv dieser Arbeit bestand allerdings aus Probanden mit einem deutlich höheren mittleren BMI. Die Arbeitsgruppe von

Kovacova fand keine Abhängigkeit der Expression von NPR-A vom Geschlecht der Probanden oder vom Alter [117], sodass diese spezifischen Charakteristika des ROBS-Kollektivs womöglich keine wesentliche Rolle spielten.

Die Mechanismen der Korrelation der NPR-A-Expression mit dem BMI sind nicht aufgeklärt. Es gibt aber Hinweise, dass mehrere Faktoren in Kombination mit dem Gewicht eine Rolle spielen. In Mausmodellen hat Insulin die Expression von NPR-A reduziert [163]. Eine Studie an Menschen ergab eine negative Korrelation mit Parametern des Glukosestoffwechsels [117]. Die Expression von NPR-A war außer mit dem BMI auch mit dem Fettgehalt negativ assoziiert [61]. Die durch NP induzierte Lipolyse und Steigerung des Energieverbrauchs - Effekte, welche durch die Bindung der NPs mit dem NPR-A erfolgen -, könnten eine weitere mögliche Verbindung darstellen [61].

Ein wichtiges Ergebnis dieser Arbeit ist der fehlende Zusammenhang der Serumkonzentration von NT-proANP mit der Expression von NPR-A in beiden Fettgewebsdepots. Die genaueren möglichen Regulationsmechanismen der NPR-A-Expression, besonders in Assoziation mit den Serum-NPs, sind nicht geklärt. Die in dieser Arbeit fehlende Korrelation lässt das Fehlen eines direkten Rückkopplungsmechanismus der NPR-A-Expression im Fettgewebe durch NPs vermuten. Zudem scheinen also andere zelluläre Sekretionsorte/-organe für die Serumkonzentrationen verantwortlich zu sein. Somit hat die adipozytäre Sekretion von ANP womöglich eher eine autokrine oder parakrine Rolle als eine endokrine.

In der Literatur wurden einige Mechanismen vorgeschlagen. Normalerweise ist der NPR-A an sechs Stellen phosphoryliert. Jede Dephosphorylierung führt zur Reduktion seiner Aktivität und ab einer Dephosphorylierung von 4 Stellen wird der Rezeptor deaktiviert [200]. Die chronische Exposition von NPR-A gegenüber NPs führt zu Dephosphorylierung des Rezeptors mit Folge seiner Desensibilisierung gegenüber NPs [199, 200]. Zur Desensibilisierung kommt es auch durch Angiotensin, Endothelin und Arginin-Vasopressin [200].

Andere Arbeiten zeigten unter einer verlängerten Exposition von NPR-A gegenüber ANP sogar eine Reduktion der mRNA-Spiegel von NPR-A [191]. Ein Degradations-Mechanismus durch die Bindung von ANP wurde auch diskutiert [60].

Es sollte betont werden, dass in dieser Arbeit nur die Expression und nicht die Aktivität von NPR-A gemessen wurde. Weitere Studien zur Abklärung der zugrundeliegenden Mechanismen sind erforderlich.

### **5.2.3. NT-proANP und Gewichtsabnahme**

Bestandteil dieser Arbeit war die weitere Bestimmung der Serumspiegel von NT-proANP während und nach Beendigung eines Langzeitadipositastherapieprogramms mittels Diät sowie nach einer bariatrischen Operation und die Überprüfung der bestehenden Korrelationen.

Ein Jahr nach dem Beginn des Langzeitadipositastherapieprogramms fanden sich signifikant höhere Serumspiegel für NT-proANP ( $p=0.004$ ). Die basale Serumkonzentration von NT-proANP sowie deren Veränderung während des Therapieprogramms hatten keine signifikante Assoziation mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme während der konservativen Therapie.

Die vorliegenden Daten aus früheren Studien sind teilweise kontrovers. In einer kleinen Studie mit 12 übergewichtigen und adipösen Probanden mit arterieller Hypertonie zeigte sich nach einer hypokalorischen Diät eine signifikante Senkung von ANP und BNP nach 3 Wochen [147]. In diesem Zeitraum war eine signifikante, aber nur leichte Gewichtsabnahme zu dokumentieren [147]. Bei 12 adipösen Probanden waren ANP und NT-proANP signifikant reduziert nach 8 Tagen von niedrigkalorischer und natriumreduzierter Diät [146]. Dieser Effekt war laut den Autoren am ehesten im Rahmen des niedrigeren intravasalen Volumens zu interpretieren [146]. Nach einer dreiwöchigen niedrigkalorischen Diät und körperlicher Aktivität bei 14 adipösen Probanden stiegen die Spiegel von NT-proBNP signifikant [59]. Der Anstieg korrelierte nicht signifikant mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme [59]. In einer Arbeit mit 131 adipösen Probanden ergab sich nach Lebensstilveränderung eine signifikante BNP-Erhöhung in 3 Monaten, welche hingegen abhängig vom Ausmaß der Gewichtsabnahme war [26]. Bei adipösen Probanden kam es nach Gewichtsabnahme von ca. 20% bei einem intensiven Gewichtsreduktionprogramm über 52 Wochen zu einem signifikanten Anstieg von NT-proBNP und NT-proANP [113]. Dieser Anstieg war nicht korreliert mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme [113]. In einem Kollektiv mit übergewichtigen und adipösen

Probanden mit Diabetes mellitus waren die Spiegel von NT-proBNP ein Jahr nach dem Beginn einer intensiven Lebensstilintervention signifikant erhöht [14]. Der Anstieg korrelierte in dieser Studie mit der Gewichtsabnahme der Probanden [14].

In Arm der operativen Therapie waren die Serumspiegel von NT-proANP nach den ersten postoperativen Tagen signifikant erniedrigt ( $p < 0.001$ ) und nach 3 ( $p = 0.029$ ) und 12 Monaten ( $p = 0.002$ ) signifikant erhöht im Vergleich zu den präoperativen Spiegel. Es lag keine signifikante Assoziation der basalen Serumkonzentration sowie deren Veränderung mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme im Zeitraum der 12 Monate vor.

Mehrere Arbeitsgruppen untersuchten die Veränderung der NPs nach bariatrischer Operation [1, 2, 195, 28, 30, 67, 70, 108, 121, 140, 141]. Laut einem Review vom Jahr 2020 ergab sich in 12 Studien mit insgesamt 622 Probanden, welche eine bariatrische Operation bekamen, eine signifikante Erhöhung der Spiegel von BNP 6 Monate und von NT-proBNP 6 und 12 Monate postoperativ [4]. Auch für ANP [5, 74] und NT-proANP [5] fand sich eine signifikante Erhöhung der Konzentrationen 6 Monate postoperativ. Der Anstieg von NT-proANP nach Gewichtsabnahme ein Jahr nach bariatrischer OP war größer im Vergleich zu dem Anstieg nach Lebensstilmodifikation [67]. In einigen Studienkollektiven korrelierte der Anstieg der Konzentration der NPs mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme [28, 30]. Diese Korrelation bestätigte sich aber nicht in anderen Studien. Die Arbeitsgruppe von Hanusch-Enserer fand eine signifikante Senkung der Konzentration von NT-proBNP nach Gewichtsabnahme ein Jahr nach Magenband. Allerdings waren in diesem Kollektiv die NT-proBNP-Konzentrationen deutlich höher bei den adipösen Probanden im Vergleich zu der Kontrollgruppe [81]. Eine Reduktion der Spiegel von NT-proBNP nach bariatrischer Operation (Magenbypass, Schlauchmagen, Magenband) fand auch die Arbeitsgruppe von Donnellan [54].

Die negative Assoziation der NPs mit dem Gewicht ist schon beschrieben und kann als Grund der Erhöhung der NPs nach der erfolgten Diät bzw. nach der bariatrischen Operation diskutiert werden. Allerdings waren die NP-Spiegel in einer Studie schon kurzfristig nach Beginn der Diät und nach nur leichter Gewichtsabnahme angestiegen [147]. Der Zusammenhang des Anstieges mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme wurde nicht von allen Arbeitsgruppen untersucht und bei einigen lag keine signifikante Korrelation vor [59, 113, 200]. Daher scheint die Gewichtsabnahme nicht der einzige Faktor, welcher die NPs nach der bariatrischen Operation und der Durchführung einer



Diät beeinflusst. Dieser Anstieg könnte auch im Rahmen der Verbesserung der kardiometabolischen Faktoren, wie des Blutdrucks [147], der Glukosespiegel [1, 113] und des Fettgehalts [1, 113] auftreten. Ein Zusammenhang mit der Nieren-Hyperfiltration, welche bei Adipositas beobachtet wird und nach Gewichtsabnahme nachlässt, kann diskutiert werden. Allerdings kommt es bereits zur Änderung von NPs noch bevor diese nachweisbar ist [30]. Eine Assoziation der höheren Konzentrationen der NPs nach bariatrischer Operation mit dem Anstieg von GLP-1 nach Gewichtsabnahme wurde auch diskutiert [82, 186] und könnte eine weitere Verknüpfung darstellen. Nach bariatrischer Operation fand sich eine Reduktion der Neprilysin Konzentration [74] und durch Fasten bei Mäusen wurde eine reduzierte NPR-C-Expression im Fettgewebe bewirkt [217], so dass ein verminderter Abbau von NPs sich denken lässt. Basierend auf der fehlenden Korrelation des basalen Serumspiegels von NT-proANP mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme kann vermutet werden, dass dieser basale Spiegel keinen prognostischen Wert und Einfluss auf die Entwicklung des Gewichts hat, zumindest nicht unabhängig von anderen Faktoren.

Im operativen Arm dieser Kohorte fand sich eine signifikante Reduktion von NT-proANP in den ersten postoperativen Tagen ( $p < 0.001$ ), was ja noch nicht durch eine Gewichtsreduktion erklärbar ist. Welche Faktoren hierbei eine Rolle spielen können, ist unklar. Dieser Effekt so kurzfristig nach Durchführung der bariatrischen Operation bedarf weiterer Aufklärung, könnte aber durch den Anstieg der systemischen Gallensäurenkonzentration bedingt sein. Die Arbeitsgruppe von Gentili fand eine negative Korrelation von BNP mit IL-6 [73]. Beschrieben wurde auch eine negative Assoziation von NT-proBNP mit dem Akutphasenprotein CRP [29]. Somit ist eine Senkung der NPs assoziiert mit der Entzündungsreaktion postoperativ denkbar. Weitere Faktoren wie die Medikamenteneinnahme perioperativ, die Ernährung während der ersten postoperativen Tage, die Volumenlast oder eine Änderung der GFR wurden nicht untersucht. Mögliche Kurzzeit-Mediatoren dieser Effekte könnten auch GLP-1/GIP, Gallensäuren sein, welche sich kurz nach bariatrischer Operation verändern.

In dieser Studie wurde keine Korrelation der Expression von NPR-A im subkutanen und viszeralen Fettgewebe mit der Gewichtsabnahme postoperativ beobachtet. In der Literatur gibt es keine Daten zu dieser Fragestellung. Es gibt somit keine bekannten Anhaltspunkte dafür, dass die präoperative Expression von NPR-A einen regulativen

Einfluss auf den Verlauf der Gewichtsabnahme hat. Ein Zusammenhang mit dem Gewicht ist eher unwahrscheinlich.

#### **5.2.4. NT-proANP und FGF19 und FGF21**

Weiterer Bestandteil dieser Arbeit war die Untersuchung einer möglichen Assoziation von NT-proANP mit FGF19 und FGF21, um einen möglichen „*cross-talk*“ mit diesen metabolisch relevanten Faktoren zu untersuchen. Im vorliegenden Studienkollektiv wurde eine signifikant positive Korrelation der Serumkonzentration von NT-proANP mit der Serumkonzentration von FGF19 und FGF21 festgestellt.

Auch in einer früheren Studie unserer Arbeitsgruppe bei gesunden Probanden zeigte sich eine signifikant positive Korrelation von NT-proANP mit FGF19 und FGF21 [221]. Bei Probanden mit kardiovaskulären Vorerkrankungen wurde ebenfalls eine positive Korrelation zwischen FGF21 und NT-proBNP festgestellt [35]. In einer weiteren Studie, welche die Rolle von FGF21 in kardiovaskulären Erkrankungen und kardialer Kachexie untersuchte, fand sich kein Zusammenhang zwischen FGF-21 und NT-proBNP [205].

Die aus diesem Studienkollektiv gewonnenen Daten lassen einen möglichen *cross-talk* zwischen den natriuretischen Peptiden und der FGF-Gruppe vermuten. Es ist bekannt, dass FGF19 und FGF21 wie die NPs eine essentielle Rolle im Glukose- und Lipidstoffwechsel spielen [53]. Dies könnte eine mögliche Verbindung darstellen. Allerdings sind weitere mechanistische Studien erforderlich, um diese Assoziation und die genaueren Mechanismen zu untersuchen und zu verstehen.

### 5.2.5. Fazit

Die vorliegende Arbeit konnte folgende Hauptergebnisse erzielen:

- a) NPR-A wird stark im humanen Fettgewebe in einer sehr großen Kohorte adipöser Probanden exprimiert. Die Expression ist signifikant höher im viszeralen Fettgewebe versus dem subkutanen Fettgewebe. Daher stellt sich die Frage, welche Rolle der NPR-A im Rahmen der sogenannten „Adipose Inflammation“ beim metabolischen Syndrom („Metaflammation“) spielt.
- b) Die NPR-A-Expression korreliert nicht mit den systemischen NT-proANP-Spiegeln. Daher ist diese Expression vermutlich eher von parakriner/autokriner Bedeutung als von endokriner Bedeutung.
- c) Die Veränderung der Serumspiegel von NT-proANP nach bariatrischer Operation geschieht schnell innerhalb weniger Tage, ist daher unabhängig von den langfristigen Gewichtsentwicklungen. Daher kommen möglicherweise schnell reagable Systeme wie Inkretine und Gallensäuren in den Focus einer schnellen, postoperativen, inhibitorischen Regulation des NT-proANP.
- d) Im langfristigen Verlauf steigen sowohl nach Diät als auch nach bariatrischer Operation die Serum NT-proANP-Spiegel an, was im Gegensatz zu c) eher langfristige Gewichtseffekte nahelegt (z.B. Stoffwechsellnormalisierung, Adipokinmuster).

