

**Regulation und Funktion des antimikrobiellen Peptids
Cathelicidin (CAMP) im Kontext von Fettgewebsbiologie
und Adipositas**

Inauguraldissertation

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

vorgelegt von

Marissa Patz

aus Berlin

Gießen 2023

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Medizinischen Klinik und Poliklinik III,
AG Molekulare Endokrinologie

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Schäffler
2. Gutachter: PD Dr. med. Thilo Andreas Schwandner

Tag der Disputation: 01.03.2024

Vorbemerkung

Daten aus dieser Promotionsarbeit sowie aus meiner experimentellen Arbeit im Labor konnten bisher bereits in 3 internationalen Journalen mit mir als Ko-Autorin publiziert werden (siehe Kapitel 10 *Publikationsverzeichnis*).

Hochberg, A., **Patz, M.**, Karrasch, T., Schäffler, A., & Schmid, A. (2021). Serum Levels and Adipose Tissue Gene Expression of Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) in Obesity and During Weight Loss. *Hormone and Metabolic Research*, 53(03), 169-177.

Schmid, A., Gehl, J., Thomalla, M., Hochberg, A., Kreiß, A., **Patz, M.**, Karrsch, T., Schäffler, A. (2020). Downregulation of CTRP-3 by Weight Loss In Vivo and by Bile Acids and Incretins in Adipocytes In Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8168.

Schmid, A., Hochberg, A., Kreiß, A., Gehl, J., **Patz, M.**, Thomalla, M., Hanes, F., Karrasch, T., Schäffler, A. (2020). Role of progranulin in adipose tissue innate immunity. *Cytokine*, 125, 154796.

Diese Promotionsarbeit erstellte ich in einem „Freisemester“ und wurde hierbei dankenswerterweise durch das Stipendium des JLU-TRAINEE Programms des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen gefördert.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	III
1 Einleitung.....	1
1.1 <i>Adipositas und das Metabolische Syndrom</i>	1
1.1.1 Adipositas – eine weltweite Epidemie	1
1.1.2 Das Metabolische Syndrom	2
1.2 <i>Das Fettgewebe</i>	3
1.2.1 Formen und Vorkommen des Fettgewebes.....	4
1.2.2 Histologischer Aufbau des Fettgewebes.....	4
1.2.3 Differenzierung der Präadipozyten zu reifen Adipozyten	5
1.2.4 Fettgewebe als endokrines Organ	6
1.3 <i>Auswirkungen der Adipositas auf das Fettgewebe</i>	7
1.4 <i>Das antimikrobielle Peptid Cathelicidin (CAMP)</i>	8
1.5 <i>Die Studie: Research in Obesity and Bariatric Surgery (ROBS)</i>	10
1.5.1 Zielsetzung der Studie.....	10
1.5.2 Rahmenbedingungen der Studie	12
1.5.3 Einschlusskriterien und Indikationsstellung zur bariatrischen Operation.....	13
1.5.4 Ausschlusskriterien	14
1.5.5 Ablauf der Probengewinnung und des klinischen Monitorings	14
1.5.6 Operative Therapie: Bariatrische Operation.....	16
1.5.7 Konservative Therapie: niedrigkalorische Diät	17
1.6 <i>Zielsetzung der Arbeit</i>	18
2 Material und Methoden.....	20
2.1 <i>Material</i>	20
2.1.1 Geräte	20
2.1.2 Verbrauchsmaterialien.....	21
2.1.3 Chemikalien	22
2.1.4 Kit-Systeme	23
2.1.5 Puffer und Lösungen	24
2.1.6 Humane Fettgewebs- und Serumproben aus dem ROBS-Kollektiv.....	25
2.1.7 Zelllinien.....	25
2.1.8 Zellkulturmedien der murinen Zelllinie 3T3-L1	26
2.1.9 Murine und humane Oligonukleotide.....	27

2.2	Methoden	28
2.2.1	Zellkultur der murinen Zelllinie 3T3-L1	28
2.2.2	Zellernte und RNA-Isolierung muriner 3T3-L1-Adipozyten	30
2.2.3	RNA-Isolierung aus humanem Fettgewebe	31
2.2.4	Laktatdehydrogenase-Test (LDH)	32
2.2.5	Konzentrations- und Reinheitsbestimmung der RNA	32
2.2.6	Reverse Transkription (RT)	33
2.2.7	Real-time quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR)	34
2.2.8	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	35
2.2.9	Statistische Auswertung	36
3	Ergebnisse	37
3.1	Ergebnisse aus der ROBS-Studie: operative Therapie (ex vivo)	37
3.1.1	Studiencharakteristika des ROBS-Kollektivs: operative Therapie	37
3.1.2	Unterschied der Genexpressionslevel von CAMP im Vergleich von subkutanem und viszeralem Fettgewebe	38
3.1.3	Unterschied der Genexpressionslevel von CAMP in subkutanem Fettgewebe im Vergleich bei Frauen und Männern	39
3.1.4	Unterschied der Genexpressionslevel von CAMP in viszeralem Fettgewebe im Vergleich bei Frauen und Männern	39
3.1.5	Analyse der CAMP-Serumproteinspiegel zum Zeitpunkt vor und 12 Monate nach Therapie mittels bariatrischer Operation	40
3.1.6	Korrelationsanalyse der basalen CAMP-Serumproteinspiegel (a) sowie der CAMP-Genexpressionslevel in subkutanem (b) und viszeralem Fettgewebe (c) mit basalen anthropometrischen und biochemischen Parametern	41
3.1.7	Korrelationsanalyse der Veränderungen anthropometrischer und biochemischer Parameter nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels bariatrischer Operation und den basalen CAMP-Serumproteinspiegeln (a) sowie den Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (b) ..	43
3.1.8	Serumproteinspiegel von CAMP im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme mittels bariatrischer Operation	45
3.1.9	Korrelationsanalyse der CAMP-Genexpressionslevel in subkutanem und viszeralem Fettgewebe mit den CAMP-Serumproteinspiegeln	46
3.2	Ergebnisse aus der ROBS-Studie: konservative Therapie (ex vivo)	47
3.2.1	Studiencharakteristika des ROBS-Kollektivs: konservative Therapie	47
3.2.2	Analyse der CAMP-Serumproteinspiegel zum Zeitpunkt vor und 12 Monate nach Therapie mittels niedrigkalorischer Diät	48

3.2.3	Korrelationsanalyse der Veränderungen anthropometrischer und biochemischer Parameter nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels niedrigkalorischer Diät und den basalen CAMP-Serumproteinspiegeln (a) sowie den Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (b) ..	49
3.2.4	Serumproteinspiegel von CAMP im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme mittels niedrigkalorischer Diät	51
3.3	<i>Ergebnisse der Zellkulturversuche (in vitro)</i>	52
3.3.1	Genexpressionslevel von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit Sexualsteroiden.....	52
3.3.2	Genexpressionslevel von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit Glukose und Insulin	53
3.3.3	Genexpressionslevel von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit verschiedenen Gallensäuren	54
3.3.4	Genexpressionslevel von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit Glucagon-like Peptide-1.....	56
4	Diskussion	58
4.1	<i>Regulation von CAMP in Abhängigkeit vom jeweiligen Fettgewebekompartiment bei adipösen Patienten und Patientinnen</i>	58
4.2	<i>Geschlechtsdimorphismus der CAMP-Serumproteinspiegel und der CAMP-Genexpression in subkutanem Fettgewebe adipöser Patienten und Patientinnen</i>	58
4.3	<i>Assoziation von CAMP mit einer ungünstigen Stoffwechsellage und Inflammation</i>	59
4.4	<i>Regulation von CAMP im Verlauf einer einjährigen Gewichtsabnahme durch operative versus konservative Therapie</i>	61
4.5	<i>Fazit</i>	64
4.6	<i>Ausblick</i>	65
5	Zusammenfassung	66
5.1	<i>Zusammenfassung</i>	66
5.2	<i>Summary</i>	67
6	Abkürzungsverzeichnis	69
7	Abbildungsverzeichnis	73
8	Tabellenverzeichnis	75
9	Literaturverzeichnis	76

10	Publikationsverzeichnis.....	83
10.1	<i>Eigene Publikationen</i>	83
10.2	<i>Postervorträge.....</i>	83
11	Ehrenwörtliche Erklärung.....	84
12	Danksagung	85

1 Einleitung

1.1 Adipositas und das Metabolische Syndrom

1.1.1 Adipositas – eine weltweite Epidemie

Kaum einem Krankheitsbild wird, insbesondere in den Industrieländern, ein solch hoher Stellenwert zugeschrieben wie der Adipositas. Zur Einstufung der Schwere des Übergewichts wird als Vergleichsmaß der sogenannte Body-Mass-Index (BMI) herangezogen. Dieser errechnet sich aus dem Quotienten des Körpergewichts in Kilogramm und der Körpergröße in Metern zum Quadrat und wird in kg/m^2 angegeben (World Health Organization, 2000). Mit einem BMI ab 25 kg/m^2 gilt eine Person als übergewichtig. Ab einem BMI von 30 kg/m^2 wird der oder die Betroffene als adipös definiert. Die Adipositas wird darüber hinaus, wie in Tabelle 1 aufgeführt, in drei Schweregrade eingeteilt.