Die Betrachtung der Ergebnisse dieser Arbeit und der Vergleich bzw. die Gegenüberstellung dieser mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen lassen Rückschlüsse auf die Funktion und die Regulation der natriuretischen Peptide bei der Adipositas ziehen.

Das NT-proANP zeigte in diesem Kollektiv einen positiven Zusammenhang mit dem Alter der Probanden. Eine Korrelation mit weiteren anthropometrischen Parametern wie Geschlecht und BMI wurde nicht festgestellt. Dies widerspricht zum Teil den Ergebnissen von Studien anderer Arbeitsgruppen. Allerdings sollte bei der Interpretation das unterschiedliche Setting dieser Kohorte bedacht werden. Insbesondere sollte der im Vergleich zu anderen Kollektiven stark erhöhte BMI dieser Probanden berücksichtigt werden. Die von anderen Arbeitsgruppen beschriebene Korrelation der natriuretischen Peptide mit dem Geschlecht und dem BMI sind Beobachtungen, die als Ausgangspunkt einiger Hypothesen fungieren können. Letztendlich sind aber die genauen

zugrundeliegenden Mechanismen hierfür noch nicht aufgeklärt.

Auch die beobachtete Korrelation mit den Triglyzeriden, welche allerdings in dieser Kohorte nur im Arm der operativen Therapie festgestellt wurde, lässt vermuten, dass ein Regulationsmechanismus zwischen der Wirkung der natriuretischen Peptide und der Lipide vorliegt. Eine lipolytische Wirkung der natriuretischen Peptide wurde bereits nachgewiesen. Die genauen Regulationsmechanismen bleiben aber noch unklar. Hier wäre die Analyse der sogenannten gesamt-Fettsäuren im Serum aufschlussreich.

Die Untersuchung der Expression von NPR-A im Fettgewebe, durch welchen die natriuretischen Peptide lokal ihre Wirkung entfalten, kann das Verständnis der Funktion der natriuretischen Peptide im Fettgewebe und die Zusammenhänge mit der Adipositas fördern. Basierend auf die bisherigen Untersuchungen scheint der Mechanismus sehr komplex zu sein und ein Zusammenhang scheint nicht nur mit dem Gewicht, sondern auch mit anderen Stoffwechselkreisen zu bestehen.

Inwieweit die Regulation der adipozytären Expression von NPR-A durch die natriuretischen Peptide relevant ist, bleibt bisher noch nicht vollständig geklärt. Die in dieser Studie nicht beobachtete Korrelation der Serumkonzentration von NT-proANP mit der Expression von NPR-A ist entscheidend, weil sie vermuten lässt, dass eher kein direkter und exklusiver Rückkopplungsmechanismus durch die natriuretischen Peptide besteht.

Von großer Bedeutung sind die Ergebnisse der Serumspiegel von NT-proANP nach Langzeit-Adipositasstherapieprogramm und bariatrischer Operation. Der Anstieg der Konzentration scheint, auch basierend auf den Rückschlüssen anderer Arbeitsgruppen, nicht nur in Zusammenhang mit dem Gewicht, sondern auch mit der Verbesserung weiterer Stoffwechselfparameter zu stehen.

Die Korrelation von NT-proANP mit FGF19 und FGF21 stärkt weiter die Hypothese, dass die natriuretischen Peptide in ihrer metabolischen Rolle mit diesen Faktoren interagieren.

Abschließend sind die genauen Mechanismen noch unklar, aber es ist weitgehend akzeptiert, dass die natriuretischen Peptide eine bedeutende Rolle im Kohlehydrat- und Lipid-Metabolismus spielen und ein entscheidendes Bindeglied zwischen den verschiedenen Systemen darstellen. Die vielen noch offenen Fragen sollten durch weitere künftige Studien erforscht werden. Die Daten aus dieser Arbeit bieten hierfür eine valide

Grundlage. Das Verständnis der Wirkungs- und Regulationsmechanismen der natriuretischen Peptide könnte helfen, einen besseren Überblick der metabolischen Pfade im menschlichen Körper zu bekommen und zukünftig Ansatzpunkte zur Behandlung metabolischer Dysfunktionen und Erkrankungen zu finden.

## 6. Zusammenfassung

Die zahlreichen metabolischen Wirkungen der atrialen natriuretischen Peptide sind Gegenstand intensiver Forschung. Die genaue Wirkung und Assoziation mit der Adipositas sind aber bisher nicht völlig abgeklärt. In dieser Arbeit wurde diese Assoziation longitudinal, sowohl in einem konservativen Adipositastherapieprogramm mittels strukturierter Formuladiät als auch nach bariatrischer Operation, in einem großen, gut charakterisierten Kollektiv von adipösen Probanden untersucht. Dafür wurden die Serumkonzentration von NT-proANP und die Expression von NPR-A in gepaarten Fettgewebsproben aus subkutanem und viszeralem Fett bestimmt und beurteilt.

Die Serumkonzentration von NT-proANP zeigte in beiden Armen dieses Kollektivs einen positiven Zusammenhang mit dem Alter, aber nicht mit dem Geschlecht oder dem BMI der Probanden. Die Triglyzeride waren bei den Probanden des operativen Arms mit dem Serumspiegel von NT-proANP negativ korreliert. Die NPR-A-Expression war signifikant höher im viszeralen als im subkutanen Fettgewebe. Es wurde jedoch keine Korrelation der NPR-A-Expression weder im subkutanen noch im viszeralen Fettgewebe mit dem BMI oder mit dem Serumspiegel von NT-proANP beobachtet. Die NT-proANP-Serumspiegel stiegen signifikant während der Langzeitadipositas therapie mittels strukturierter Formuladiät. Nach einer bariatrischen Operation kam es nach einer signifikanten Absenkung in den ersten postoperativen Tagen zu einem anschließenden signifikanten Anstieg von NT-proANP innerhalb eines Jahres. Die basalen NT-proANP-Spiegel in beiden Armen der Kohorte, deren Veränderung während des Beobachtungszeitraums sowie die Expression von NPR-A im Fettgewebe korrelierten nicht mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme. Die Serumkonzentration von NT-proANP war in beiden Armen der Kohorte mit den Serumkonzentrationen von FGF19 und FGF21 statistisch signifikant assoziiert.

Obwohl die genauen Mechanismen noch unklar sind, ist die pleiotrope Rolle der natriuretischen Peptide im Metabolismus schon weitgehend akzeptiert. Künftige weitere Studien sollen die noch offenen Fragen erforschen. Die Daten aus dieser Arbeit bieten hierfür eine valide Grundlage. Durch das Verständnis der Wirkungs- und Regulationsmechanismen der natriuretischen Peptide könnten die metabolischen Pfade im menschlichen Körper aufgeklärt werden und Ansatzpunkte zur Behandlung der

metabolischen Erkrankungen gefunden werden.

## 6. Summary

The numerous metabolic effects of the natriuretic peptides have been investigated for decades. However, their association with obesity is not fully clarified. In this study, the aforementioned association was investigated prospectively in a large, well-characterized obese patients` cohort, who either participated in a conservative obesity-therapy-program (diet) or underwent bariatric surgery. For this purpose, the serum concentration of NT-proANP and the expression of NPR-A in paired adipose tissue samples from subcutaneous and visceral adipose tissue were quantified.

The serum concentration of NT-proANP was (in both arms of the study) correlated positively with age, but not with gender or BMI of the patients. The systemic triglyceride levels were negatively correlated with the serum levels of NT-proANP in patients undergoing surgery. The expression of NPR-A was significantly higher in visceral adipose tissue when compared to subcutaneous adipose tissue. No correlation was shown between the expression of NPR-A (in both visceral and subcutaneous adipose tissue) and BMI, as well as between the expression of NPR-A and the serum levels of NT-proANP. The NT-proANP serum levels increased significantly during a long-term obesity therapy program with formula diet. Immediately after bariatric surgery, a significant decrease was observed, followed by a significant increase in NT-proANP after one year. The initial level of NT-proANP in both arms of the study, the alteration of the level of NT-proANP during the observation period and the expression of NPR-A in adipose tissue did not correlate with the extent of the weight loss. The serum concentration of NT-proANP in both arms of the study was significantly and positively associated with the serum concentrations of FGF19 and FGF21.

Although the exact mechanisms remain unclear, it is already widely accepted that the natriuretic peptides play a significant pleiotropic metabolic role and represent a crucial link between the various systems. Remaining open questions should be addressed by further studies. The results derived from this study offer a valid basis for further elaboration. Understanding the mechanisms of action and regulation of the natriuretic peptides could provide a better understanding of the metabolic pathways and provide perspectives for future treatment options in metabolic diseases.



## 7. Verzeichnisse

### 7.1. Abkürzungsverzeichnis

ANP	atrial natriuretic peptide
BMI	body mass index
BNP	brain-type natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide
BSA	bovine serum albumin
cAMP	cyclic adenosine monophosphate
cDNA	cyclic guanosine monophosphate cGMP
cGMP	complementary DNA
CNP	cyclic guanosine monophosphate
CRP	C-type natriuretic peptide
DNP	C-reaktives Protein
DPPIV	Dendroaspis natriuretic peptide
ELISA	Dipeptidylpeptidase 4
EtOH	Enzyme-linked immunosorbent assay
FGF	Ethylalkohol
FGFRs	Fibroblast growth factor
GAPDH	FGF receptors
GC	Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
GFR	Guanylylcyclase
GLP-1	glomerular filtration rate
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Glucagon-like Peptid 1
HSL	Schwefelsäure
IL-6	hormone sensitive lipase
IDE	Interleukin-6
mRNA	Insulysin
NEP	messenger-RNA
NO	neural endopeptidase neprilysin
NPs	nitric oxid
NPR-A	natriuretic peptides
NPR-B	Natriuretic Peptide Receptor Type A
NPR-C	Natriuretic Peptide Receptor Type B
	Natriuretic Peptide Receptor Type C

NT-proANP	N-terminal proatrial natriuretic peptide
NT-proBNP	N-terminal probrain natriuretic peptide
PBS	phosphat-buffered-saline
PKG	Protein kinase G
proANP	Pro-atrial natriuretic peptide
qPCR	Quantitative Real-time PCR (polymerase chain reaction)
RAAS-System	Renin-Aldosterone-Angiotensin System

## 7.2. Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Auflistung der verwendeten Geräte (Gerätetyp und Hersteller).....	11
<b>Tabelle 2:</b> Auflistung der verwendeten Verbrauchsmaterialien (Materialtyp und Hersteller).....	12
<b>Tabelle 3:</b> Auflistung der verwendeten Chemikalien (Chemikaliertyp und Hersteller).....	13
<b>Tabelle 4:</b> Auflistung der verwendeten Kit-Systeme (Kitsystem und Hersteller).....	13
<b>Tabelle 5:</b> Auflistung der verwendeten Primer-Paare für NPR-A (human) und GAPDH (human).....	14
<b>Tabelle 6:</b> Auflistung der verwendeten Puffer und Lösungen.....	14
<b>Tabelle 7:</b> Auflistung der verwendeten Software-Programme.....	14
<b>Tabelle 8:</b> Zeitpunkte der Untersuchungen der Probanden (in Monaten) im Arm der konservativen Therapie.....	16
<b>Tabelle 9:</b> Zeitpunkte der Untersuchungen der Probanden (in Monaten) im Arm der operativen Therapie.....	16
<b>Tabelle 10:</b> Charakteristika der Probanden des ROBS-Kollektivs (konservative Therapie). n=121, Zeitpunkt V0.....	21
<b>Tabelle 11:</b> Charakteristika der Probanden des ROBS-Kollektivs (Bariatrische Operation). n=163, Zeitpunkt V0 .....	22
<b>Tabelle 12:</b> Kein Unterschied im Mittelwert von NT-proANP im Serum zwischen beiden Geschlechtern (Konservative Therapie und operative Therapie). Mann-Whitney-U-Test.....	23
<b>Tabelle 13:</b> Korrelation des Mittelwerts von NT-proANP im Serum mit dem Alter (korrigiert für BMI) (Konservative Therapie und operative Therapie). Spearman-Test und partielle Korrelationsanalyse .....	23

### 7.3. Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Mittelwert-Vergleich der NT-proANP-Spiegel (pg/ml) im Serum nach BMI (kg/m <sup>2</sup> ) im Arm der konservativen Therapie. n=121. Kruskal-Wallis-Test, mean ±SEM.....	24
<b>Abbildung 2:</b> Fehlender Zusammenhang von NT-proANP (pg/ml) im Serum mit dem BMI (kg/m <sup>2</sup> ) im Arm der operativen Therapie. n=163. Kruskal-Wallis-Test, mean ±SEM.....	24
<b>Abbildung 3:</b> Fehlende Korrelation zwischen NT-proANP (pg/ml) im Serum und Triglyzeride (mg/dl) im Arm der konservativen Therapie. n=121. Spearman-Test.....	25
<b>Abbildung 4:</b> Korrelation zwischen NT-proANP (pg/ml) im Serum und Triglyzeriden (mg/dl) im Arm der operativen Therapie. n=146. Spearman-Test.....	25
<b>Abbildung 5:</b> Fehlende Korrelation der Expression von NPR-A im subkutanen Fettgewebe mit dem BMI (kg/m <sup>2</sup> ) der Probanden zu Zeitpunkt V0. n=157. Spearman-Test.....	26
<b>Abbildung 6:</b> Fehlende Korrelation der Expression von NPR-A im viszeralen Fettgewebe mit dem BMI (kg/m <sup>2</sup> ) der Probanden zu Zeitpunkt V0. n=157. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression, x10 <sup>3</sup> .....	27
<b>Abbildung 7:</b> Expression von NPR-A im subkutanen und im viszeralen Fettgewebe. n=157. Wilcoxon-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression, x10 <sup>3</sup> .....	27
<b>Abbildung 8:</b> Fehlende Korrelation zwischen der Expression von NPR-A im subkutanen und viszeralen Fettgewebe. n=157. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression, x10 <sup>3</sup> .....	28
<b>Abbildung 9:</b> Fehlende Korrelation von NT-proANP im Serum mit der Expression von NPR-A im subkutanen Fettgewebe. n=157. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression, x10 <sup>3</sup> .....	28
<b>Abbildung 10:</b> Fehlende Korrelation von NT-proANP im Serum mit der Expression von NPR-A im viszeralen Fettgewebe. n=157. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression, x10 <sup>3</sup> .....	29

<b>Abbildung 11:</b> NT-proANP im Serum zu den Zeitpunkten V0, V3 und V12 bei den Probanden der konservativen Therapie. n=57. Friedman-Test für die Subgruppen, Mean±SEM.....	30
<b>Abbildung 12:</b> Fehlende Korrelation der basalen NT-proANP-Serumspiegel mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der konservativen Therapie. n=91. Spearman-Test.....	31
<b>Abbildung 13:</b> Fehlende Korrelation der Veränderung der NT-proANP-Serumspiegel mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der konservativen Therapie. n=56. Spearman-Test.....	32
<b>Abbildung 14:</b> NT-proANP-Serumspiegel zu den Zeitpunkten V0, V1, V3 und V12 in der Gruppe der bariatrisch operierten Patienten. n=73. Friedman-Test.....	33
<b>Abbildung 15:</b> Fehlende Korrelation der basalen NT-proANP-Serumspiegel mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der operativen Therapie. n=124. Spearman-Test.....	34
<b>Abbildung 16:</b> Fehlende Korrelation der Veränderung der NT-proANP-Serumspiegel mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der operativen Therapie. n=71. Spearman-Test.....	35
<b>Abbildung 17:</b> Fehlende Korrelation der NPR-A-Expression im subkutanen Fettgewebe mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der operativen Therapie. n=116. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression, x10 <sup>3</sup> .....	36
<b>Abbildung 18:</b> Fehlende Korrelation der NPR-A-Expression im viszeralen Fettgewebe mit dem Ausmaß der Gewichtsabnahme (kg) zwischen den Zeitpunkten V0 und V12 in der Gruppe der operativen Therapie. n=116. Spearman-Test. NPR-A/GAPDH, rel. Genexpression, x10 <sup>3</sup> .....	36
<b>Abbildung 19:</b> Korrelation von NT-proANP im Serum mit FGF19 im Serum im Arm der konservativen Therapie zum Zeitpunkt V0. n=118. Spearman-Test.....	37
<b>Abbildung 20:</b> Korrelation von NT-proANP im Serum mit FGF21 im Serum im Arm der konservativen Therapie zum Zeitpunkt V0. n=119. Spearman-Test.....	37
<b>Abbildung 21:</b> Korrelation von FGF19 mit FGF21 im Serum im Arm der konservativen Therapie zum Zeitpunkt V0. Spearman-Test.....	38
<b>Abbildung 22:</b> Korrelation von NT-proANP mit FGF19 im Serum im Arm der operativen Therapie zu Zeitpunkt V0. Spearman-Test.....	39

<b>Abbildung 23:</b> Korrelation von NT-proANP mit FGF21 im Serum im Arm der operativen Therapie zu Zeitpunkt V0. Spearman-Test.....	39
<b>Abbildung 24:</b> Korrelation von FGF19 mit FGF21 im Serum im Arm der operativen Therapie zu Zeitpunkt V0. Spearman-Test.....	40

#### 7.4. Literatur

1. Aakre KM, Omland T, Nordstrand N, Gjevestad ES, Holven KB, Lyngbakken MN, Hjelmæsæth J (2020) Gastric bypass surgery is associated with reduced subclinical myocardial injury and greater activation of the cardiac natriuretic peptide system than lifestyle intervention. *Clin Biochem* 86:36–44. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2020.09.006
2. Abrahamsson N, Engström BE, Sundbom M, Karlsson FA (2013) Gastric bypass surgery elevates NT-ProBNP levels. *Obes Surg* 23:1421–1426. doi: 10.1007/s11695-013-0889-z
3. Akimoto K, Miyata A, Kangawa K, Koga Y, Hayakawa K, Matsuo H (1988) Molecular forms of atrial natriuretic peptide in the atrium of patients with cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 67:93–7. doi: 10.1210/jcem-67-1-93
4. Anvari S et al. (2020) Effect of bariatric surgery on natriuretic peptide levels. *Cardiol Rev* Epub ahead
5. Arora P, Reingold J, Baggish A, Guanaga DP, Wu C, Ghorbani A, Song Y, Chen-Tournaux A, Khan AM, Tainsh LT, Buys ES, Williams JS, Heublein DM, Burnett JC, Semigran MJ, Bloch KD, Scherrer-Crosbie M, Newton-Cheh C, Kaplan LM, Wang TJ (2015) Weight loss, saline loading, and the natriuretic peptide system. *J Am Heart Assoc* 4:e001265. doi: 10.1161/JAHA.114.001265
6. Babaknejad N, Nayeri H, Hemmati R, Bahrami S, Esmailzadeh A (2018) An Overview of FGF19 and FGF21: The Therapeutic Role in the Treatment of the Metabolic Disorders and Obesity. *Horm Metab Res* 50:441–452. doi: 10.1055/a-0623-2909
7. Bachmann KN, Deger SM, Alsouqi A, Huang S, Xu M, Ferguson JF, Su YR, Niswender KD, Ikizler TA, Wang TJ (2018) Acute effects of insulin on circulating natriuretic peptide levels in humans. *PLoS One* 13:e0196869. doi: 10.1371/journal.pone.0196869
8. Baldassarre S, Fragapani S, Panero A, Fedele D, Pinach S, Lucchiari M, Vitale AR, Mengozzi G, Gruden G, Bruno G (2017) NTproBNP in insulin-resistance

- mediated conditions: Overweight/obesity, metabolic syndrome and diabetes. The population-based Casale Monferrato Study. *Cardiovasc Diabetol* 16:119. doi: 10.1186/s12933-017-0601-z
9. Bao Y, Shang X, Zhou L, Hu R, Li Y, Ding W (2011) Relationship between N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels and metabolic syndrome. *Arch Med Sci* 7:247–56. doi: 10.5114/aoms.2011.22075
  10. Bartels ED, Nielsen JM, Bisgaard LS, Goetze JP, Nielsen LB (2010) Decreased expression of natriuretic peptides associated with lipid accumulation in cardiac ventricle of obese mice. *Endocrinology* 151:5218–25. doi: 10.1210/en.2010-0355
  11. Bayes-Genis A, Lloyd-Jones DM, van Kimmenade RRJ, Lainchbury JG, Richards AM, Ordoñez-Llanos J, Santaló M, Pinto YM, Januzzi JL (2007) Effect of body mass index on diagnostic and prognostic usefulness of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with acute dyspnea. *Arch Intern Med* 167:400–7. doi: 10.1001/archinte.167.4.400
  12. Beleigoli AMR, Diniz MFHS, Ribeiro ALP (2009) Natriuretic peptides: Linking heart and adipose tissue in obesity and related conditions - A systematic review. *Obes Rev* 10:617–26. doi: 10.1111/j.1467-789X.2009.00624.x
  13. Bennett BD, Bennett GL, Vitangcol R V, Jewett JR, Burnier J, Henzel W, Lowe DG (1991) Extracellular domain-IgG fusion proteins for three human natriuretic peptide receptors. Hormone pharmacology and application to solid phase screening of synthetic peptide antisera. *J Biol Chem* 266:23060–7
  14. Bertoni AG, Wagenknecht LE, Kitzman DW, Marcovina SM, Rushing JT, Espeland MA (2012) Impact of the look AHEAD intervention on NT-pro brain natriuretic peptide in overweight and obese adults with diabetes. *Obesity* 20:1511–1518. doi: 10.1038/oby.2011.296
  15. Birkenfeld AL, Boschmann M, Engeli S, Moro C, Arafat AM, Luft FC, Jordan J (2012) Atrial natriuretic peptide and adiponectin interactions in man. *PLoS One* 7:e43238. doi: 10.1371/journal.pone.0043238
  16. Birkenfeld AL, Boschmann M, Moro C, Adams F, Heusser K, Franke G, Berlan M, Luft FC, Lafontan M, Jordan J (2005) Lipid mobilization with physiological



- atrial natriuretic peptide concentrations in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 90:3622–3628. doi: 10.1210/jc.2004-1953
17. Birkenfeld AL, Boschmann M, Moro C, Adams F, Heusser K, Tank J, Diedrich A, Schroeder C, Franke G, Berlan M, Luft FC, Lafontan M, Jordan J (2006) Beta-Adrenergic and Atrial Natriuretic Peptide Interactions on Human Cardiovascular and Metabolic Regulation. *J Clin Endocrinol Metab* 91:5069–75. doi: 10.1210/jc.2006-1084
  18. Birkenfeld AL, Budziarek P, Boschmann M, Moro C, Adams F, Franke G, Berlan M, Marques M a, Sweep FCGJ, Luft FC, Lafontan M, Jordan J (2008) Atrial Natriuretic Peptide Induces Postprandial Lipid Oxidation in Humans. *Diabetes* 57:3199–204. doi: 10.2337/db08-0649
  19. de Bold A, Borenstein H, Veress A, Sonnenberg H (1981) A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 28:89–94. doi: 10.1016/0024-3205(81)90370-2
  20. de Bold AJ (1985) Atrial natriuretic factor: a hormone produced by the heart. *Science* 230:767–70. doi: 10.1126/science.2932797
  21. De Bold AJ, Bruneau BG, Kuroski De Bold ML (1996) Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart. *Cardiovasc Res* 31:7–18. doi: 10.1016/0008-6363(95)00121-2
  22. Bordicchia M, Liu D, Amri EZ, Ailhaud G, Dessì-Fulgheri P, Zhang C, Takahashi N, Sarzani R CS (2012) Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. *J Clin Invest* 122:1022–1036. doi: 10.1172/JCI59701DS1
  23. Brock J, Schmid A, Karrasch T, Pfefferle P, Schlegel J, Busse I, Hauenschild A, Schmidt B, Koukou M, Arapogianni E, Schultz A, Thomalla M, Akinci S, Kruse J, Padberg W, Schäffler A, Albrecht J (2019) Progranulin serum levels and gene expression in subcutaneous vs visceral adipose tissue of severely obese patients undergoing bariatric surgery. *Clin Endocrinol (Oxf)* 91. doi: 10.1111/cen.14040
  24. Bryan PM, Smirnov D, Smolenski A, Feil S, Feil R, Hofmann F, Lohmann S, Potter LR (2006) A sensitive method for determining the phosphorylation status

- of natriuretic peptide receptors: cGK-I $\alpha$  does not regulate NPR-A. *Biochemistry* 45:1295–1303. doi: 10.1021/bi051253d
25. Burnett JC, Granger JP, Opgenorth TJ (1984) Effects of synthetic atrial natriuretic factor on renal function and renin release. *Am J Physiol* 247:F863-6. doi: 10.1152/ajprenal.1984.247.5.F863
  26. Chainani-Wu N, Weidner G, Purnell DM, Frenda S, Merritt-Worden T, Kemp C, Kersh E, Ornish D (2010) Relation of B-Type Natriuretic Peptide Levels to Body Mass Index After Comprehensive Lifestyle Changes. *Am J Cardiol* 105:1570–1576. doi: 10.1016/j.amjcard.2010.01.016
  27. Chang AY, Abdullah SM, Jain T, Stanek HG, Das SR, Mcguire DK, Mhs C, Auchus RJ, Lemos JA De (2007) Associations Among Androgens , Estrogens , and Natriuretic Peptides in Young Women Observations From the Dallas Heart Study. 49:109–16. doi: 10.1016/j.jacc.2006.10.040
  28. Changchien EM, Ahmed S, Betti F, Higa J, Kiely K, Hernandez-Boussard T, Morton J (2011) B-type natriuretic peptide increases after gastric bypass surgery and correlates with weight loss. *Surg Endosc* 25:2338–43. doi: 10.1007/s00464-010-1565-1
  29. Che W, Zhang B, Liu W, Wei Y, Xu Y, Hu D (2012) Association between high-sensitivity C-reactive protein and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with hepatitis C virus infection. *Mediators Inflamm* 2012:730923. doi: 10.1155/2012/730923
  30. Chen-Tournoux A, Khan AM, Baggish AL, Castro VM, Semigran MJ, McCabe EL, Moukarbel G, Reingold J, Durrani S, Lewis GD, Newton-Cheh C, Scherrer-Crosbie M, Kaplan LM, Wang TJ (2010) Effect of Weight Loss After Weight Loss Surgery on Plasma N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Levels. *Am J Cardiol* 106:1450–1455. doi: 10.1016/J.AMJCARD.2010.06.076
  31. Chen BN, Rayner TE, Menadue MF, McLennan PL, Oliver JR (1993) Effect of ischaemia and role of eicosanoids in release of atrial natriuretic factor from rat heart. *Cardiovasc Res* 27:1576–9. doi: 10.1093/cvr/27.9.1576 Abstract
  32. Chen Y-F (2005) Atrial natriuretic peptide in hypoxia. *Peptides* 26:1068–1077.