Tabelle 1:
Einteilung der Adipositas

Grad	BMI (kg/m^2)	Risiko von Komorbiditäten
Übergewicht	25 – 29,9	erhöht
Adipositas Grad I	30 – 34,9	moderat
Adipositas Grad II	35 – 39,9	hoch
Adipositas Grad III	≥ 40	sehr hoch

Quelle: In Anlehnung an World Health Organization, 2000, S. 9

In der Bundesrepublik Deutschland waren 2019 nach Angaben des Statistischen Bundesamtes rund 61% der erwachsenen Männer und 47% der erwachsenen Frauen übergewichtig (Destatis Statistisches Bundesamt, 2021). Als adipös galten etwa 19% der erwachsenen Bevölkerung (Eurostat, 2022). Auch global betrachtet bleibt die Problematik der Adipositas bedeutsam. Weltweit waren im Jahr 2016 rund 13% und damit mehr als 650 Millionen der über 18-Jährigen von Adipositas betroffen (World Health Organization, 2021). Weltweit sterben inzwischen mehr Menschen an Übergewicht und dessen Folgeerkrankungen als an Mangelernährung (World Health Organization, 2021). Grundlegend bei der Entstehung der Adipositas ist eine qualitative und quantitative Fehlernährung. Als ursächlich gelten laut der S3-Leitlinie zur Prävention und Therapie der Adipositas „familiäre Disposition, genetische Ursachen, Lebensstil (z. B. Bewegungs-

mangel, Fehlernährung), ständige Verfügbarkeit von Nahrung, Schlafmangel, Stress, depressive Erkrankungen, niedriger Sozialstatus, Essstörungen (z. B. Binge-Eating-Disorder, Night-Eating-Disorder), endokrine Erkrankungen (z. B. Hypothyreose, Cushing-Syndrom), Medikamente (z. B. Antidepressiva, Neuroleptika, Phasenprophylaktika, Antiepileptika, Antidiabetika, Glukokortikoide, einige Kontrazeptiva, Betablocker), andere Ursachen (z. B. Immobilisierung, Schwangerschaft, Nikotinverzicht)“ (Deutsche Adipositas-Gesellschaft e.V., 2014, S. 17). Das Gesundheitsrisiko stellen nicht nur die Adipositas selbst, sondern auch die Folgeerkrankungen und Veränderungen, die aufgrund dieser entstehen, dar. Hier sind insbesondere Störungen des Stoffwechsels, kardiovaskuläre Erkrankungen und Erkrankungen des Bewegungsapparates zu nennen. Tabelle 2 zeigt das relative Risiko, an einer entsprechenden Folgeerkrankungen der Adipositas zu erkranken.

Tabelle 2:
Folgeerkrankungen von Adipositas

Relatives Risiko >3 -fach erhöht	Relatives Risiko 2–3 -fach erhöht	Relatives Risiko 1–2 -fach erhöht
Typ-2-Diabetes mellitus Cholezystolithiasis Dyslipidämie Insulin-Resistenz Schlaf-Apnoe-Syndrom	Koronare Herzkrankheit Arterielle Hypertonie Gonarthrose Gicht	Karzinome Störungen der Sexualhormone Rückenschmerzen Infertilität Fetopathie

Quelle: In Anlehnung an World Health Organization, 2000, S. 43

Auch für die Volkswirtschaft stellen Übergewicht, Adipositas und die Folgeerkrankungen eine nicht zu vernachlässigende Belastung dar. In Deutschland beliefen sich im Jahr 2015 allein die Kosten, welche unter der ICD10 E65-E68 *Adipositas und sonstige Überernährung* zusammengefasst wurden, auf 1.099 Millionen Euro (Destatis Statistisches Bundesamt, 2022). Hinzu kommen Folgekosten, sodass sich direkte Kosten der Adipositas von rund 29 Milliarden Euro für das Jahr 2015 ergaben (Statista, 2016).

1.1.2 Das Metabolische Syndrom

Ein Krankheitskomplex, welcher über die Adipositas allein hinausgeht, ist das Metabolische Syndrom. Dieses besteht aus den fünf Teilaspekten: abdominelle Adipositas in Form eines erhöhten Taillenumfanges, erhöhte Triglyzeridspiegel, erniedrigter HDL-Cholesterinspiegel, erhöhter Blutdruck und erhöhter Nüchternblutglukosewert. Für die Diagnose des Metabolischen Syndroms müssen mindestens drei der genannten fünf

Symptome erfüllt sein (Alberti et al., 2009). Die genauen Grenzwerte der verschiedenen Organisationen sind Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3:
Definitionen des Metabolischen Syndroms

Risikofaktoren		AHA / NHLBI	IDF
Bewertung der Komponenten		≥ 3 der untenstehenden Risikofaktoren	≥ 3 der untenstehenden Risikofaktoren
Taillenumfang	Männer	> 102 cm	≥ 94 cm
	Frauen	> 88 cm	≥ 80 cm
Triglyzeride		≥ 150 mg/dl oder Lipidsenker	≥ 150 mg/dl
HDL-Cholesterin	Männer	< 40 mg/dl oder Medikament	< 40 mg/dl
	Frauen	< 50 mg/dl oder Medikament	< 50 mg/dl
Blutdruck		≥ 130 mmHg systolisch ≥ 85 mmHg diastolisch oder Antihypertensiva	≥ 130 mmHg systolisch ≥ 85 mmHg diastolisch
Nüchternblutglukose		≥ 100 mg/dl oder Antidiabetika	≥ 100 mg/dl

Anmerkung: AHA = American Heart Association, NHLBI = National Heart, Lung, and Blood Institute, IDF = International Diabetes Federation

Quelle: In Anlehnung an Deutsche Adipositas-Gesellschaft e.V., 2014, S. 19

Das Vorliegen eines Metabolischen Syndroms geht mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und der Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2 einher (Deutsche Diabetes-Stiftung, 2011). Daher ist es zur Erstellung eines Risikoprofils der betroffenen Patienten und Patientinnen von großer klinischer Bedeutung.

1.2 Das Fettgewebe

Die Bedeutsamkeit des Fettgewebes geht über die allseits bekannten Funktionen der Energiespeicherung (Triglyzeridsynthese) und -bereitstellung (Lipolyse), der Wärmeisolation und der Rolle als Bau-Stütz-Fett hinaus. Denn Fettgewebe wirkt zusätzlich über die Synthese und Sekretion von stoffwechselaktiven Proteinen, sogenannten Adipokinen, auch als endokrines Organ (Kershaw & Flier, 2004). Damit stellt das Fettgewebe das größte endokrin wirksame Organ des Menschen dar. Neuere Forschungsergebnisse belegen, dass das Fettgewebe als Teil des innaten Immunsystems angesehen werden kann, da es Zytokine, Chemokine, Toll-like-Rezeptoren, Komplement-Komponenten, den Inflammasom-Multiproteinkomplex und C1q/TNF-related proteins (CTRP) exprimiert (Hotamisligil, 2017; Schäffler, 2022; Schäffler & Buechler, 2012; Schäffler et al., 2007).

1.2.1 Formen und Vorkommen des Fettgewebes

Es werden zwei Formen des Fettgewebes unterschieden: das beim Erwachsenen bevorzugt auftretende weiße Fettgewebe und das überwiegend beim Säugling auftretende braune Fettgewebe. Während das weiße Fettgewebe in erster Linie als Energiespeicher wirkt, stellt die Hauptaufgabe des braunen Fettgewebes die für den Säugling so wichtige Thermogenese durch Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung dar (Lüllmann-Rauch & Asan, 2019). Da sich die Untersuchungen in dieser Dissertation auf das weiße Fettgewebe konzentrieren, wird an dieser Stelle nicht näher auf das braune Fettgewebe eingegangen.

Je nach Lokalisation wird Fettgewebe in subkutanes (Unterhautfettgewebe) und viszerales Fettgewebe (Bauchraumfett) eingeteilt. Darüber hinaus tritt es auch in Form von so genanntem Baufett auf, welches den Nutzen hat, Organe wie beispielsweise den Augapfel oder die Nieren in ihrer Position zu fixieren (Lüllmann-Rauch & Asan, 2019). Als ektopes Fettgewebe bezeichnet man Fettgewebe / Lipidspeicherung in bspw. der Lunge, dem Epikard, dem Pankreas, dem Muskel und der Leber (Kozawa & Shimomura, 2021).

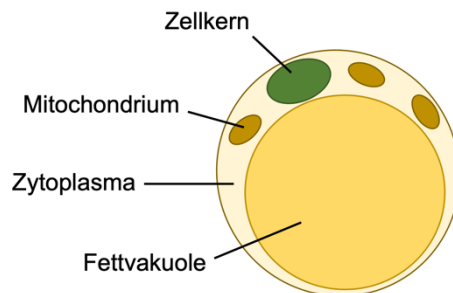
1.2.2 Histologischer Aufbau des Fettgewebes

Die Zelltypen, aus denen das Fettgewebe besteht, lassen sich in zwei große Fraktionen aufteilen, zum einen in die reifen Adipozyten und zum anderen in die sogenannte Stromal Vascular Fraction (SVF), zu welcher neben der extrazellulären Matrix auch mesenchymale Stammzellen, Fibroblasten, Präadipozyten, das Endothel der Gefäße sowie deren glatte Muskelzellen und Immunzellen wie Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen, NK-Zellen und T-Zellen zählen (Ouchi et al., 2011). Murine Adipozyten des weißen Fettgewebes enthalten mehrere kleinere Fettvakuolen, welche Lipide speichern und werden aufgrund ihres Phänotyps auch plurivakuoläre Fettzellen genannt. Im Gegensatz dazu werden humane Adipozyten des weißen Fettgewebes aufgrund ihres Phänotyps als univakuoläre Fettzellen bezeichnet, da sie im Inneren eine einzige, große und die Zelle fast vollständig ausfüllende Fettvakuole besitzen. Diese Fettvakuole wird von einer monomolekularen Phospholipidschicht umgeben. Die Zellorganellen und der Zellkern werden an den Rand der Zelle gedrängt (sog. Siegelringzellen) und von einem schmalen Zytoplasmasaum umgeben. Der einzelne Adipozyt wird durch eine Basalmembran vom Interstitium abgegrenzt (Lüllmann-Rauch & Asan, 2019). Abbildung 1 zeigt die schematische Darstellung eines reifen weißen Adipozyten. Die einzelnen Adipozyten sind in den Fettdepots in kollagenes, kapillarisiertes Bindegewebe eingebettet und in Lappchen

organisiert. Im Gegensatz zu braunen Adipozyten sind Vaskularisation, Innervation und mitochondriale Dichte der weißen Adipozyten spärlich (Lüllmann-Rauch & Asan, 2019).