doi: 10.1016/j.peptides.2004.08.030

33. Cheng S, Fox CS, Larson MG, Massaro JM, McCabe EL, Khan AM, Levy D, Hoffmann U, O'Donnell CJ, Miller KK, Newton-Cheh C, Coviello AD, Bhasin S, Vasan RS, Wang TJ (2011) Relation of Visceral Adiposity to Circulating Natriuretic Peptides in Ambulatory Individuals. *Am J Cardiol* 108:979–984. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.05.033
34. Chopra S, Cherian D, Verghese P, Jacob JJ (2013) Physiology and clinical significance of natriuretic hormones. *Indian J Endocrinol Metab* 17:83–90. doi: 10.4103/2230-8210.107869
35. Chou R-H, Huang P-H, Hsu C-Y, Chang C-C, Leu H-B, Huang C-C, Chen J-W, Lin S-J (2016) Circulating Fibroblast Growth Factor 21 is Associated with Diastolic Dysfunction in Heart Failure Patients with Preserved Ejection Fraction. *Sci Rep* 6:33953. doi: 10.1038/srep33953
36. Chusho H, Tamura N, Ogawa Y, Yasoda A, Suda M, Miyazawa T, Nakamura K, Nakao K, Kurihara T, Komatsu Y, Itoh H, Tanaka K, Saito Y, Katsuki M, Nakao K (2001) Dwarfism and early death in mice lacking C-type natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci* 98:4016–4021. doi: 10.1073/pnas.071389098
37. Clark BA, Elahi D, Epstein FH (1990) The influence of gender, age, and the menstrual cycle on plasma atrial natriuretic peptide. *J Clin Endocrinol Metab* 70:349–52. doi: 10.1210/jcem-70-2-349
38. Clark BA, Elahi D, Shannon RP, Wei JY, Epstein FH (1991) Influence of age and dose on the end-organ responses to atrial natriuretic peptide in humans. *Am J Hypertens* 4:500–7. doi: 10.1093/ajh/4.6.500
39. Clerico A, Fontana M, Vittorini S, Emdin M (2009) The search for a pathophysiological link between gender, cardiac endocrine function, body mass regulation and cardiac mortality: Proposal for a working hypothesis. *Clin Chim Acta* 405:1–7. doi: 10.1016/j.cca.2009.03.050
40. Clerico A, Giannoni A, Vittorini S, Emdin M (2012) The paradox of low BNP levels in obesity. *Heart Fail Rev* 17:81–96. doi: 10.1007/s10741-011-9249-z

41. Clerico A, Ry S Del, Maffei S, Prontera C, Emdin M, Giannessi D (2002) The Circulating Levels of Cardiac Natriuretic Hormones in Healthy Adults: Effects of Age and Sex. *Clin Chem Lab Med* 40:371–7. doi: 10.1515/CCLM.2002.060
42. Collins S (2014) A heart-adipose tissue connection in the regulation of energy metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 10:157–163. doi: 10.1038/nrendo.2013.234
43. Coué M, Barquissau V, Morigny P, Louche K, Lefort C, Mairal A, Carpené C, Viguerie N, Arner P, Langin D, Rydén M, Moro C (2018) Natriuretic peptides promote glucose uptake in a cGMP-dependent manner in human adipocytes. *Sci Rep* 8:1–12. doi: 10.1038/s41598-018-19619-0
44. Coué M, Moro C (2015) Natriuretic peptide control of energy balance and glucose homeostasis. *Biochimie* 124:84–91. doi: 10.1016/j.biochi.2015.05.017
45. Dananberg J, Grekin RJ (1992) Corticoid regulation of atrial natriuretic factor secretion and gene expression. *Am J Physiol Circ Physiol* 263:H1377–H1381. doi: 10.1152/ajpheart.1992.263.5.H1377
46. Daniels LB, Maisel AS (2007) Natriuretic Peptides. *J Am Coll Cardiol* 50:2357–68. doi: 10.1016/j.jacc.2007.09.021
47. Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, Canham RM, Chung AK, Leonard D, Wians FH, De Lemos JA (2005) Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides: Results from the Dallas Heart Study. *Circulation* 112:2163–2168. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.555573
48. Deschepper CF, Masciotra S, Zahabi A, Boutin-Ganache I, Picard S, Reudelhuber TL (2001) Functional alterations of the Nppa promoter are linked to cardiac ventricular hypertrophy in WKY/WKHA rat crosses. *Circ Res* 88:223–8. doi: 10.1161/01.res.88.2.223
49. Dessì-Fulgheri P, Sarzani R, Rappelli A (1998) The natriuretic peptide system in obesity-related hypertension: new pathophysiological aspects. *J Nephrol* 11:296–9
50. Dessì-Fulgheri P, Sarzani R, Tamburrini P, Moraca A, Espinosa E, Cola G,

- Giantomassi L, Rappelli A (1997) Plasma atrial natriuretic peptide and natriuretic peptide receptor gene expression in adipose tissue of normotensive and hypertensive obese patients. *J Hypertens* 15:1695–1698. doi: 10.1097/00004872-199715120-00074
51. Dietz JR (1988) The effect of angiotensin II and ADH on the secretion of atrial natriuretic factor. *Proc Soc Exp Biol Med* 187:366–9. doi: 10.3181/00379727-187-42678
  52. Dietz JR (2005) Mechanisms of atrial natriuretic peptide secretion from the atrium. *Cardiovasc Res* 68:8–17. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.06.008
  53. Dolegowska K, Marchelek-Mysliwiec M, Nowosiad-Magda M, Slawinski M, Dolegowska B (2019) FGF19 subfamily members: FGF19 and FGF21. *J Physiol Biochem* 75:229–240. doi: 10.1007/s13105-019-00675-7
  54. Donnellan E, Wazni OM, Elshazly M, Kanj M, Hussein AA, Baranowski B, Kochar A, Trulock K, Aminian A, Schauer P, Jaber W, Saliba WI (2020) Impact of Bariatric Surgery on Atrial Fibrillation Type. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 13:e007626. doi: 10.1161/CIRCEP.119.007626
  55. Dutka DP, Olivotto I, Ward S, Oakley CM, Impallomeni M, Cleland JGF (1996) Effects of aging on neuroendocrine activation in subjects and patients in the presence and absence of heart failure with left ventricular systolic dysfunction. *Am J Cardiol* 77:1197–1201. doi: 10.1016/S0002-9149(96)00162-2
  56. Emdin M, Passino C, Del Ry S, Prontera C, Galetta F, Clerico A (2003) Influence of gender on circulating cardiac natriuretic hormones in patients with heart failure. *Clin Chem Lab Med* 41:686–692. doi: 10.1515/CCLM.2003.104
  57. Engeli S, Birkenfeld AL, Badin P, Bourlier V, Louche K, Viguerie N, Thalamas C, Montastier E, Larrouy D, Harant I, Glisezinski I De, Lieske S, Reinke J, Beckmann B, Langin D, Jordan J, Moro C (2012) Natriuretic peptides enhance the oxidative capacity of human skeletal muscle. *J Clin Invest* 122:4675–4679. doi: 10.1172/JCI64526
  58. Fain JN, Kanu A, Bahouth SW, Cowan GSM, Lloyd Hiler M (2003) Inhibition of leptin release by atrial natriuretic peptide (ANP) in human adipocytes. *Biochem*

Pharmacol 65:1883–1888. doi: 10.1016/S0006-2952(03)00154-0

59. Fedele D, Bicchiega V, Collo A, Barutta F, Pistone E, Gruden G, Bruno G (2017) Short term variation in NTproBNP after lifestyle intervention in severe obesity. *PLoS One* 12:e0181212. doi: 10.1371/journal.pone.0181212
60. Flora DR, Potter LR (2010) Prolonged atrial natriuretic peptide exposure stimulates guanylyl cyclase-A degradation. *Endocrinology* 151:2769–2776. doi: 10.1210/en.2009-1239
61. Flouris AD, Dinas PC, Nintou E, Psychou D, Granzotto M, Rossato M, Vettor R, Jamurtas AZ, Koutedakis Y, Metsios GS (2018) Association of fat mass profile with natriuretic peptide receptor alpha in subcutaneous adipose tissue of medication-free healthy men: A cross-sectional study [version 2; peer review: 2 approved]. *F1000Research* 7:327. doi: 10.12688/f1000research.14198.2
62. Flynn T, de Bold M, de Bold A (1983) The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem Biophys Res Commun* 117:859–65. doi: 10.1016/0006-291x(83)91675-3
63. Fukuda Y, Hirata Y, Yoshimi H, Kojima T, Kobayashi Y, Yanagisawa M MT (1988) Endothelin is a potent secretagogue for atrial natriuretic peptide in cultured rat atrial myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 155:167–172. doi: 10.1016/s0006-291x(88)81064-7
64. Fukuda Y, Hirata Y, Taketani S, Kojima T, Oikawa S, Nakazato H, Kobayashi Y (1989) Endothelin stimulates accumulations of cellular atrial natriuretic peptide and its messenger RNA in rat cardiocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 164:1431–6. doi: 10.1016/0006-291x(89)91830-5
65. Fukumoto S (2008) Actions and Mode of Actions of FGF19 Subfamily Members. *Endocr J* 55:23–31. doi: 10.1507/endocrj.KR07E-002
66. Fuller F, Porter JG, Arfsten AE, Miller J, Schilling JW, Scarborough RM, Lewicki JA, Schenk DB (1988) Atrial natriuretic peptide clearance receptor. Complete sequence and functional expression of cDNA clones. *J Biol Chem* 263:9395–401

67. Gabrielsen A-M, Omland T, Brokner M, Fredheim JM, Jordan J, Lehmann S, Lund MB, Hjelmsæth J, Hofsø D (2016) The effect of surgical and non-surgical weight loss on N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and its relation to obstructive sleep apnea and pulmonary function. *BMC Res Notes* 9:440. doi: 10.1186/s13104-016-2241-x
68. Galitzky J, Sengenès C, Thalamas C, Marques MA, Senard JM, Lafontan M, Berlan M (2001) The lipid-mobilizing effect of atrial natriuretic peptide is unrelated to sympathetic nervous system activation or obesity in young men. *J Lipid Res* 42:536–44
69. Gallego-Escuredo JM, Gómez-Ambrosi J, Catalan V, Domingo P, Giralt M, Frühbeck G, Villarroya F (2015) Opposite alterations in FGF21 and FGF19 levels and disturbed expression of the receptor machinery for endocrine FGFs in obese patients. *Int J Obes* 39:121–129. doi: 10.1038/ijo.2014.76
70. Gandolfini M-P et al. (2015) Cardiovascular Changes After Gastric Bypass Surgery: Involvement of Increased Secretions of Glucagon-Like Peptide-1 and Brain Natriuretic Peptide. *Obes Surg* 25:1933–1939. doi: 10.1007/s11695-015-1643-5
71. Gardner DG, Deschepper CF, Ganong WF, Hane S, Fiddes J, Baxter JD, Lewicki J (1986) Extra-atrial expression of the gene for atrial natriuretic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:6697–701. doi: 10.1073/pnas.83.18.6697
72. Garruti G, Giusti V, Nussberger J, Darimont C, Verdumo C, Amstutz C, Puglisi F, Giorgino F, Giorgino R, Cotecchia S (2007) Expression and secretion of the atrial natriuretic peptide in human adipose tissue and preadipocytes. *Obesity* 15:2181–2189. doi: 10.1038/oby.2007.259
73. Gentili A, Frangione MR, Albini E, Vacca C, Ricci MA, De Vuono S, Boni M, Rondelli F, Rotelli L, Lupattelli G, Orabona C (2017) Modulation of natriuretic peptide receptors in human adipose tissue: molecular mechanisms behind the “natriuretic handicap” in morbidly obese patients. *Transl Res* 186:52–61. doi: 10.1016/j.trsl.2017.06.001
74. Ghanim H, Monte S, Caruana J, Green K, Abuaysheh S, Dandona P (2018)

- Decreases in neprilysin and vasoconstrictors and increases in vasodilators following bariatric surgery. *Diabetes, Obes Metab* 20:2029–2033. doi: 10.1111/dom.13320
75. Giannessi D, Andreassi MG, Del Ry S, Clerico A, Colombo MG, Dini N (2001) Possibility of age regulation of the natriuretic peptide C-receptor in human platelets. *J Endocrinol Invest* 24:8–16. doi: 10.1007/BF03343802
76. Goetze JP, Hansen LH, Terzic D, Zois NE, Albrethsen J, Timm A, Smith J, Soltysinska E, Lippert SK, Hunter I (2015) Atrial natriuretic peptides in plasma. *Clin Chim Acta* 443:25–28. doi: 10.1016/j.cca.2014.08.017
77. Goharian TS, Goetze JP, Faber J, Andersen LB, Grøntved A, Jeppesen JL (2017) Associations of Proatrial Natriuretic Peptide with Components of the Metabolic Syndrome in Adolescents and Young Adults from the General Population. *Am J Hypertens* 30:561–568. doi: 10.1093/ajh/hpx026
78. Grandi AM, Laurita E, Selva E, Piantanida E, Imperiale D, Giovanella L, Guasti L, Venco A (2004) Natriuretic peptides as markers of preclinical cardiac disease in obesity. *Eur J Clin Invest* 34:342–348. doi: 10.1111/j.1365-2362.2004.01348.x
79. Gruden G, Landi A, Bruno G (2014) Natriuretic peptides, heart, and adipose tissue: New findings and future developments for diabetes research. *Diabetes Care* 37:2899–2908. doi: 10.2337/dc14-0669
80. Hamada M, Shigematsu Y, Takezaki M, Ikeda S, Ogimoto A (2017) Plasma levels of atrial and brain natriuretic peptides in apparently healthy subjects: Effects of sex, age, and hemoglobin concentration. *Int J Cardiol* 228:599–604. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.197
81. Hanusch-Enserer U, Hermann KM, Cauza E, Spak M, Mähr B, Dunky A, Rosen HR, Köller U, Prager R (2003) Effect of gastric banding on aminoterminal pro-brain natriuretic peptide in the morbidly obese. *Obes Res* 11:695–8. doi: 10.1038/oby.2003.99
82. Haufe S, Kaminski J, Utz W, Haas V, Mähler A, Daniels MA, Birkenfeld AL, Lichtinghagen R, Luft FC, Schulz-Menger J, Engeli S, Jordan J (2015) Differential response of the natriuretic peptide system to weight loss and exercise



- in overweight or obese patients. *J Hypertens* 33:1458–1464. doi: 10.1097/HJH.0000000000000573
83. He WT, Mori M, Yu XF, Kanda T (2016) Higher BNP levels within physiological range correlate with beneficial nonfasting lipid profiles in the elderly: A cross-sectional study. *Lipids Health Dis* 15:3. doi: 10.1186/s12944-015-0168-1
  84. Henry J, Gauer O, Reeves J (1956) Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. *Circ Res* 4:85–90. doi: 10.1161/01.res.4.1.85
  85. Herten M, Lenz W, Gerzer R, Drummer C (1998) The renal natriuretic peptide urodilatin is present in human kidney. *Nephrol Dial Transplant* 13:2529–35. doi: 10.1093/ndt/13.10.2529
  86. Heublein DM, Clavell a L, Stingo a J, Lerman A, Wold L, Burnett JC (1992) C-type natriuretic peptide immunoreactivity in human breast vascular endothelial cells. *Peptides* 13:1017–9. doi: 10.1016/0196-9781(92)90065-b
  87. Hogenhuis J, Voors AA, Jaarsma T, Hillege HL, Boomsma F, van Veldhuisen DJ (2005) Influence of age on natriuretic peptides in patients with chronic heart failure: a comparison between ANP/NT-ANP and BNP/NT-proBNP. *Eur J Heart Fail* 7:81–86. doi: 10.1016/j.ejheart.2004.03.014
  88. Hong M, Yan Q, Tao B, Boersma A, Han KK, Vantuyghem MC, Racadot A, Lefebvre J (1992) Estradiol, progesterone and testosterone exposures affect the atrial natriuretic peptide gene expression in vivo in rats. *Biol Chem Hoppe Seyler* 373:213–8. doi: 10.1515/bchm3.1992.373.1.213
  89. Hunt PJ, Richards AM, Espiner EA, Nicholls MG, Yandle TG (1994) Bioactivity and metabolism of C-type natriuretic peptide in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 78:1428–1435. doi: 10.1210/jcem.78.6.8200946
  90. Inoue Y, Kawai M, Minai K, Ogawa K, Nagoshi T, Ogawa T, Yoshimura M (2016) The impact of an inverse correlation between plasma B-type natriuretic peptide levels and insulin resistance on the diabetic condition in patients with heart failure. *Metabolism* 65:38–47. doi: 10.1016/j.metabol.2015.09.019

91. Jamieson J, Palade G (1964) Specific granules in atrial muscle cells. *J Cell Biol* 23:151–72. doi: 10.1083/jcb.23.1.151
92. Jaubert J, Jaubert F, Martin N, Washburn LL, Lee BK, Eicher EM, Guénet JL (1999) Three new allelic mouse mutations that cause skeletal overgrowth involve the natriuretic peptide receptor C gene (*Npr3*). *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:10278–83. doi: 10.1073/pnas.96.18.10278
93. Jensen MD, Caruso M, Heiling V, Miles JM (1989) Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects. *Diabetes* 38:1595–601. doi: 10.2337/diab.38.12.1595
94. John SW, Krege JH, Oliver PM, Hagaman JR, Hodgins JB, Pang SC, Flynn TG, Smithies O (1995) Genetic decreases in atrial natriuretic peptide and salt-sensitive hypertension. *Science* 267:679–81. doi: 10.1126/science.7839143
95. John SW, Veress AT, Honrath U, Chong CK, Peng L, Smithies O, Sonnenberg H (1996) Blood pressure and fluid-electrolyte balance in mice with reduced or absent ANP. *Am J Physiol* 271:R109-14. doi: 10.1152/ajpregu.1996.271.1.R109
96. Kangawa K, Fukuda A, Kubota I, Hayashi Y, Minamitake Y, Matsuo H (1984) Identification in rat atrial tissue of multiple forms of natriuretic polypeptides of about 3,000 daltons. *Biochem Biophys Res Commun* 121:585–591. doi: 10.1016/0006-291x(84)90222-5
97. Kangawa K, Fukuda A, Kubota I, Hayashi Y, Minamitake Y, Matsuo H (1984) Human atrial natriuretic polypeptides (hANP): purification, structure synthesis and biological activity. *J Hypertens Suppl* 2:S321-3
98. Kangawa K, Fukuda A, Matsuo H Structural identification of beta- and gamma-human atrial natriuretic polypeptides. *Nature* 313:397–400. doi: 10.1038/313397a0
99. Kangawa K, Matsuoka H (1984) Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 118:131–139. doi: 10.1016/0006-291x(84)91077-5
100. Karakurt Ö, Bakanlıđı S, Devlet Hastanesi B, Kliniđi K, Öztekin S, Yazıhan N,

- Ünal İ (2011) Relationship of brain natriuretic peptide with metabolic syndrome parameters: an observational study. *Anadolu Kardiyol Derg* 11:678–84. doi: 10.5152/akd.2011.188
101. Kato J, Kitamura K, Uemura T, Kuwasako K, Kita T, Kangawa K, Eto T (2002) Plasma levels of adrenomedullin and atrial and brain natriuretic peptides in the general population: Their relations to age and pulse pressure. *Hypertens Res* 25:887–892. doi: 10.1291/hypres.25.887
  102. Katsube N, Schwartz D, Needleman P (1985) Release of atriopeptin in the rat by vasoconstrictors or water immersion correlates with changes in right atrial pressure. *Biochem Biophys Res Commun* 133:937–44. doi: 10.1016/0006-291x(85)91226-4
  103. Kawano H, Nagayoshi Y, Soejima H, Tanaka Y, Hokamaki J, Miyamoto S, Miyazaki Y, Yamabe H, Ogawa H (2008) B-type natriuretic peptide after hormone therapy in postmenopausal women with chest pain and normal coronary angiogram. *Menopause* 15:352–6. doi: 10.1097/gme.0b013e31806548f6
  104. Kenny AJ, Bourne A, Ingram J (1993) Hydrolysis of human and pig brain natriuretic peptides, urodilatin, C-type natriuretic peptide and some C-receptor ligands by endopeptidase-24.11. *Biochem J* 291:83–8. doi: 10.1042/bj2910083
  105. Kerkelä R, Ulvila J, Magga J (2015) Natriuretic Peptides in the Regulation of Cardiovascular Physiology and Metabolic Events. *J Am Heart Assoc* 4:e002423. doi: 10.1161/JAHA.115.002423
  106. Khan AM, Cheng S, Magnusson M, Larson MG, Newton-cheh C, McCabe EL, Coviello AD, Florez JC, Fox CS, Levy D, Robins SJ, Arora P, Bhasin S, Lam CSP, Vasan RS, Melander O, Wang TJ (2011) Cardiac natriuretic peptides, obesity, and insulin resistance: evidence from two community- based studies. *J Clin Endocrinol Metab* 96:3242–3249. doi: 10.1210/jc.2011-1182
  107. Kim M, Platt MJ, Shibasaki T, Quaggin SE, Backx PH, Seino S, Simpson J a, Drucker DJ (2013) GLP-1 receptor activation and Epac2 link atrial natriuretic peptide secretion to control of blood pressure. *Nat Med* 19:1–11. doi: 10.1038/nm.3128

108. Van Kimmenade R, Van Dielen F, Bakker J, Nijhuis J, Crijs H, Buurman W, Van Dieijen-Visser M, Greve JW, Pinto Y (2006) Is brain natriuretic peptide production decreased in obese subjects? *J Am Coll Cardiol* 47:886–887. doi: 10.1016/j.jacc.2005.11.022
109. Kir S, Beddow SA, Samuel VT, Miller P, Previs SF, Suino-Powell K, Xu HE, Shulman GI, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ (2011) FGF19 as a postprandial, insulin-independent activator of hepatic protein and glycogen synthesis. *Science* 331:1621–4. doi: 10.1126/science.1198363
110. Kisch B (1956) Electron microscopy of the atrium of the heart. I. Guinea pig. *Exp Med Surg* 14:99–112
111. Kishimoto I, Dubois SK, Garbers DL (1996) The heart communicates with the kidney exclusively through the guanylyl cyclase-A receptor: acute handling of sodium and water in response to volume expansion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:6215–9. doi: 10.1073/pnas.93.12.6215
112. Kishimoto I, Rossi K, Garbers DL (2001) A genetic model provides evidence that the receptor for atrial natriuretic peptide (guanylyl cyclase-A) inhibits cardiac ventricular myocyte hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci* 98:2703–2706. doi: 10.1073/pnas.051625598
113. Kistorp C, Bliddal H, Goetze JP, Christensen R, Faber J (2014) Cardiac natriuretic peptides in plasma increase after dietary induced weight loss in obesity. *BMC Obes* 1:24. doi: 10.1186/s40608-014-0024-2
114. Knowles JW, Esposito G, Mao L, Hagaman JR, Fox JE, Smithies O, Rockman HA, Maeda N (2001) Pressure-independent enhancement of cardiac hypertrophy in natriuretic peptide receptor A-deficient mice. *J Clin Invest* 107:975–984. doi: 10.1172/JCI11273
115. Koller KJ, Lowe DG, Bennett GL, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H, Goeddel D V. (1991) Selective activation of the B natriuretic peptide receptor by C-type natriuretic peptide (CNP). *Science* (80- ) 252:120–123. doi: 10.1126/science.1672777
116. Komatsu Y, Nakao K, Suga S, Ogawa Y, Mukoyama M, Arai H, Shirakami G,

- Hosoda K, Nakagawa O, Hama N, Kishimoto I, Imura H (1991) C-type natriuretic peptide (CNP) in rats and humans. *Endocrinology* 129:1104–1106. doi: 10.1210/endo-129-2-1104
117. Kovacova Z, Tharp WG, Liu D, Wei W, Xie H, Collins S, Pratley RE (2016) Adipose tissue natriuretic peptide receptor expression is related to insulin sensitivity in obesity and diabetes. *Obesity* 24:820–828. doi: 10.1002/oby.21418
118. Krauser DG, Lloyd-Jones DM, Chae CU, Cameron R, Anwaruddin S, Baggish AL, Chen A, Tung R, Januzzi JL (2005) Effect of body mass index on natriuretic peptide levels in patients with acute congestive heart failure: A ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) substudy. *Am Heart J* 149:744–750. doi: 10.1016/j.ahj.2004.07.010
119. Kuhn M (2004) Molecular physiology of natriuretic peptide signalling. *Basic Res Cardiol* 99:76–82. doi: 10.1007/s00395-004-0460-0
120. Kuhn M, Holtwick R, Baba HA, Perriard JC, Schmitz W, Ehler E (2002) Progressive cardiac hypertrophy and dysfunction in atrial natriuretic peptide receptor (GC-A) deficient mice. *Heart* 87:368–74. doi: 10.1136/heart.87.4.368
121. Kullberg J, Sundbom M, Haenni A, Freden S, Johansson L, Börnert P, Ahlström A, Ahlström H, Karlsson A (2011) Gastric bypass promotes more lipid mobilization than a similar weight loss induced by low-calorie diet. *J Obes* 2011:959601. doi: 10.1155/2011/959601
122. Laatikainen T, Häkkinen L, Nikkilä L, Leppäluoto J, Vuolteenaho O (1992) Atrial natriuretic peptide (ANP) and N-terminal peptide of proANP (NT-proANP) in maternal and umbilical cord plasma in spontaneous labor and at elective cesarean section. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 46:11–17. doi: 10.1016/0028-2243(92)90272-Z
123. Lafontan M, Moro C, Sengenès C, Galitzky J, Crampes F, Berlan M (2005) An unsuspected metabolic role for atrial natriuretic peptides: The control of lipolysis, lipid mobilization, and systemic nonesterified fatty acids levels in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25:2032–2042. doi: 10.1161/01.ATV.0000183728.14712.d8

124. Langenickel TH, Buttgereit J, Pagel-Langenickel I, Lindner M, Monti J, Beuerlein K, Al-Saadi N, Plehm R, Popova E, Tank J, Dietz R, Willenbrock R, Bader M (2006) Cardiac hypertrophy in transgenic rats expressing a dominant-negative mutant of the natriuretic peptide receptor B. *Proc Natl Acad Sci* 103:4735–4740. doi: 10.1073/pnas.0510019103
125. Lauria PBM, Del Puerto HL, Reis AM, Candido AL, Reis FM (2013) Low Plasma Atrial Natriuretic Peptide: A New Piece in the Puzzle of Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 98:4882–4889. doi: 10.1210/jc.2013-2141
126. Lee JS, Ko SH, Lee J, Jeong KY (2020) The relationship between body mass index and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in community-acquired pneumonia. *Eur J Clin Nutr Epub ahead*. doi: 10.1038/s41430-020-00817-x
127. Lee SJ, Kim SZ, Cui X, Kim SH, Lee KS, Chung YJ, Cho KW (2000) C-type natriuretic peptide inhibits ANP secretion and atrial dynamics in perfused atria: NPR-B-cGMP signaling. *Am J Physiol Circ Physiol* 278:H208–H221. doi: 10.1152/ajpheart.2000.278.1.H208
128. Leskinen H, Vuolteenaho O, Leppäluoto J, Ruskoaho H (1995) Role of nitric oxide on cardiac hormone secretion: effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester on atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide release. *Endocrinology* 136:1241–1249. doi: 10.1210/endo.136.3.7867578
129. Lew RA, Baertschi AJ (1989) Mechanisms of hypoxia-induced atrial natriuretic factor release from rat hearts. *Am J Physiol* 257:H147-56. doi: 10.1152/ajpheart.1989.257.1.H147
130. Lewis LK, Raudsepp SD, Prickett TCR, Yandle TG, Pemberton CJ, Richards AM (2020) ProBNP processing is decreased by obesity in patients with heart failure. *Ann Transl Med* 8:135–135. doi: 10.21037/atm.2019.12.81
131. Li J, Gu C, Dan Li, Chen L, Lu Z, Zhu L HH (2018) Effects of serum N-terminal pro B-type natriuretic peptide & D-dimer levels on patients with acute ischemic stroke. *Pak J Med Sci* 34:994–998. doi: 10.12669/pjms.344.15432
132. Li Y, Kishimoto I, Saito Y, Harada M, Kuwahara K, Izumi T, Takahashi N,