Abbildung 1:

Schematische Darstellung eines weißen Adipozyten



Quelle: Eigene Darstellung

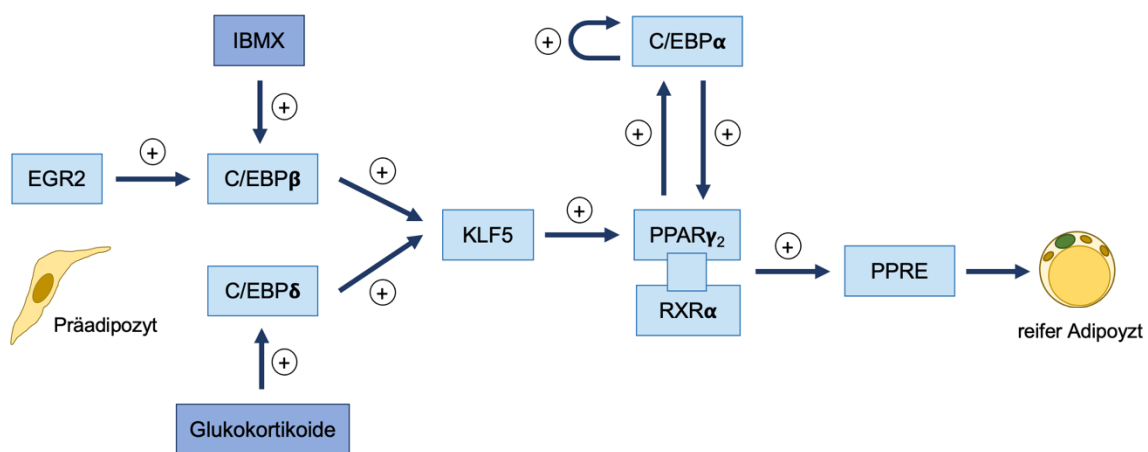
1.2.3 Differenzierung der Präadipozyten zu reifen Adipozyten

Die Entstehung eines reifen Adipozyten ist ein komplexes Zusammenspiel von verschiedensten Transkriptionsfaktoren, die bei der Differenzierung der Vorläuferzellen mitwirken (siehe Abbildung 2). Diese Vorläuferzellen, welche Präadipozyten genannt werden, stammen von mesenchymalen Stammzellen aus dem Mesoderm ab (Pittenger et al., 1999). Mesenchymale Stammzellen sind pluripotente Progenitorzellen, die sich in Fett-, Muskel-, Knochen-, Knorpel- und Bindegewebszellen differenzieren können. Das frühe Stadium der Differenzierung beginnt mit der Aktivierung des Transkriptionsfaktors CCAAT-enhancer binding protein (C/EBP) β durch early growth response 2 (EGR2) (Schäffler et al., 2006). C/EBP β wirkt zusammen mit einer weiteren Unterform der C/EBP, dem C/EBP δ induzierend auf die Expression von krueppel-like transcription factor (KLF)5. Hierbei verstärken Isobutylmethylxanthin (IBMX) als cAMP-Generator und Glukokortikoide jeweils die aktivierende Wirkung von C/EBP β bzw. C/EBP δ . KLF5 induziert die Expression des Transkriptionsfaktors peroxisome proliferator activated receptor γ_2 (PPAR γ_2), welcher über die Bildung eines Heterodimeres mit retinoid X receptor α (RXR α) wiederum die Expression von C/EBP α induziert (Schäffler et al., 2006). PPAR γ_2 steht mit C/EBP α in gegenseitiger positiver Rückkopplung, wodurch die Differenzierung der Präadipozyten stark vorangetrieben wird. C/EBP α hat zusätzlich stimulierende Wirkung auf seine eigene Expression. Durch das Heterodimer aus PPAR γ_2 und RXR α werden zusätzlich sogenannte PPAR response elements (PPREs) der Zielgene der Adipozyten aktiviert, was zu einer Steigerung der Expression dieser Gene führt (Schäffler et al., 2006). Neben der beschriebenen Steigerung der Aktivität von die Adipogenese induzierenden Genen kommt es auch zur Herabsetzung der Aktivität inhibierender

Gene. Zu diesen die Adipogenese inhibierenden Faktoren zählen unter anderem GATA-binding protein-2 and -3 (GATA-2 and GATA-3), KLF2 und preadipocyte factor-1 (Pref-1) (Schäffler et al., 2006). Aus den Präadipozyten entstehen durch diesen komplexen Prozess der Differenzierung reife Adipozyten, welche beginnen Lipide in ihre Fettvakuole einzulagern sowie Adipokine zu synthetisieren und sezernieren.

Abbildung 2:

Schematische Darstellung der bei der Differenzierung zu reifen Adipozyten mitwirkenden Transkriptionsfaktoren



Quelle: In Anlehnung an Schäffler et al., 2006, S. 451

1.2.4 Fettgewebe als endokrines Organ

Neben dem allseits bekannten Mitwirken des Fettgewebes am Fett- und Glukosestoffwechsel beeinflussen Adipozyten eine ganze Reihe weiterer Prozesse. Dazu zählen unter anderem die Regulation des Appetits bzw. der Sättigung (Mechanick et al., 2018), die Beeinflussung der Insulinsekretion sowie -sensitivität (Blüher, 2013), das Entstehen von Entzündungsreaktionen (Kawai et al., 2020) und die Blutdruckregulation (Engeli et al., 1999). Diese Auswirkungen werden durch stoffwechselaktive Peptide, sogenannte Adipokine, welche von den Adipozyten und den Zellen der SVF synthetisiert und sezerniert werden, vermittelt. Bislang sind bereits über 100 verschiedene Adipokine im engeren Sinne bekannt, deren Funktionen und Regulation Gegenstand aktueller Forschung sind (Farkhondeh et al., 2020). Aufgrund dieser Erkenntnisse wird das Fettgewebe inzwischen auch als endokrines Organ angesehen und stellt damit das größte endokrin wirksame Organ des Menschen dar (Kershaw & Flier, 2004). Im Vergleich zeigen sich in subkutanem und viszeralem Fettgewebe unterschiedliche Zusammensetzungen der einzelnen sezernierten Adipokine (Samaras et al., 2010). Zu den bislang am besten erforschten Adipokinen zählen Leptin, Adiponektin und Resistin. Leptin erlangte seine

Aufmerksamkeit vor allem durch die Entdeckung der Auswirkungen auf das zentrale Nervensystem, indem es den Energiestatus aus der Körperperipherie an den Hypothalamus übermittelt und somit an der Regulation von Appetit und Sättigung („Sättigungshormon“) beteiligt ist (Obradovic et al., 2021). Adiponektin wird unter anderem eine antiinflammatorische und anti-diabetische Wirkung durch Erhöhung der Insulinsensitivität zugesprochen (Yamauchi & Kadowaki, 2013), während Resistin in proinflammatorische Signalwege, die bei der Entstehung der Atherosklerose mitwirken, involviert ist (Farkhondeh et al., 2020). Neben diesen und weiteren Adipokinen synthetisiert und sezerniert das Fettgewebe auch Entzündungsmediatoren wie beispielsweise Tumornekrosefaktor- α (TNF α), Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) und Makrophagen-Chemoattraktorprotein-1 (MCP-1/CCL2) (Fried et al., 1998; Kern et al., 1995).

1.3 Auswirkungen der Adipositas auf das Fettgewebe

Wie bereits in Kapitel 1.2.4 beschrieben, synthetisiert und sezerniert das Fettgewebe eine Vielfalt von Adipokinen. Diese werden aufgrund ihrer Wirkweisen in pro- und antiinflammatorische Adipokine eingeteilt. So zählen beispielsweise Leptin, Resistin, TNF α und IL-6 zu den proinflammatorischen Adipokinen, während Adiponektin eine antiinflammatorische Wirkung zugesprochen wird (Ouchi et al., 2011).