- Kawakami R, Tanimoto K, Nakagawa Y, Nakanishi M, Adachi Y, Garbers DL, Fukamizu A, Nakao K (2002) Guanylyl cyclase-A inhibits angiotensin II type 1A receptor-mediated cardiac remodeling, an endogenous protective mechanism in the heart. *Circulation* 106:1722–1728. doi: 10.1161/01.CIR.0000029923.57048.61
133. Lopez MJ, Wong SK-F, Kishimoto I, Dubois S, Mach V, Friesen J, Garbers DL, Beuve A (1995) Salt-resistant hypertension in mice lacking the guanylyl cyclase-A receptor for atrial natriuretic peptide. *Nature* 378:65–68. doi: 10.1038/378065a0
134. Lorgis L, Cottin Y, Danchin N, Mock L, Sicard P, Buffet P, L’Huillier I, Richard C, Beer JC, Touzery C, Gambert P, Zeller M (2011) Impact of obesity on the prognostic value of the N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients with acute myocardial infarction. *Heart* 97:551–556. doi: 10.1136/hrt.2010.213041
135. Lowe DG, Klisak I, Sparkes RS, Mohandas T, Goeddel D V (1990) Chromosomal distribution of three members of the human natriuretic peptide receptor/guanylyl cyclase gene family. *Genomics* 8:304–12. doi: 10.1016/0888-7543(90)90286-4
136. Maack T (2006) The broad homeostatic role of natriuretic peptides. *Arq Bras Endocrinol Metab* 50:198–207. doi: 10.1590/s0004-27302006000200006
137. Maack T, Suzuki M, Almeida FA, Nussenzveig D, Scarborough RM, Mcenroe GA, Lewicki JA (1987) Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science* (80- ) 238:675–678. doi: 10.1126/science.2823385
138. Madamanchi C, Alhosaini H, Sumida A, Runge MS (2014) Obesity and natriuretic peptides, BNP and NT-proBNP: Mechanisms and diagnostic implications for heart failure. *Int J Cardiol* 176:611–617. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.08.007
139. Maffei S, Del Ry S, Prontera C, Clerico A (2001) Increase in circulating levels of cardiac natriuretic peptides after hormone replacement therapy in postmenopausal women. *Clin Sci* 101:447–453. doi: 10.1042/CS20010039

140. Marney AM, Brown NJ, Tamboli R, Abumrad N (2014) Changes in B-type natriuretic peptide and BMI following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Diabetes Care* 37:e70-1. doi: 10.2337/dc13-2449
141. Martin J, Bergeron S, Pibarot P, Bastien M, Biertho L, Lescelleur O, Bertrand F, Simard S, Poirier P (2013) Impact of Bariatric Surgery on N-Terminal Fragment of the Prohormone Brain Natriuretic Peptide and Left Ventricular Diastolic Function. *Can J Cardiol* 29:969–975. doi: 10.1016/J.CJCA.2012.11.010
142. Martinez-Rumayor A, Richards AM, Burnett JC, Januzzi JL (2008) Biology of the Natriuretic Peptides. *Am J Cardiol* 101:3–8. doi: 10.1016/j.amjcard.2007.11.012
143. McCord J, Mundy BJ, Hudson MP, Maisel AS, Hollander JE, Abraham WT, Steg PG, Omland T, Knudsen CW, Sandberg KR, McCullough PA (2004) Relationship Between Obesity and B-Type Natriuretic Peptide Levels. *Arch Intern Med* 164:2247. doi: 10.1001/archinte.164.20.2247
144. McGrath MF, de Bold AJ (2005) Determinants of natriuretic peptide gene expression. *Peptides* 26:933–943. doi: 10.1016/J.PEPTIDES.2004.12.022
145. Mehra MR, Uber PA, Park MH, Scott RL, Ventura HO, Harris BC, Frohlich ED (2004) Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 43:1590–1595. doi: 10.1016/j.jacc.2003.10.066
146. Messaoudi L, Donckier J, Stoffel M, Ketelslegers JM, Kolanowski J (1998) Changes in blood pressure and in vasoactive and volume regulatory hormones during semistarvation in obese subjects. *Metabolism* 47:592–597. doi: 10.1016/S0026-0495(98)90245-1
147. Minami J, Nishikimi T, Ishimitsu T, Makino Y, Kawano Y, Takishita S, Kangawa K, Matsuoka H (2000) Effect of a hypocaloric diet on adrenomedullin and natriuretic peptides in obese patients with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 36 Suppl 2:S83-6. doi: 10.1097/00005344-200000006-00018
148. Minami J, Nishikimi T, Matsuoka H (2004) Plasma Brain Natriuretic Peptide and N-Terminal Proatrial Natriuretic Peptide Levels in Obese Patients: A Cause or



- Result of Hypertension? *Circulation* 110:e76; author reply e76. doi:  
10.1161/01.CIR.0000138893.44745.F4
149. Miyashita K, Itoh H, Tsujimoto H, Tamura N, Fukunaga Y, Sone M, Yamahara K, Taura D, Inuzuka M, Sonoyama T, Nakao K (2009) Natriuretic Peptides/cGMP/cGMP-Dependent Protein Kinase Cascades Promote Muscle Mitochondrial Biogenesis and Prevent Obesity. *Diabetes* 58:2880–92. doi: 10.2337/db09-0393
150. Morel G, Chabot JG, Garcia-Caballero T, F G, Dihl F, Belles-isles M, Heisler S (1988) Synthesis, Internalization, and Localization of Atrial Natriuretic Peptide in Rat Adrenal Medulla. *Endocrinology* 123:149–158. doi: 10.1210/endo-123-1-149
151. Moro C, Galitzky J, Sengenès C, Lafontan M (2004) Functional and Pharmacological Characterization of the Natriuretic Peptide-Dependent Lipolytic Pathway in Human Fat Cells. 308:984–992. doi: 10.1124/jpet.103.060913.potent
152. Moro C, Lafontan M (2013) Natriuretic peptides and cGMP signaling control of energy homeostasis. *AJP Hear Circ Physiol* 304:H358–H368. doi: 10.1152/ajpheart.00704.2012
153. Moro C, Pillard F, De Glisezinski I, Harant I, Riviere D, Stich V, Lafontan M, Crampes F, Berlan M (2005) Training enhances ANP lipid-mobilizing action in adipose tissue of overweight men. *Med Sci Sports Exerc* 37:1126–1132. doi: 10.1249/01.mss.0000170124.51659.52
154. Moro C, Smith SR (2009) Natriuretic Peptides: New Players in Energy Homeostasis. *Diabetes* 58:2726–8. doi: 10.2337/db09-1335
155. Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, Suga SI, Saito Y, Ogawa Y, Shirakami G, Jougasaki M, Obata K, Yasue H, Kambayashi Y, Inouye K, Imura H (1991) Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans: Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *J Clin Invest* 87:1402–1412. doi: 10.1172/JCI115146
156. Mukoyama M, Nakao K, Saito Y, Ogawa Y, Hosoda K, Suga S, Shirakami G, Jougasaki M, Imura H (1990) Increased Human Brain Natriuretic Peptide in

- Congestive Heart Failure. *N Engl J Med* 323:757–758. doi: 10.1056/NEJM199009133231114
157. Nagai-Okatani C, Kangawa K, Minamino N (2017) Three molecular forms of atrial natriuretic peptides: quantitative analysis and biological characterization. *J Pept Sci* 23:486–495. doi: doi:10.1002/psc.2969
158. Nagase M, Takeshi K SH and TF (1997) Tissue distribution and localization of natriuretic peptide receptor subtypes in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 15:1235–1243. doi: 10.1097/00004872-199715110-00007
159. Nakagawa O, Itoh H, Harada M, Komatsu Y, Yoshimasa T, Nakao K (2007) Gene regulation of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy by alpha1-adrenergic stimulation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 22:S183–S185. doi: doi:10.1111/j.1440-1681.1995.tb02873.x
160. Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K (2019) Atrial and brain natriuretic peptides: Hormones secreted from the heart. *Peptides* 111:18–25. doi: 10.1016/j.peptides.2018.05.012
161. Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H (1992) Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I: Natriuretic peptides. *J Hypertens* 10:907–12
162. Nakao K, Sugawara A, Morii N, Sakamoto M, Yamada T, Itoh H, Shiono S, Saito Y, Nishimura K, Ban T (1986) The pharmacokinetics of alpha-human atrial natriuretic polypeptide in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 31:101–3. doi: 10.1007/BF00870995
163. Nakatsuji H, Maeda N, Hibuse T, Hiuge A, Hirata A, Kuroda Y, Kishida K, Kihara S, Funahashi T, Shimomura I (2010) Reciprocal regulation of natriuretic peptide receptors by insulin in adipose cells. *Biochem Biophys Res Commun* 392:100–5. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.01.008
164. Nakayama K (1997) Furin: a mammalian subtilisin/Kex2p-like endoprotease involved in processing of a wide variety of precursor proteins. *Biochem J* 327:625–35. doi: 10.1042/bj3270625

165. Nakayama T, Soma M, Takahashi Y, Rehemudula D, Kanmatsuse K, Furuya K (2000) Functional deletion mutation of the 5'-flanking region of type A human natriuretic peptide receptor gene and its association with essential hypertension and left ventricular hypertrophy in the Japanese. *Circ Res* 86:841–5. doi: 10.1161/01.res.86.8.841
166. Napier M, Dewey R, Albers-Schönberg G, Bennett C, Rodkey J, Marsh E, Whinnery M, Seymour A, Blaine E (1984) Isolation and sequence determination of peptide components of atrial natriuretic factor. *Biochem Biophys Res Commun* 120:981–8. doi: 10.1016/s0006-291x(84)80203-x
167. Neeland IJ, Winders BR, Ayers CR, Das SR, Chang AY, Ms C, Berry JD, Khera A, Turer AT (2013) Higher Natriuretic Peptide Levels Associate With a Favorable Adipose Tissue Distribution Profile. *J Am Coll Cardiol* 62:752–760. doi: 10.1016/j.jacc.2013.03.038
168. Neinast MD, Frank AP, Zechner JF, Li Q, Vishvanath L, Palmer BF, Aguirre V, Gupta RK, Clegg DJ (2015) Activation of natriuretic peptides and the sympathetic nervous system following Roux-en-Y gastric bypass is associated with gonadal adipose tissues browning. *Mol Metab* 4:427–436. doi: 10.1016/j.molmet.2015.02.006
169. Nishikimi T, Kuwahara K, Nakao K (2011) Current biochemistry, molecular biology, and clinical relevance of natriuretic peptides. *J Cardiol* 57:131–140. doi: 10.1016/j.jjcc.2011.01.002
170. Nishikimi T, Maeda N, Matsuoka H (2006) The role of natriuretic peptides in cardioprotection. *Cardiovasc Res* 69:318–328. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.10.001
171. Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, Itoh N (2000) Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim Biophys Acta - Gene Struct Expr* 1492:203–206. doi: 10.1016/S0167-4781(00)00067-1
172. Nishimura T, Utsunomiya Y, Hoshikawa M, Ohuchi H, Itoh N (1999) Structure and expression of a novel human FGF, FGF-19, expressed in the fetal brain. *Biochim Biophys Acta - Gene Struct Expr* 1444:148–151. doi: 10.1016/S0167-

173. Nussenzveig DR, Lewicki JA, Maack T (1990) Cellular mechanisms of the clearance function of type C receptors of atrial natriuretic factor. *J Biol Chem* 265:20952–8
174. Ogawa Y, Itoh H, Nakao K (1995) Molecular biology and biochemistry of natriuretic peptide family. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 22:49–53. doi: 10.1111/j.1440-1681.1995.tb01918.x
175. Ogawa Y, Itoh H, Tamura N, Suga S, Yoshimasa T, Uehira M, Matsuda S, Shiono S, Nishimoto H, Nakao K (1994) Molecular cloning of the complementary DNA and gene that encode mouse brain natriuretic peptide and generation of transgenic mice that overexpress the brain natriuretic peptide gene. *J Clin Invest* 93:1911–1921. doi: 10.1172/JCI117182
176. Ogawa Y, Itoh H, Yoshitake Y, Inoue M, Yoshimasa T, Serikawa T, Nakao K (1994) Molecular Cloning and Chromosomal Assignment of the Mouse C-Type Natriuretic Peptide (CNP) Gene (Nppc): Comparison with the Human CNP Gene (NPPC). *Genomics* 24:383–387. doi: 10.1006/geno.1994.1633
177. Ogawa Y, Nakao K, Nakagawa O, Komatsu Y, Hosoda K, Suga S, Arai H, Nagata K, Yoshida N, Imura H (1992) Human C-type natriuretic peptide. Characterization of the gene and peptide. *Hypertension* 19:809–13. doi: 10.1161/01.hyp.19.6.809
178. Ohashi M, Fujio N, Nawata H, Kato KI, Ibayashi H, Kangawa K, Matsuo H (1987) High plasma concentrations of human atrial natriuretic polypeptide in aged men. *J Clin Endocrinol Metab* 64:81–85. doi: 10.1210/jcem-64-1-81
179. Oikawa S, Imai M, Ueno A, Tanaka S, Noguchi T, Nakazato H, Kangawa K, Fukuda A, Matsuo H (1984) Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human atrial natriuretic polypeptide. *Nature* 309:724–6. doi: 10.1038/309724a0
180. Olalla J, Crespo E, Torre J, Sempere M, Arco A, Prada JL, Malvarez R, Pérez J, García-Alegría J (2015) Factors related to NT-proBNP levels in HIV patients aged over 40 years. *AIDS Res Ther* 12:17. doi: 10.1186/s12981-015-0058-7

181. Oliver PM, Fox JE, Kim R, Rockman H a, Kim HS, Reddick RL, Pandey KN, Milgram SL, Smithies O, Maeda N (1997) Hypertension, cardiac hypertrophy, and sudden death in mice lacking natriuretic peptide receptor A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:14730–14735. doi: 10.1073/pnas.94.26.14730
182. Olney RC, Bükülmez H, Bartels CF, Prickett TCR, Espiner EA, Potter LR, Warman ML (2006) Heterozygous Mutations in Natriuretic Peptide Receptor-B ( *NPR2* ) Are Associated with Short Stature. *J Clin Endocrinol Metab* 91:1229–1232. doi: 10.1210/jc.2005-1949
183. Olsen MH, Hansen TW, Christensen MK, Gustafsson F, Rasmussen S, Wachtell K, Borch-Johnsen K, Ibsen H, Jørgensen T, Hildebrandt P (2005) N-terminal pro brain natriuretic peptide is inversely related to metabolic cardiovascular risk factors and the metabolic syndrome. *Hypertension* 46:660–666. doi: 10.1161/01.HYP.0000179575.13739.72
184. Ong H, Lazure C, Nguyen TT, McNicoll N, Seidah N, Chrétien M, De Léan A (1987) Bovine adrenal chromaffin granules are a site of synthesis of atrial natriuretic factor. *Biochem Biophys Res Commun* 147:957–63. doi: 10.1016/s0006-291x(87)80163-8
185. Packer M (2018) Derangements in adrenergic-adipokine signalling establish a neurohormonal basis for obesity-related heart failure with a preserved ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 20:873–878. doi: 10.1002/ejhf.1167
186. Palmer BF, Clegg DJ (2015) An Emerging Role of Natriuretic Peptides Igniting the Fat Furnace to Fuel and Warm the Heart. *Mayo Clin Proc* 90:1666–1678. doi: 10.1016/j.mayocp.2015.08.006
187. Pandey A, Berry JD, Drazner MH, Fang JC, Tang WHW, Grodin JL (2018) Body mass index, natriuretic peptides, and risk of adverse outcomes in patients with heart failure and preserved ejection fraction: Analysis from the TOPCAT trial. *J Am Heart Assoc* 7:e009664. doi: 10.1161/JAHA.118.009664
188. Pandey KN (2005) Biology of natriuretic peptides and their receptors. *Peptides* 26:901–932. doi: 10.1016/j.peptides.2004.09.024
189. Pandey KN (2008) Emerging Roles of Natriuretic Peptides and their Receptors in

- Pathophysiology of Hypertension and Cardiovascular Regulation. *J Am Soc Hypertens* 2:210–226. doi: 10.1016/j.jash.2008.02.001
190. Pandey KN (2011) The functional genomics of guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A: Perspectives and paradigms. *FEBS J* 278:1792–1807. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08081.x
  191. Pandey KN (2014) Guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A signaling antagonizes phosphoinositide hydrolysis, Ca<sup>2+</sup> release, and activation of protein kinase C. *Front Mol Neurosci* 7:1–14. doi: 10.3389/fnmol.2014.00075
  192. Pandey KN, Orgebin-Crist MC (1991) Atrial natriuretic factor in mammalian testis: immunological detection in spermatozoa. *Biochem Biophys Res Commun* 180:437–44. doi: 10.1016/s0006-291x(05)81312-9
  193. Pankow K, Wang Y, Gembardt F, Krause E, Sun X, Krause G, Schultheiss H-P, Siems W-E, Walther T (2007) Successive Action of Meprin A and Neprilysin Catabolizes B-Type Natriuretic Peptide. *Circ Res* 101:875–882. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.107.153585
  194. Parcha V, Arora P, Zhao Y (2019) Glycosylation of natriuretic peptides in obese heart failure: mechanistic insights. *Ann Transl Med* 7:1115–1139. doi: 10.21037/atm.2019.10.59
  195. St. Peter J V., Hartley GG, Murakami MM, Apple FS (2006) B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-BNP in obese patients without heart failure: Relationship to body mass index and gastric bypass surgery. *Clin Chem* 52:680–685. doi: 10.1373/clinchem.2005.062562
  196. Pivovarov O, Gögebakan Ö, Klötting N, Sparwasser A, Weickert MO, Haddad I, Nikiforova VJ, Bergmann A, Kruse M, Seltmann AC, Blüher M, Pfeiffer AFH, Rudovich N (2012) Insulin up-regulates natriuretic peptide clearance receptor expression in the subcutaneous fat depot in obese subjects: A missing link between CVD risk and obesity? *J Clin Endocrinol Metab* 97:731–739. doi: 10.1210/jc.2011-2839
  197. Poh KK, Shabbir A, Ngiam JN, Lee PSS, So J, Frampton CM, Pemberton CJ, Richards AM (2020) Plasma Clearance of B-Type Natriuretic Peptide (BNP)

- before and after Bariatric Surgery for Morbid Obesity. *Clin Chem* hvaa308. doi: 10.1093/clinchem/hvaa308
198. Potter LR (2011) Natriuretic peptide metabolism, clearance and degradation. *FEBS J* 278:1808–1817. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08082.x
  199. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM (2006) Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev* 27:47–72. doi: 10.1210/er.2005-0014
  200. Potter LR, Hunter T (2001) Guanylyl Cyclase-linked Natriuretic Peptide Receptors: Structure and Regulation. *J Biol Chem* 276:6057–6060. doi: 10.1074/jbc.R000033200
  201. Potter LR, Yoder AR, Flora DR, Antos LK, Dickey DM (2009) Natriuretic Peptides: Their Structures, Receptors, Physiologic Functions and Therapeutic Applications. *Handb Exp Pharmacol* 191:341–366. doi: 10.1007/978-3-540-68964-5
  202. Protter AA, Wallace AM, Ferraris VA, Weishaar RE (1996) Relaxant effect of human brain natriuretic peptide on human artery and vein tissue. *Am J Hypertens* 9:432–6. doi: 10.1016/0895-7061(95)00435-1
  203. Ramos HR, Birkenfeld AL, de Bold AJ (2015) INTERACTING DISCIPLINES: Cardiac natriuretic peptides and obesity: perspectives from an endocrinologist and a cardiologist. *Endocr Connect* 4:R25–R36. doi: 10.1530/EC-15-0018
  204. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC (2002) Plasma brain natriuretic peptide concentration: Impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol* 40:976–982. doi: 10.1016/S0735-1097(02)02059-4
  205. Refsgaard Holm M, Christensen H, Rasmussen J, Johansen ML, Schou M, Faber J, Kistorp C (2019) Fibroblast growth factor 21 in patients with cardiac cachexia: a possible role of chronic inflammation. *ESC Hear Fail* 6:983–991. doi: 10.1002/ehf2.12502
  206. Ricci MA, De Vuono S, Pucci G, Di Filippo F, Berisha S, Gentili A, Daviddi G, Ministrini S, Rondelli F, Boni M, Lupattelli G (2017) Determinants of low levels

- of brain natriuretic peptide in morbid obesity. *Clin Nutr* 36:1075–1081. doi: 10.1016/j.clnu.2016.06.024
207. Ropero AB, Soriano S, Tudurí E, Marroquí L, Téllez N, Gassner B, Juan-Picó P, Montanya E, Quesada I, Kuhn M, Nadal A (2010) The atrial natriuretic peptide and guanylyl cyclase-A system modulates pancreatic  $\beta$ -cell function. *Endocrinology* 151:3665–3674. doi: 10.1210/en.2010-0119
208. Ruskoaho H, Leskinen H, Magga J, Taskinen P, Mäntymaa P, Vuolteenaho O, Leppäluoto J (1997) Mechanisms of mechanical load-induced atrial natriuretic peptide secretion: role of endothelin, nitric oxide, and angiotensin II. *J Mol Med (Berl)* 75:876–85. doi: 10.1007/s001090050179
209. Rydén M, Bäckdahl J, Petrus P, Thorell A, Gao H, Coue M, Langin D, Moro C, Arner P (2016) Impaired atrial natriuretic peptide-mediated lipolysis in obesity. *Int J Obes* 40:714–720. doi: 10.1038/ijo.2015.222
210. Sabrane K, Kruse MN, Fabritz L, Zetsche B, Mitko D, Skryabin B V, Zwiener M, Baba HA, Yanagisawa M, Kuhn M (2005) Vascular endothelium is critically involved in the hypotensive and hypovolemic actions of atrial natriuretic peptide. *J Clin Invest* 115:1666–74. doi: 10.1172/JCI23360
211. Saito Y, Nakao K, Itoh H, Yamada T, Mukoyama M, Arai H, Hosoda K, Shirakami G, Suga S ichi, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H, Imura H (1989) Brain natriuretic peptide is a novel cardiac hormone. *Biochem Biophys Res Commun* 158:360–368. doi: 10.1016/S0006-291X(89)80056-7
212. Sakamoto M, Nakao K, Kihara M, Morii N, Sugawara A, Suda M, Shimokura M, Kiso Y, Yamori Y, Imura H (1985) Existence of atrial natriuretic polypeptide in kidney. *Biochem Biophys Res Commun* 128:1281–7. doi: 10.1016/0006-291x(85)91079-4
213. Sanchez-Ferrer CF, Burnett JC, Lorenz RR, Vanhoutte PM (1990) Possible modulation of release of atrial natriuretic factor by endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 259:H982-6. doi: 10.1152/ajpheart.1990.259.3.H982
214. Santhekadur PK, Kumar DP, Seneshaw M, Mirshahi F, Sanyal AJ (2017) The multifaceted role of natriuretic peptides in metabolic syndrome. *Biomed*



Pharmacother 92:826–835. doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.136

215. Sarzani R, Dessì-Fulgheri P, Paci V, Espinosa E, Rappelli A (1996) Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. *J Endocrinol Invest* 19:581–5. doi: 10.1007/BF03349021
216. Sarzani R, Marcucci P, Salvi F, Bordicchia M, Espinosa E, Mucci L, Lorenzetti B, Minardi D, Muzzonigro G, Dessì-Fulgheri P, Rappelli A (2008) Angiotensin II stimulates and atrial natriuretic peptide inhibits human visceral adipocyte growth. *Int J Obes* 32:259–267. doi: 10.1038/sj.ijo.0803724
217. Sarzani R, Paci VM, Zingaretti CM, Pierleoni C, Cinti S, Cola G, Rappelli A, Dessì-Fulgheri P (1995) Fasting inhibits natriuretic peptides clearance receptor expression in rat adipose tissue. *J Hypertens* 13:1241–6. doi: 10.1097/00004872-199511000-00004
218. Sarzani R, Strazzullo P, Salvi F, Iacone R, Pietrucci F, Siani A, Barba G, Gerardi MC, Dessì-Fulgheri P, Rappelli A (2004) Natriuretic Peptide Clearance Receptor Alleles and Susceptibility to Abdominal Adiposity. *Obes Res* 12:351–356. doi: 10.1038/oby.2004.44
219. Sawada Y, Inoue M, Kanda T, Sakamaki T, Tanaka S, Minamino N, Nagai R, Takeuchi T (1997) Co-elevation of brain natriuretic peptide and proprotein-processing endoprotease furin after myocardial infarction in rats. *FEBS Lett* 400:177–82. doi: 10.1016/s0014-5793(96)01385-3
220. Schlueter N, De Sterke A, Willmes DM, Spranger J, Jordan J, Birkenfeld AL (2014) Metabolic actions of natriuretic peptides and therapeutic potential in the metabolic syndrome. *Pharmacol Ther* 144:12–27. doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.04.007
221. Schmid A, Albrecht J, Brock J, Koukou M, Arapogianni E, Schäffler A, Karrasch T (2018) Regulation of natriuretic peptides postprandially in vivo and of their receptors in adipocytes by fatty acids in vitro. *Mol Cell Endocrinol* 473. doi: 10.1016/j.mce.2018.01.023
222. Schreier B, Börner S, Völker K, Gambaryan S, Schäfer SC, Kuhlencordt P, Gassner B, Kuhn M (2008) The heart communicates with the endothelium

- through the guanylyl cyclase-A receptor: acute handling of intravascular volume in response to volume expansion. *Endocrinology* 149:4193–9. doi: 10.1210/en.2008-0212
223. Schulz S, Singh S, Bellet RA, Singh G, Tubb DJ, Chin H, Garbers DL (1989) The primary structure of a plasma membrane guanylate cyclase demonstrates diversity within this new receptor family. *Cell* 58:1155–1162. doi: 10.1016/0092-8674(89)90513-8
224. Segawa Toshie, Nakamura M, Itai K, Onoda T, A O, K H (2005) Plasma B-type Natriuretic Peptide Levels and Risk Factors for Congestive Heart Failure in a Japanese General Population. *Int Heart J* 46:465–475. doi: 10.1536/ihj.46.465
225. Sengenès C, Bouloumie A, Hauner H, Berlan M, Busse R, Lafontan M, Galitzky J (2003) Involvement of a cGMP-dependent pathway in the natriuretic peptide-mediated hormone-sensitive lipase phosphorylation in human adipocytes. *J Biol Chem* 278:48617–26. doi: 10.1074/jbc.M303713200
226. Sengenès C, Moro C, Galitzky J, Berlan M, Lafontan M (2000) Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human fat cells. *FASEB J* 14:1345–51. doi: 10.1096/fj.14.10.1345
227. Sengenès C, Zakaroff-Girard A, Moulin A, Berlan M, Bouloumié A, Lafontan M, Galitzky J (2002) Natriuretic peptide-dependent lipolysis in fat cells is a primate specificity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283:R257–R265. doi: 10.1152/ajpregu.00453.2001
228. Shi S-J, Nguyen HT, Sharma GD, Navar LG, Pandey KN (2001) Genetic disruption of atrial natriuretic peptide receptor-A alters renin and angiotensin II levels. *Am J Physiol Physiol* 281:F665–F673. doi: 10.1152/ajprenal.2001.281.4.F665
229. Shields PP, Dixon JE, Glembotski CC (1988) The secretion of atrial natriuretic factor-(99-126) by cultured cardiac myocytes is regulated by glucocorticoids. *J Biol Chem* 263:12619–28
230. Skvorak JP, Nazian SJ, Dietz JR (1995) Endothelin acts as a paracrine regulator of stretch-induced atrial natriuretic peptide release. *Am J Physiol* 269:R1093-8.