Bei gesunden und normalgewichtigen Patienten und Patientinnen ist das Gleichgewicht in Richtung antiinflammatorisch wirkender Adipokine und Zytokine verschoben (Lumeng et al., 2007). Im Rahmen einer Adipositas kommt es dagegen zur Hypertrophie der Adipozyten, bis diese eine Größe erreichen, für die keine ausreichende Sauerstoffversorgung mehr gewährleistet ist (Longo et al., 2019). Dies führt zur Hypoxie und Nekrose der Adipozyten (Cinti et al., 2005). Vermittelt durch chemotaktische Signale kommt es zum Einwandern von zahlreichen Monozyten in das Fettgewebe, welche colony-stimulating factor-1 (CSF-1) vermittelt zu Fettgewebsmakrophagen differenzieren und bis zu 40% der Zellen des Fettgewebes ausmachen können (Weisberg et al., 2003). Diese lagern sich um den nekrotischen Adipozyt und bilden sogenannte crown-like-structures (Murano et al., 2008). Im Zustand der Adipositas liegen vermehrt M1-polarisierte Makrophagen vor, welche nicht nur Zellfragmente des abgestorbenen Adipozyten phagozytieren, sondern auch eine Vielzahl proinflammatorischer Zytokine wie z. B. TNF α und IL-6 sezernieren (Lumeng et al., 2007; Shapouri-Moghaddam et al., 2018). Diese Entzündungsmediatoren führen neben der Rekrutierung weiterer Makrophagen auch zu einer verstärkten Synthese von proinflammatorischen und verminderten Synthese von antiinflammatorischen Adipokinen durch das Fettgewebe (Ouchi et al., 2011). Diese Dysregulation führt zu einer weiteren Aggravation der Entzündung (Adipoflammation). Damit

stellt die Adipositas einen Zustand der chronischen Inflammation dar (Metaflammation) (Kawai et al., 2020). Durch die Sekretion von proinflammatorisch wirkenden Adipokinen und Zytokinen in den Blutkreislauf begünstigen diese das Entstehen von systemischen Folgeerkrankungen der Adipositas (siehe Kapitel 1.1.1), wie beispielsweise der Insulinresistenz, des Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskulärer Erkrankungen (Hotamisligil, 2006; Hotamisligil et al., 1993). Insbesondere dem viszeralen Fettgewebe wird hierbei eine treibende Rolle zugeschrieben (J. Lee et al., 2018). Es konnte außerdem gezeigt werden, dass eine Gewichtsreduktion bei adipösen Patienten und Patientinnen die Anzahl von Fettgewebsmakrophagen und die damit assoziierte Entzündungsreaktion vermindern kann (Cancello et al., 2005).

1.4 Das antimikrobielle Peptid Cathelicidin (CAMP)

Die beim Menschen vorkommenden antimikrobiellen Peptide werden aufgrund struktureller Unterschiede in verschiedene Familien eingeteilt. Neben den Cathelicidinen existieren unter anderem noch die Familie der Defensine und die der Histatine (De Smet & Contreras, 2005). Das antimikrobielle Peptid Cathelicidin (CAMP, LL-37) stellt das einzige beim Menschen vorkommende antimikrobielle Peptid aus der Familie der Cathelicidine dar (Dürr et al., 2006). Das vom CAMP-Gen auf Chromosom 3 codierte Vorläuferpeptid CAP-18 wird durch Proteinase-3 gespalten, wodurch das reife LL-37 Peptid entsteht (Sørensen et al., 2001; Xhindoli et al., 2015). CAMP wird unter anderem von Epithelzellen, Keratinozyten, Zellen des Gastrointestinaltraktes und des Urogenitaltraktes sowie von Zellen des Immunsystems, wie den neutrophilen Granulozyten, Monozyten, Mastzellen und Makrophagen, synthetisiert (Scott et al., 2002; Xhindoli et al., 2015). Zudem konnte 2015 gezeigt werden, dass CAMP auch von Adipozyten synthetisiert und sezerniert wird (Zhang et al.). Seine antimikrobielle Wirkung entfaltet CAMP zum einen direkt, indem es die Membranintegrität von Bakterien stört, und zum anderen indirekt über seine immunmodulatorische Wirkung (E. Lee et al., 2018).

Dass sich Fettgewebe vermehrt an entzündlich veränderten Organen bildet, spricht dafür, dass dieses am Entzündungsgeschehen beteiligt sein muss. So findet sich beispielsweise bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen wie dem Morbus Crohn vermehrt Fettgewebe, welches entzündlich veränderte Darmabschnitte umgibt („creeping fat“) und proinflammatorische Zytokine freisetzt (Schäffler & Herfarth, 2005). Einen Meilenstein in der Erforschung von Fettgewebe im Kontext von Entzündungen stellt die Veröffentlichung von Zhang et al. im *Science Journal* aus dem Jahr 2015 dar. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass Fettgewebe über die Synthese von CAMP antimikrobiell wirkt. Es

konnte aufgezeigt werden, dass es im Rahmen einer Hautinfektion mit *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) zur Hypertrophie und Expansion der subkutanen Adipozyten kommt. Eine experimentelle Inhibition der Adipogenese durch Blockade des Transkriptionsfaktors PPAR γ in Mäusen führte zu einer verminderten Expansion des Fettgewebes und zu einer deutlich schwächeren Abwehr der bakteriellen Infektion. Die geschwächte Abwehr korrelierte dabei mit einer Reduktion der CAMP-Genexpression. Außerdem wurde die Infektanfälligkeit von CAMP^{-/-} Mäusen, welchen die Fähigkeit CAMP zu synthetisieren fehlt, untersucht. Hier zeigte sich ebenfalls eine stark eingeschränkte Abwehr der *S. aureus* Infektion, welche durch zusätzliche Blockade von PPAR γ nicht weiter verschlechtert wurde. Wildtyp-Mäuse hingegen waren in der Lage, die Hautinfektion mit *S. aureus* einzudämmen (Zhang et al., 2015). Im Einklang mit diesen *in vivo* Ergebnissen konnte auch *in vitro* gezeigt werden, dass CAMP antimikrobiell wirkt. Hierzu wurde die immortalisierte murine Zelllinie 3T3-L1 genutzt. Durch Zugabe von *S. aureus*-haltigem Medium während der Differenzierung von 3T3-L1-Adipozyten stieg die CAMP-Expression an. CAMP-haltiges Medium war in der Lage, *S. aureus* abzutöten, während CAMP-negatives Medium die Infektion nicht eindämmen konnte (Zhang et al., 2015). Somit konnten die Untersuchungen von Zhang et al. verdeutlichen, dass der entscheidende Faktor des Fettgewebes, welcher antimikrobiell wirkt, CAMP sein muss (2015). Bakterien exprimieren sogenannte pathogen-associated-molecular-patterns (PAMPs). Beispiele für solche PAMPs sind das Makrophagen-aktivierende-Lipopeptid-2 (MALP-2) aus Zellwänden grampositiver Bakterien und das Lipopolysaccharid (LPS) aus Zellwänden gramnegativer Bakterien (Gioannini & Weiss, 2007; Höpfinger et al., 2021). Toll-like-Rezeptoren (TLRs), welche zu den pattern-recognition receptors (PRRs) gehören und von denen die meisten auf der Oberfläche von Zellen lokalisiert sind, erkennen diese PAMPs als Fremdmoleküle und lösen über eine molekulare Signalkaskade eine Immunantwort zur Bekämpfung des pathogenen Keims aus (Brubaker et al., 2015). Es ist bekannt, dass diese TLRs nicht nur von Immunzellen, sondern auch von Adipozyten exprimiert werden (Kopp et al., 2009). Schmid et al. konnten in 3T3-L1-Adipozyten zeigen, dass die Genexpression sowohl von CAMP als auch von TLR-2 durch Stimulation mit MALP-2 (Ligand von TLR-2) signifikant induziert wird (2017). Dies legt nahe, dass der TLR-2–CAMP-Signalweg ein entscheidender in der Erkennung von grampositiven Bakterien durch Adipozyten sein könnte (Schmid et al., 2017). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass auch eine Stimulation von 3T3-L1-Adipozyten mit LPS (Ligand von TLR-4) zu einer Induktion der Genexpression von CAMP führt (Höpfinger et al., 2021). Adipozyten scheinen demnach durch CAMP ebenfalls an der Abwehr gramnegativer bakterieller Infektionen beteiligt zu sein. Das Fettgewebe ist durch die Synthese und Sekretion von CAMP sowie die Expression von TLRs an der Infektabwehr beteiligt und ist damit Teil des Immunsystems.

Das Fettgewebe stellt demnach eine Schnittstelle von Metabolismus und Immunsystem dar (Schäffler, 2022).

Die Erkenntnis, dass das Fettgewebe über die Sekretion von CAMP eine bedeutende Rolle bei der Infektabwehr spielt, führte zu steigendem Interesse daran, welche Auswirkungen eine krankhaft gesteigerte Fettmasse auf die Sekretion des antimikrobiellen Peptides haben würde. Klinisch kann beobachtet werden, dass Patienten und Patientinnen mit einer Adipositas und / oder einer Insulinresistenz ein deutlich höheres Risiko für schwere Weichteilinfektionen und postoperative Infektionen aufweisen (Sreeramoju et al., 2011; Zhuang et al., 2021). Um die Auswirkungen einer kalorienreichen Ernährung zu untersuchen, erhielten C57BL6 Mäuse im Rahmen der Versuche von Zhang et al. für 4 Wochen eine hochkalorische Diät (2015). Hierunter zeigten sich eine signifikant gesteigerte CAMP-Genexpression in subkutanem Fettgewebe und signifikant gesteigerte CAMP-Serumlevel (Zhang et al., 2015). Im Zustand der Adipositas liegen vermehrt reife Adipozyten vor. Kürzlich veröffentlichte Forschungsergebnisse konnten zeigen, dass transforming growth factor- β (TGF β), welcher von reifen Adipozyten exprimiert wird, zu einer verminderten Anzahl von Präadipozyten führt (Zhang et al., 2021). Im subkutanen Fettgewebe von adipösen Mäusen, welche zuvor für 6 Monate eine hochkalorische Diät erhalten hatten, fand sich eine deutlich verminderte Anzahl von Präadipozyten, was wiederum zu einer geringeren Expression von CAMP und einer erhöhten Anfälligkeit für Hautinfektionen mit *S. aureus* führte (Zhang et al., 2021). Durch Hinzugabe von TGF β -Inhibitor oder PPAR γ konnte der Effekt umgekehrt werden, wodurch die CAMP-Genexpression gesteigert und die Infektabwehr gegen *S. aureus* verbessert wurde. Auch bei Menschen konnte beobachtet werden, dass eine Adipositas zu einer verringerten Anzahl von Präadipozyten im subkutanen Fettgewebe führt (Zhang et al., 2021). Paradoxe Weise zeigten sich bei übergewichtigen Menschen (BMI ≥ 25 kg/m²) im Vergleich zu normalgewichtigen (BMI < 25 kg/m²) signifikant gesteigerte CAMP-Serumlevel (Zhang et al., 2015). Die Erklärung für diese Diskrepanz sowie genauere Kenntnisse zur Regulation von CAMP im Kontext der Adipositas bleiben bislang unklar.

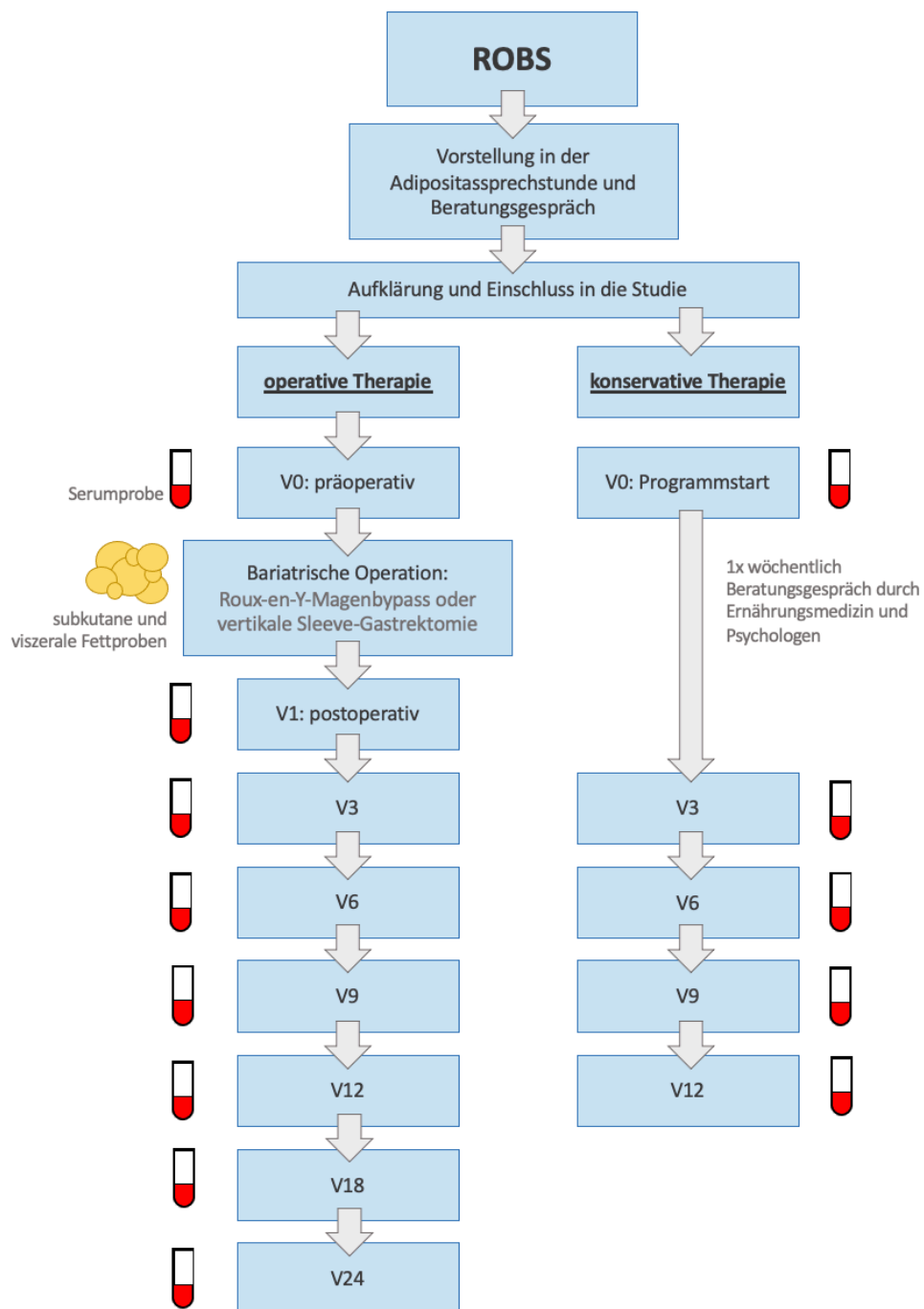
1.5 Die Studie: Research in Obesity and Bariatric Surgery (ROBS)

1.5.1 Zielsetzung der Studie

Im Rahmen der Studie Research in Obesity and Bariatric Surgery (ROBS) erfolgte die Erhebung und Analyse klinischer, anthropometrischer, biochemischer sowie genetischer

Daten im Kontext von Adipositas und der Auswirkungen eines massiven Gewichtsverlustes. Dieser wurde im Rahmen der Studie entweder durch eine operative oder konservative Therapie erzielt. Die schwer adipösen Patienten und Patientinnen wurden je nach Therapieansatz der entsprechenden Gruppe zugeordnet. Probanden und Probandinnen, welche mittels bariatrischer Operation behandelt wurden, wurden der Gruppe *operative Therapie* (siehe Abbildung 3, linke Spalte) zugeteilt. Hier kamen als Operationsverfahren der Roux-en-Y-Magenbypass (RYGB) und die vertikale Sleeve-Gastrektomie (VSG) zum Einsatz. Patienten und Patientinnen, welche mittels einer niedrigkalorischen Diät therapiert wurden, wurden der Gruppe *konservative Therapie* (siehe Abbildung 3, rechte Spalte) zugeordnet. Ziel der Studie ist es, verschiedene Adipokine im Zustand der Adipositas und im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme zu untersuchen. Darüber hinaus soll untersucht werden, ob die Methode, durch welche die Gewichtsreduktion erzielt wird, einen Einfluss auf metabolisch und inflammatorisch relevante Adipokine hat. Daraus soll ein besseres Verständnis der Regulation und Funktion von Adipokinen abgeleitet werden.

Abbildung 3:
Arbeitsablauf der ROBS-Studie



Anmerkung: V = Visite

Quelle: In Anlehnung an Brock et al., 2019, supporting information

1.5.2 Rahmenbedingungen der Studie

Für die Längsschnittstudie *ROBS*, welche durch die Universitätsklinik Gießen im Zeitraum von Januar 2015 bis Februar 2020 durchgeführt wurde, wurde ein „offenes, nicht-randomisiertes, monozentrisches, prospektives und beobachtendes“ Studiendesign

ausgewählt (Hochberg et al., 2021, S. 170). Die Zulassung zur Durchführung der *ROBS-Studie* erfolgte ohne Einwände im Jahr 2014 durch die Ethik-Kommission am Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen (AZ 101/14). Die Einwilligungserklärungen der Patienten und Patientinnen zur Teilnahme an der Studie liegen vor. Diese wurden nach ausführlicher Aufklärung der Probanden und Probandinnen über die Zielsetzung der Studie unterzeichnet. Die erhobenen Daten wurden pseudonymisiert und die Patienten und Patientinnen über deren Verarbeitung unter Einhaltung der Datenschutzrichtlinien informiert (Hochberg et al., 2021).

1.5.3 Einschlusskriterien und Indikationsstellung zur bariatrischen Operation

Laut der aktuellen S3-Leitlinie „Chirurgie der Adipositas und metabolischer Erkrankungen“ der Deutschen Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie aus dem Jahr 2018 besteht unter folgenden Bedingungen die Indikation für einen adipositaschirurgischen Eingriff:

1. „Bei Patienten mit einem BMI $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ ohne Begleiterkrankungen und ohne Kontraindikationen ist nach Erschöpfung der konservativen Therapie nach umfassender Aufklärung eine adipositaschirurgische Operation indiziert.“ (DGAV, 2018, S. 35)
2. „Patienten mit einem BMI $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ mit einer oder mehreren Adipositas-assoziierten Begleiterkrankungen wie Diabetes mellitus Typ 2, koronare Herzerkrankung, Herzinsuffizienz, Hyperlipidämie, arterieller Hypertonus, Nephropathie, Obstruktives Schlafapnoesyndrom (OSAS), Adipositas-Hypoventilationssyndrom, Pickwick Syndrom, nicht alkoholische Fettleber (NAFLD) oder nicht alkoholische Fettleberhepatitis (NASH), Pseudotumor cerebri, Gastroösophageale Refluxerkrankung (GERD), Asthma, chronisch venöse Insuffizienz, Harninkontinenz, immobilisierende Gelenkerkrankung, Einschränkungen der Fertilität oder polyzystisches Ovarialsyndrom sollte eine adipositaschirurgische Operation angeboten werden, wenn die konservative Therapie erschöpft ist.“ (DGAV, 2018, S. 35-36)
3. „Unter bestimmten Umständen kann eine Primärindikation zu einem adipositaschirurgischen Eingriff gestellt werden, ohne dass vorher ein konservativer Therapieversuch erfolgte. Die Primärindikation kann gestellt werden (...) bei Patienten mit einem BMI $> 50 \text{ kg/m}^2$.“ (DGAV, 2018, S. 35-36)