doi: 10.1152/ajpregu.1995.269.5.R1093

231. Song DL, Kohse KP, Murad F (1988) Brain natriuretic factor Augmentation of cellular cyclic GMP, activation of particulate guanylate cyclase and receptor binding. *FEBS Lett* 232:125–129. doi: 10.1016/0014-5793(88)80400-9
232. Song W, Wang H, Wu Q (2015) Atrial natriuretic peptide in cardiovascular biology and disease (NPPA). *Gene* 569:1–6. doi: 10.1016/j.gene.2015.06.029
233. Spannella F, Giulietti F, Bordicchia M, Burnett JC, Sarzani R (2019) Association Between Cardiac Natriuretic Peptides and Lipid Profile: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep* 9:1–11. doi: 10.1038/s41598-019-55680-z
234. Stavrakis S, Pakala A, Thadani U, Thomas J, Chaudhry MA (2013) Obesity, Brain Natriuretic Peptide Levels and Mortality in Patients Hospitalized With Heart Failure and Preserved Left Ventricular Systolic Function. *Am J Med Sci* 345:211–217. doi: 10.1097/MAJ.0B013E318271C012
235. Steinhilper ME, Cochrane KL, Field LJ (1990) Hypotension in transgenic mice expressing atrial natriuretic factor fusion genes. *Hypertension* 16:301–7. doi: 10.1161/01.hyp.16.3.301
236. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H (1988) A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 332:78–81. doi: 10.1038/332078a0
237. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H (1990) C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 168:863–70. doi: 10.1016/0006-291x(90)92401-k.
238. Suga S, Nakao K, Hosoda K, Mukoyama M, Ogawa Y, Shirakami G, Arai H, Saito Y, Kambayashi Y, Inouye K (1992) Receptor selectivity of natriuretic peptide family, atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and C-type natriuretic peptide. *Endocrinology* 130:229–239. doi: 10.1210/endo.130.1.1309330
239. Suga SI, Nakao K, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Imura H (1992) Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation

- by transforming growth factor- $\beta$ . Possible existence of “vascular natriuretic peptide system.” *J Clin Invest* 90:1145–1149. doi: 10.1172/JCI115933
240. Sugisawa T, Kishimoto I, Kokubo Y, Makino H, Miyamoto Y, Yoshimasa Y (2010) Association of plasma B-type natriuretic peptide levels with obesity in a general urban Japanese population: the Suita Study. *Endocr J* 57:727–33. doi: 10.1507/endocrj.k10e-067
241. Tamura N, Ogawa Y, Chusho H, Nakamura K, Nakao K, Suda M, Kasahara M, Hashimoto R, Katsuura G, Mukoyama M, Itoh H, Saito Y, Tanaka I, Otani H, Katsuki M, Nakao K (2000) Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci* 97:4239–4244. doi: 10.1073/pnas.070371497
242. Tamura N, Ogawa Y, Yasoda A, Itoh H, Saito Y, Nakao K (1996) Two Cardiac Natriuretic Peptide Genes (Atrial Natriuretic Peptide and Brain Natriuretic Peptide) are Organized in Tandem in the Mouse and Human Genomes., *J Mol Cell Cardiol* 28:1811–1815. doi: 10.1006/jmcc.1996.0170
243. Tanaka T, Tsutamoto T, Sakai H, Nishiyama K, Fujii M, Yamamoto T, Horie M (2008) Effect of atrial natriuretic peptide on adiponectin in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 10:360–366. doi: 10.1016/j.ejheart.2008.02.005
244. Tawaragi Y, Fuchimura K, Tanaka S, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H (1991) Gene and precursor structures of human C-type natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 175:645–51. doi: 10.1016/0006-291x(91)91614-i
245. Thibault G, Garcia R, Cantin M, Genest J, Lazure C, Seidah N, Chrétien M (1984) Primary structure of a high Mr form of rat atrial natriuretic factor. *FEBS Lett* 167:352–6. doi: 10.1016/0014-5793(84)80155-6
246. Thibault G, Murthy KK, Gutkowska J, Seidah NG, Lazure C, Chrétien M, Cantin M (1988) NH<sub>2</sub>-terminal fragment of rat pro-atrial natriuretic factor in the circulation: Identification, radioimmunoassay and half-life. *Peptides* 9:47–53. doi: 10.1016/0196-9781(88)90008-3
247. Tsuji T, Kunieda T (2005) A Loss-of-Function Mutation in Natriuretic Peptide Receptor 2 ( *Npr2* ) Gene Is Responsible for Disproportionate Dwarfism in *cn/cn*

- Mouse. *J Biol Chem* 280:14288–14292. doi: 10.1074/jbc.C500024200
248. Tsukamoto O, Fujita M, Kato M, Yamazaki S, Asano Y, Ogai A, Okazaki H, Asai M, Nagamachi Y, Maeda N, Shintani Y, Minamino T, Asakura M, Kishimoto I, Funahashi T, Tomoike H, Kitakaze M (2009) Natriuretic Peptides Enhance the Production of Adiponectin in Human Adipocytes and in Patients With Chronic Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 53:2070–2077. doi: 10.1016/J.JACC.2009.02.038
249. Vellaichamy E, Khurana ML, Fink J, Pandey KN (2005) Involvement of the NF- $\kappa$ B/Matrix Metalloproteinase Pathway in Cardiac Fibrosis of Mice Lacking Guanylyl Cyclase/Natriuretic Peptide Receptor A. *J Biol Chem* 280:19230–19242. doi: 10.1074/jbc.M411373200
250. Verboven K, Hansen D, Moro C, Eijnde BO, Hoebbers N, Knol J, Bouckaert W, Dams A, Blaak EE, Jocken JWE (2016) Attenuated atrial natriuretic peptide-mediated lipolysis in subcutaneous adipocytes of obese type 2 diabetic men. *Clin Sci* 130:1105–1114. doi: 10.1042/CS20160220
251. Viguerie N, Vidal H, Arner P, Holst C, Verdich C, Avizou S, Astrup A, Saris WHM, Macdonald IA, Klimcakova E, Clément K, Martinez A, Hoffstedt J, Sørensen TIA, Langin D (2005) Adipose tissue gene expression in obese subjects during low-fat and high-fat hypocaloric diets. *Diabetologia* 48:123–131. doi: 10.1007/s00125-004-1618-x
252. Vila G, Grimm G, Resl M, Heinisch B, Einwallner E, Esterbauer H, Dieplinger B, Mueller T, Luger A, Clodi M (2012) B-Type Natriuretic Peptide Modulates Ghrelin, Hunger, and Satiety in Healthy Men. *Diabetes* 61:2592–2596. doi: 10.2337/db11-1466
253. De Vito P (2014) Atrial natriuretic peptide: An old hormone or a new cytokine? *Peptides* 58:108–116. doi: 10.1016/j.peptides.2014.06.011
254. Waldman SA, Rapoport RM, Murad F (1984) Atrial natriuretic factor selectively activates particulate guanylate cyclase and elevates cyclic GMP in rat tissues. *J Biol Chem* 259:14332–14334
255. Wang JH, Lee CJ, Hsieh JC, Chen YC, Hsu BG (2014) N-terminal pro-B-type

- natriuretic peptide level inversely associates with metabolic syndrome in elderly persons. *Diabetol Metab Syndr* 6:1–7. doi: 10.1186/1758-5996-6-15
256. Wang TJ, Larson MG, Keyes MJ, Levy D, Benjamin EJ, Vasani RS (2007) Association of plasma natriuretic peptide levels with metabolic risk factors in ambulatory individuals. *Circulation* 115:1345–1353. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.655142
257. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PWF, Vasani RS (2004) Impact of Obesity on Plasma Natriuretic Peptide Levels. *Circulation* 109:594–600. doi: 10.1161/01.CIR.0000112582.16683.EA
258. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PWF, Sutherland P, Omland T, Vasani RS (2002) Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol* 90:254–258. doi: 10.1016/S0002-9149(02)02464-5
259. Wang Y, de Waard MC, Sterner-Kock A, Stepan H, Schultheiss H-P, Duncker DJ, Walther T (2007) Cardiomyocyte-restricted over-expression of C-type natriuretic peptide prevents cardiac hypertrophy induced by myocardial infarction in mice. *Eur J Heart Fail* 9:548–57. doi: 10.1016/j.ejheart.2007.02.006
260. Watanabe Y, Nakajima K, Shimamori Y, Fujimoto Y (1997) Comparison of the hydrolysis of the three types of natriuretic peptides by human kidney neutral endopeptidase 24.11. *Biochem Mol Med* 61:47–51. doi: 10.1006/bmme.1997.2584
261. Yan W, Wu F, Morser J, Wu Q (2000) Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as a pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci* 97:8525–8529. doi: 10.1073/pnas.150149097
262. Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG, Cuneo R, Espiner EA, Livesey JH (1986) Metabolic clearance rate and plasma half life of alpha-human atrial natriuretic peptide in man. *Life Sci* 38:1827–33. doi: 10.1016/0024-3205(86)90137-2
263. Yasoda A, Komatsu Y, Chusho H, Miyazawa T, Ozasa A, Miura M, Kurihara T, Rogi T, Tanaka S, Suda M, Tamura N, Ogawa Y, Nakao K (2004)

- Overexpression of CNP in chondrocytes rescues achondroplasia through a MAPK-dependent pathway. *Nat Med* 10:80–86. doi: 10.1038/nm971
264. Yasoda A, Ogawa Y, Suda M, Tamura N, Mori K, Sakuma Y, Chusho H, Shiota K, Tanaka K, Nakao K (1998) Natriuretic Peptide Regulation of Endochondral Ossification. Evidence for possible roles of the C-type natriuretic peptide/guanylyl cyclase-B pathway. *J Biol Chem* 273:11695–11700. doi: 10.1074/jbc.273.19.11695
265. Yoshimura M, Yasue H, Morita E, Sakaino N, Jougasaki M, Kurose M, Mukoyama M, Saito Y, Nakao K, Imura H (1991) Hemodynamic, renal, and hormonal responses to brain natriuretic peptide infusion in patients with congestive heart failure. *Circulation* 84:1581–8. doi: 10.1161/01.cir.84.4.1581
266. van der Zander K, Houben AJ, Kroon AA, de Leeuw PW (1999) Effects of brain natriuretic peptide on forearm vasculature: comparison with atrial natriuretic peptide. *Cardiovasc Res* 44:595–600. doi: 10.1016/s0008-6363(99)00234-5
267. Zhang F, Yu L, Lin X, Cheng P, He L, Li X, Lu X, Tan Y, Yang H, Cai L, Zhang C (2015) Minireview: Roles of Fibroblast Growth Factors 19 and 21 in Metabolic Regulation and Chronic Diseases. *Mol Endocrinol* 29:1400–1413. doi: 10.1210/me.2015-1155
268. Zhou Y, Wu Q (2014) Corin in natriuretic peptide processing and hypertension topical collection on mediators, mechanisms, and pathways in tissue injury. *Curr Hypertens Rep* 16. doi: 10.1007/s11906-013-0415-7
269. Zhu WH, Chen LY, Dai HL, Chen JH, Chen Y, Fang LZ (2016) Correlation between B type natriuretic peptide and metabolic risk factors. *Arch Med Sci* 12:334–340. doi: 10.5114/aoms.2015.57001

## 7.5. Eigene Publikationen

1. Schmid A, Albrecht J, Brock J, Koukou M, Arapogianni E, Schäffler A, Karrasch T (2018) Regulation of natriuretic peptides postprandially in vivo and of their receptors in adipocytes by fatty acids in vitro. *Mol Cell Endocrinol* 473. doi: 10.1016/j.mce.2018.01.023
2. Brock J, Schmid A, Karrasch T, Pfefferle P, Schlegel J, Busse I, Hauenschild A, Schmidt B, Koukou M, Arapogianni E, Schultz A, Thomalla M, Akinci S, Kruse J, Padberg W, Schäffler A, Albrecht J (2019): Progranulin serum levels and gene expression in subcutaneous vs visceral adipose tissue of severely obese patients undergoing bariatric surgery. *Clin Endocrinol (Oxf)* 91(3): 400-410. doi: 10.1111/cen.14040



## 8. Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

---

Ort, Datum

---

Unterschrift

## **9. Danksagung:**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen beteiligten Personen, welche mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben, bedanken.

An vorrangiger Stelle gilt mein besonderer Dank meinem Betreuer Herrn Prof. Dr. med. Andreas Schäffler, der mir die Möglichkeit gegeben hat diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen. Für die ausgezeichnete Betreuung während der gesamten Dissertation bin ich sehr dankbar.

Herrn Dr. rer. nat. Schmid möchte ich ganz besonders danken für die hervorragende Betreuung im Labor, den konstruktiven Austausch, die wertvollen Anregungen und die stete Hilfsbereitschaft während der Erarbeitung meiner Dissertation.

Des Weiteren möchte ich Herrn PD Dr. med. Karrasch meinen Dank für die zahlreichen Hinweise und Ratschläge bei der Bearbeitung des Themas äußern.

Alle Mitarbeiter der Arbeitsgruppe danke ich für die nette Arbeitsatmosphäre. Insbesondere möchte ich hier Kathrin Ebeling und Miriam Thomalla nennen.

Ein großer Dank gilt auch für die gesamte ROBS (Research and Registry in Obesity and Bariatric Surgery) Studiengruppe.

Meine Mutter Sotiria möchte ich von ganzem Herzen für ihre unaufhörliche und bedingungslose Unterstützung in aller Hinsicht danken.

Ganz besonders möchte ich mich auch herzlich bei meinem Ehemann Nikolaos bedanken. Für sein geduldiges Zuhören und seine immer liebevolle Unterstützung während aller Stadien der Anfertigung dieser Dissertation, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre, bin ich sehr dankbar.

## **10. Anhang**

### **10.1. Ethikvotum**

Es besteht ein positives Ethikvotum für Arbeiten an humanem Material der ROBS-Kohorten an der Universität Giessen (Aktenzeichen 101/14).