Als Einschlusskriterien für die *operative Therapie* im Rahmen der *ROBS-Studie* und damit für die Zulassung zur bariatrischen Operation wurden leitliniengerecht eine Adipositas Grad II mit zusätzlich vorliegendem Diabetes mellitus Typ 2 sowie eine Adipositas Grad III definiert (Hochberg et al., 2021). Für die Patienten und Patientinnen, welche die *konservative Therapie* im Rahmen der *ROBS-Studie* erhielten, galt ein BMI von $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ als Einschlusskriterium. Zum Ausschluss einer endokrinologischen Genese der Adipositas und zur Erfassung des Gesundheitszustandes erfolgten für beide Therapiegruppen vor endgültigem Einschluss in die Studie folgende Untersuchungen: „Anamnese und klinische Untersuchung, 2mg Dexamethason-Hemmtest, Blutentnahme mit klinischer Chemie und endokrinologischer Aufarbeitung, 2-stündiger oraler Glukosetoleranztest bei Nicht-Diabetikern, Gastroduodenoskopie, abdominelle Sonografie, 24h-Langzeitblutdruckmessung, 12-Kanal-Elektrokardiogramm, Screening auf Schlafapnoesyndrom, Röntgen Thorax, Bodyplethismographie, Bioimpedanzmessung, Echokardiografie, Ernährungsberatung und ein psychosomatisches Konsil“ (Brock et al., 2019, S. 402).

1.5.4 Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterien wurden sowohl für die *operative* als auch für die *konservative Therapie* „Schwangerschaft, Nachweis oder Hinweise auf zugrundeliegende endokrinologische Erkrankungen, Bulimia nervosa, Binge-Eating-Störung, Einnahme illegaler Drogen, Neoplasien, schwere psychiatrische Erkrankungen, Psychosen und psychische Instabilität“ definiert (Hochberg et al., 2021, S. 170).

1.5.5 Ablauf der Probengewinnung und des klinischen Monitorings

Den zur Studie zugelassenen Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* wurden während der bariatrischen Operation durch die chirurgischen Kollegen des Universitätsklinikums Gießen unter sterilen Bedingungen subkutanes (abdominales) und viszerale (intraabdominales) Fettgewebe entnommen. Darüber hinaus wurden zu definierten Zeitpunkten nüchtern Serumproben entnommen und asserviert. Zeitpunkt V0 stellte hierbei die Serumentnahme kurz vor der Operation dar. Es folgte 2 - 4 Tage postoperativ die Serumentnahme V1. Anschließend wurden den Patienten und Patientinnen im Abstand von 3, 6, 9, 12, 18 und 24 Monaten nach der Operation nüchtern Serumproben entnommen. Die Zeitpunkte wurden entsprechend mit V3, V6, V9, V12, V18 und V24 gekennzeichnet (siehe Abbildung 3, linke Spalte). Den Patienten und Patientinnen der *konservativen Therapie* wurden zu Beginn des Abnehmprogramms Serumproben

entnommen. Dies wurde als Zeitpunkt V0 definiert. Im Verlauf des Programms erhielten die Probanden und Probandinnen einmal wöchentlich Beratungsgespräche durch die Ernährungsberatung sowie durch Psychologen und Psychologinnen der Universitätsklinik Gießen. Im Abstand von 3, 6, 9 und 12 Monaten nach dem Programmstart wurden erneut nüchtern Serumproben entnommen. Die Zeitpunkte wurden entsprechend mit V3, V6, V9 und V12 gekennzeichnet (siehe Abbildung 3, rechte Spalte). Parallel zu den Serumentnahmen V0 und V12 erfolgte für beide Therapiegruppen zusätzlich eine klinische Verlaufskontrolle mit Erhebung der Parameter, welche in Tabelle 4 aufgeführt sind.

Tabelle 4:

Erhobene Parameter von Patienten und Patientinnen zum Zeitpunkt V0 und V12 im Rahmen der ROBS-Studie

Nominal	Numerisch
• Geschlecht • Diabetes mellitus Typ 1 • Diabetes mellitus Typ 2 • Hypertonie, Atherosklerose • Adipositas in der Kindheit • Schlafapnoesyndrom • Rauchverhalten • Kontrazeption • Medikation	• Alter (Jahre) • Gewicht (kg) • BMI (kg/m²) • Übergewicht (kg) • Taille-Hüft-Quotient • Taillenumfang (cm) • Hüftumfang (cm) • Körperfettanteil (%) • Fettverlust (kg) • Übergewichtsverlust (%) • Muskelmasse (%) • Kalorienzufuhr pro Tag (kcal/d) • Diabetesleiden (Jahre) • systolischer und diastolischer Blutdruck (mmHg) • Glukose (mg/dl) • C-Peptid (ng/ml) • Insulin (mU/l), HbA_{1c} (%) • HOMA-Index • Insulin/Glukose nach 2h-OGTT • Gutt-Index • LDL (mg/dl) • HDL (mg/dl) • Gesamtcholesterin (mg/dl) • Triglyzeride (mg/dl) • Lp(a) (mg/dl) • Kreatinin (mg/dl) • eGFR (ml/min) • CRP (mg/dl)

Quelle: In Anlehnung an Brock et al., 2019, S. 403-404)

1.5.6 Operative Therapie: Bariatrische Operation

Im Folgenden werden die zwei bariatrischen Operationsverfahren beschrieben, welche in der Patientengruppe *operative Therapie* im Rahmen der *ROBS-Studie* eingesetzt wurden, um eine Gewichtsreduktion der adipösen Patienten und Patientinnen zu induzieren. Der Roux-en-Y-Magenbypass (RYGB) erfolgte bei 121 und die vertikale Sleeve-Gastrektomie (VSG) bei 35 Patienten und Patientinnen. Die Durchführungen der Operationen wurden durch die allgemeinchirurgische Abteilung des Universitätsklinikums Gießen unter Leitung von Herrn Dr. med. Albrecht vorgenommen.

1.5.6.1 Roux-en-Y-Magenbypass (RYGB)

Beim Roux-en-Y-Magenbypass (RYGB) werden die zwei Wirkmechanismen Restriktion und Malabsorption zur Induktion der Gewichtsabnahme genutzt. Darüber hinaus wirken postoperativ auch Stoffwechselveränderungen positiv bei der Gewichtsabnahme mit (Billmann & Keck, 2016). Die Restriktion wird durch operative Anlage eines Magenpouches, welcher ein Fassungsvermögen von nur etwa 20 ml hat, erreicht (Billmann & Keck, 2016; DGAV, 2018). Die Patienten und Patientinnen können aufgrund dessen postoperativ nur noch geringe Mengen an Nahrung zu sich nehmen, was zu einer verringerten Kalorienzufuhr führt. Die Malabsorption wird durch Umgehung des oberen Dünndarms mittels eines Roux-en-Y-Bypasses erreicht (Billmann & Keck, 2016). Hierdurch wird ein Teil der Nährstoffe nicht mehr vollständig aufgespalten und resorbiert, was zu einer reduzierten Kalorienaufnahme durch den Dünndarm führt. Für den Roux-en-Y-Bypass wird das Jejunum etwa 50 cm distal des Treitz-Ligamentums durchtrennt. Mit dem aboralen Teil des Jejunums wird eine End-zu-Seit-Gastrojejunostomie und mit dem oralen Teil des Jejunums eine Seit-zu-Seit-Jejunojejunostomie angelegt (siehe Abbildung 4a). Hierdurch entsteht ein etwa 150 cm langer alimentärer Schenkel, welcher Nahrung vom Magenpouch bis zur gemeinsamen Dünndarmendstrecke transportiert, und ein etwa 50 cm langer biliopankreatischer Schenkel, welcher Verdauungssäfte in den Dünndarm leitet (Billmann & Keck, 2016; DGAV, 2018).

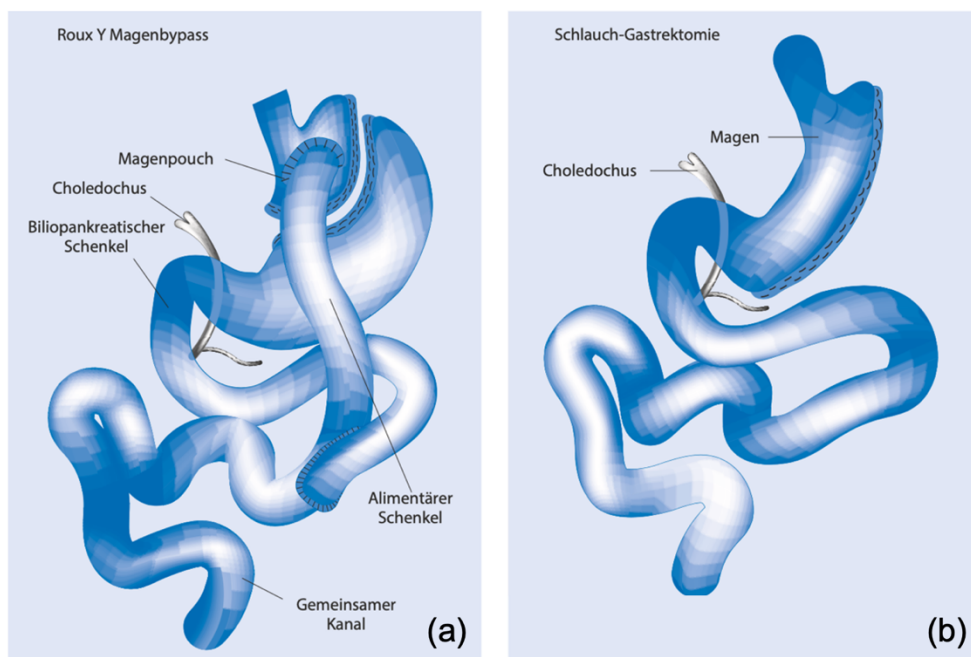
1.5.6.2 Vertikale Sleeve-Gastrektomie (VSG)

Bei der vertikalen Sleeve-Gastrektomie (VSG) wird die Gewichtsabnahme über den Wirkmechanismus der Restriktion erreicht (Billmann & Keck, 2016). Das Fassungsvermögen des Magens wird operativ auf 90 - 100 ml reduziert, sodass die Patienten und Patientinnen postoperativ lediglich geringe Mengen an Nahrung zu sich nehmen können

(Asklepios Klinik Lich, o. D.). Dies führt zu einer verminderten Kalorienzufuhr. Bei der vertikalen Sleeve-Gastrektomie wird operativ ein kleinkurvaturseitiger Magenschlauch gebildet (siehe Abbildung 4b). Die vertikale partielle Gastrektomie erfolgt großkurvaturseitig 4 - 6 cm oralwärts des Pylorus (Billmann & Keck, 2016; DGAV, 2018). Darüber hinaus wirken postoperativ auch Stoffwechselveränderungen positiv bei der Gewichtsabnahme mit (Billmann & Keck, 2016).

Abbildung 4:

Bariatrische Chirurgie: (a) Roux-en-Y-Magenbypass (RYGB); (b) vertikale Sleeve-Gastrektomie (VSG)



Quelle: Billmann & Keck, 2016, S. 166

1.5.7 Konservative Therapie: niedrigkalorische Diät

Patienten und Patientinnen, bei denen im Rahmen der *ROBS-Studie* mittels *konservativer Therapie* eine Gewichtsreduktion erzielt werden sollte, wurden mittels eines speziellen Ernährungsprogramms behandelt. Das Ernährungsprogramm beruhte auf einem festen Schema, gemäß welchem die Mahlzeiten für 3 Monate durch flüssige Formula-Diät ersetzt wurden. Hierdurch konnte die Kalorienzufuhr kontrolliert und eine Kalorienrestriktion herbeigeführt werden, was wiederum zu einer Gewichtsabnahme führen sollte. Darüber hinaus wurden die Patienten und Patientinnen in Kleingruppen betreut und im Rahmen eines wöchentlichen Zusammentreffens durch Ernährungsberater und -beraterinnen sowie Psychologen und Psychologinnen geschult und unterstützt. Begleitend zu allen Phasen des Programms erhielten die Probanden und Probandinnen außerdem

Beratung durch Bewegungstherapeuten und -therapeutinnen zum Erlernen eines aktiveren Alltags.

Zu Beginn des Ernährungsprogramms wurden während einer modifizierten Fastenphase für 12 Wochen alle Mahlzeiten der Probanden und Probandinnen der *konservativen Therapie* durch Flüssignahrung ersetzt. Bei einem Startkörpergewicht von < 150 kg sollten die Patienten und Patientinnen 5 Beutel Flüssignahrung (1 Beutel ca. 180 kcal) pro Tag zu sich nehmen und kamen somit auf eine tägliche Kalorienzufuhr von ca. 900 kcal (L. Sauerbier, persönliche Kommunikation, 18. Mai 2022). Bei einem Startkörpergewicht von > 150 kg sollte zu Beginn ein weiterer Beutel zugeführt werden (ca. 1080 kcal pro Tag) (L. Sauerbier, persönliche Kommunikation, 18. Mai 2022). Im Anschluss folgte eine Umstellungsphase über 8 Wochen, in welcher alle 2 Wochen um einen Beutel Flüssignahrung reduziert und stattdessen jeweils eine Mahlzeit (ausgewogene Mischkost) von ca. 200 kcal eingeführt wurde. Am Ende der 8 Wochen war die Flüssignahrung somit wieder durch ausgewogene Mahlzeiten ersetzt. Ab diesem Zeitpunkt folgte die 31-wöchige Stabilisierungsphase, in welcher individuell durch die Ernährungsberatung eine maximale tägliche Kalorienzufuhr für die Patienten und Patientinnen festgelegt wurde. Diese wurde nicht nur an die Körpergröße der Patienten und den bisherigen Gewichtsverlust, sondern auch an deren Hunger- und Sättigungsgefühl sowie die Leistungsfähigkeit angepasst (L. Sauerbier, persönliche Kommunikation, 18. Mai 2022).

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Wie bereits in Kapitel 1.4 beschrieben, ist die Regulation von CAMP im Kontext der Adipositas weitgehend unklar. Ziel dieser Dissertation ist es, das antimikrobielle Peptid Cathelicidin bei Adipositas näher zu untersuchen und somit Erkenntnisse zu dessen Regulation und Funktion abzuleiten. Hierzu sollen Untersuchungen insbesondere im Rahmen der *ROBS-Studie* durchgeführt werden, da diese mit insgesamt 235 eingeschlossenen adipösen Patienten und Patientinnen eine ungewöhnlich große Stichprobengröße bietet und aufgrund ausführlicher Datenerhebung sehr gut charakterisiert ist. Abgeleitet aus diesen *ex vivo* Untersuchungen sollen außerdem verschiedene metabolische Einflussfaktoren auf die CAMP-Genexpression in 3T3-L1-Adipozyten untersucht werden. Ziel ist es:

1. die basalen CAMP-Genexpressionslevel in den verschiedenen Fettgewebskompartimenten (subkutan und viszeral) der adipösen Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* des *ROBS-Kollektivs* zu bestimmen (siehe Kapitel 3.1.2).

2. zu untersuchen, ob in den verschiedenen Fettgewebsskompartimenten (subkutan und viszeral) der adipösen Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* des *ROBS-Kollektivs* geschlechterspezifische Unterschiede in der CAMP-Genexpression vorliegen (siehe Kapitel 3.1.3 und 3.1.4).
3. CAMP-Serumproteinspiegel in den adipösen Probanden und Probandinnen des *ROBS-Kollektivs* zu bestimmen, da bisher keine systematisch erhobenen Referenzwerte bei adipösen Patienten und Patientinnen vorliegen (siehe Kapitel 3.1.5 und 3.2.2).
4. durch verschiedene Korrelationsanalysen der erhobenen anthropometrischen und biochemischen Parameter sowohl mit den CAMP-Genexpressionsleveln als auch mit den CAMP-Serumproteinspiegeln der Probanden und Probandinnen des *ROBS-Kollektivs* eventuelle Zusammenhänge zu ermitteln (siehe Kapitel 3.1.6, 3.1.7 und 3.2.3).
5. im Rahmen der *ROBS-Studie* die Auswirkungen eines starken Gewichtsverlusts auf die CAMP-Serumproteinspiegel über den Zeitraum von einem Jahr zu ermitteln. Hierbei soll auch untersucht werden, ob die Methode (operativ vs. konservativ), durch die die Gewichtsabnahme erzielt wird, eine Auswirkung auf die CAMP-Serumproteinspiegel hat (siehe Kapitel 3.1.8 und 3.2.4).

Durch diese *ex vivo* und *in vitro* Untersuchungen sollen neue Erkenntnisse zur Regulation und Funktion von CAMP im Kontext der Adipositas und des Gewichtsabnahmeprozesses gewonnen werden. Darüber hinaus sollen Auswirkungen verschiedener metabolischen Einflussfaktoren auf das immunologisch wirksame Adipokin CAMP ermittelt werden. Dies soll die Funktion des Fettgewebes als Schnittstelle von Metabolismus und Immunsystem über die Synthese und Sekretion von CAMP verdeutlichen.

In Folge neuer Erkenntnisse und dem Ableiten neuer Forschungsfragen soll ein besseres Verständnis zur Regulation und Funktion des antimikrobiellen Peptids Cathelicidin gewonnen werden. Dies soll langfristig die Frage klären, ob CAMP als diagnostischer Marker für Entzündungszustände dienen könnte und ob neue medikamentöse Therapien zur Regulation von CAMP im Kontext inflammatorischer Erkrankungen einsetzbar sein könnten.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Geräte

21 HCL Cryogenic Storage	Taylor-Wharton
Beschriftungsgerät P-touch 3600	Brother
CFX Connect™ Real-Time PCR Detection System	Bio Rad
Dewar Transportgefäß Typ B-E für Flüssigstickstoff	KGW Isotherm
EF 103 Ice Flaker	Scotsman®
Epoch™ Microplate Spectrophotometer	BioTek®
Eppendorf Research® plus 0,1 - 2,5 µl	Eppendorf®
Eppendorf Research® plus 0,5 - 10 µl	Eppendorf®
Eppendorf Research® plus 10 - 100 µl	Eppendorf®
Eppendorf Research® plus 100 - 1000 µl	Eppendorf®
Eppendorf Research® plus 2 - 20 µl	Eppendorf®
Eppendorf Research® plus 20 - 200 µl	Eppendorf®
Feinwaage ACJ 220 - 4M	KERN®
Flüssigstickstoff-Vorratsbehälter TP60	Air Liquide
Gefrierschrank	Liebherr
gentleMACS™ Dissociator	Miltenyi Biotec
HERAcell® 150i CO ₂ Incubator, 37°C, 5 % CO ₂	Thermo Scientific™
HERAfreeze™ HFU T Series (-86°C Ultratiefkühlschrank)	Thermo Scientific™
Kühl- / Gefrierkombination	Bosch
Laboport® Mini Vacuum Pump	KNF
LLG® uni-CFUGE 2	LLG Labware
Mikroskop DM IL LED	Leica
Mikroskopkamera Leica MC120 HD	Leica
Mikroskopkamera MC 120 HD	Leica
MSC Advantage™ biologische Sicherheitswerkbank	Thermo Scientific™

Multipette® plus	Eppendorf®
Multipette® stream	Eppendorf®
Pipettierhelfer accu-jet® pro	Brand®
Reaktionsgefäßständer 1,5 ml	Brand
Reinstwassersystem Barnstead™ GenPure™ xCAD Plus	Thermo Scientific™
Rotilabo®-Alu.Rack 1,5	Roth
Rotilabo®-Alu.Rack 2	Roth
T100™ Thermal Cycler	Bio Rad
Take 3™ Micro-Volume Plate	BioTek®
Thermomixer MKR 13	Ditabis
Tischautoklav DX-65	Systec
Vortex Mixer VTX-3000 L Mixer Uzusio	LMS®
Wasserbad	Memmert
Zählkammer, Neubauer Improved, 0,1 mm Tiefe	LO Labor Optik
Zentrifuge Mikro 120	Hettich
Zentrifuge Mikro 200 R	Hettich
Zentrifuge Rotina 380 R	Hettich

2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Aspirations-Pipette 2 ml	Sarstedt
Biosphere® Filter Tips 1250 µl extra long	Sarstedt
Biosphere® SafeSeal Tube 1,5 ml (RNase free)	Sarstedt
Biosphere® SafeSeal Tubes 1,5 ml (RNase free)	Sarstedt
Brozell (Wischtücher)	Brod
CELLSTAR® Polypropylen Röhrchen (15 ml, 50 ml)	greiner bio-one
CELLSTAR® Serologische Pipetten (5 ml, 10 ml, 25 ml)	greiner bio-one
Combitips advanced® 0,5 ml	Eppendorf®
CryoPure Tube 1,6 ml white	Sarstedt
Feather Disposable Scalpel	Feather
Filter Tip PP premium surface (10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl)	nerbe plus Germany
Freka®-NOL AF	Dr. Schumacher
gentleMACS™ M Tubes	Miltenyi Biotec

Hard-Shell® 96-Well PCR Plates	Bio Rad
Injekt® 10 ml Einmalspritzen	B.Braun
Kimtech Science Präzisionstücher	Kimberly-Clark
Magic Touch™ Icewears Insulated Ice Pan	Bel-Art
Micro-Touch®Nitra-Tex®	Ansell
Microlon® 96-Well Mikrotiterplatte, half area	greiner bio-one
Microseal® 'B' Adhesive Seals	Bio Rad
Mikroröhre 1,5 ml PCR-PT	Sarstedt
Minisart® Spritzenvorsatzfilter	Sartorius Stedim Biotech
Multiply®-Pro 0,2 ml Biosphere® (RNase free)	Sarstedt
PCR Storage Rack	Biozym®
QIAshredder	Qiagen
S-Monovette®	Sarstedt
Schriftbandkassette P-touch TZe-231	Brother
TC Flasche, T75 (75 cm ²)	Sarstedt
Vielzwecketiketten / Farbpunkte	Herma
Zellkulturplatte, 6 Vertiefungen	Falcon®
Zellschaber 16 cm	Sarstedt

2.1.3 Chemikalien

apo-Transferrin	Sigma-Aldrich®
Arachidonsäure	Sigma-Aldrich®
Ascorbat	Sigma-Aldrich®
Biotin	Sigma-Aldrich®
Bovines Serumalbumin (BSA)	Lonza
Buffer RLT (Lysepuffer)	Qiagen
Cholsäure (CA) ≥ 98 %	Sigma-Aldrich®
Corticosteron ≥ 92%	Sigma-Aldrich®
Desoxycholsäure (DCA)	Sigma-Aldrich®
Dimethylsulfoxide (DMSO)	Sigma-Aldrich®
Östradiol	Sigma-Aldrich®
Ethanol 70%, vergällt	Liquid Production GmbH

Ethanol absolut, unvergällt	Chemsolute®
Fetal Calf Serum (FCS)	Sigma-Aldrich®
Fetuin	MP Biomedicals™
Flüssigstickstoff	Linde
IBMX (3-Isobutyl-1-methylxanthin)	Serva
Inkretine: GLP-1	Biomol
Insulin	Sigma-Aldrich®
iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix	Bio Rad
2-Mercaptoethanol	Sigma-Aldrich®
Newborn Calf Serum (NCS alt)	Sigma-Aldrich®
Newborn Calf Serum (NCS neu)	Capricorn Scientific
Nuklease-freies Wasser	Qiagen
Penicillin-Streptomycin (P/S)	PAN™ Biotech
α-Taumuricholsäure (TMCA)	Cayman Chemical
Taurodeoxycholsäure (TDCA)	Santa Cruz Biotechnology
Taurohyodeoxycholsäure (THDCA)	Sigma-Aldrich®
Testosteron	Sigma-Aldrich®
Trichlormethan / Chloroform Rotipuran®	Roth
TRIzol® Reagent	Ambion®
Trypan Blue Solution 0,4%	Sigma-Aldrich®
Trypsin / EDTA 0,05 % / 0,02 % in PBS w/o Ca, Mg	PAN™ BioTech
Trypsin/EDTA (T3924)	Gibco
Trypsin Inhibitor (T6414)	Gibco

2.1.4 Kit-Systeme

ELISA Kit Human LL-37	Hycult®Biotech
LDH Cytotoxicity Detection Kit	Roche
QuantiTect® Reverse Transcription Kit	Qiagen
RNase-Free DNase Set	Qiagen
RNeasy® Mini Kit	Qiagen

2.1.5 Puffer und Lösungen

LDH-Reaktionsmix:

Katalysator Diphorase / NAD⁺ (zuvor Zugabe von 1 ml destilliertem Wasser) und Farbstoff Iodnitrotetrazoliumchlorid (INT), Verhältnis 1:45

RT-Master Mix:

4 µl RT Puffer
1 µl RT Primer Mix
1 µl Reverse Transkriptase

Primer-Mix für die qPCR:

20 µl forward Primer
20 µl reverse Primer
360 µl Nuklease-freies Wasser

qPCR-Mastermix:

1 µl Primer-Mix
5 µl *iTaq Universal SYBR® Green Supermix*

ELISA Waschpuffer / Verdünnungspuffer (W/V Puffer):

20x konzentrierter W/V Puffer A und destilliertes Wasser, Verhältnis 1:10
40x konzentrierter W/V Puffer B und destilliertes Wasser, Verhältnis 1:20

ELISA Standard:

Es wurden 250 µl W/V Puffer in 7 Falcons vorgelegt. Als höchstkonzentrierter Standard wurde als Tube 1 der mitgelieferte Standard unverdünnt verwendet. Aus diesem wurden 125 µl in Tube 2 pipettiert und gut gemischt. Nach diesem Prinzip wurden 125 µl aus der jeweils höher konzentrierten Lösung zum Puffer im nachfolgenden Tube hinzugefügt, entsprechend wurde bis Tube 7 weiterverfahen. Tube 8 wurde als Negativkontrolle mit ausschließlich W/V Puffer verwendet. Hierdurch wurde eine Verdünnungsreihe erstellt.

ELISA Tracer:

Tracer und destilliertes Wasser, Verhältnis 1:12

ELISA Streptavidin-Peroxidase Lösung:

100x konzentrierte Streptavidin-Peroxidase Lösung und destilliertes Wasser,
Verhältnis 1:100

2.1.6 Humane Fettgewebs- und Serumproben aus dem ROBS-Kollektiv

2.1.6.1 Humane Fettgewebsproben

Den zur *ROBS-Studie* zugelassenen Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* wurden während der bariatrischen Operation durch die chirurgischen Kollegen des Universitätsklinikums Gießen unter sterilen Bedingungen subkutanes (abdominales) und viszerale (intraabdominales) Fettgewebe entnommen. Die Proben wurden unverzüglich nach der Entnahme zunächst in flüssigem Stickstoff und im Verlauf bei - 80°C gelagert.

2.1.6.2 Humane Serumproben

Im Rahmen der *ROBS-Studie* wurden den Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* unmittelbar vor der Operation nüchtern Serumproben entnommen. Dies stellte Zeitpunkt V0 dar. Es folgte 2 - 4 Tage postoperativ die Serumentnahme V1. Anschließend wurden den Patienten und Patientinnen im Abstand von 3, 6, 9, 12, 18 und 24 Monaten nach der Operation nüchtern Serumproben entnommen. Die Zeitpunkte wurden entsprechend mit V3, V6, V9, V12, V18 und V24 gekennzeichnet

Den Patienten und Patientinnen der *konservativen Therapie* wurden zu Beginn des Diätprogramms nüchtern Serumproben entnommen. Dies wurde als Zeitpunkt V0 definiert. Im Abstand von 3, 6, 9 und 12 Monaten nach dem Programmstart wurden erneut nüchtern Serumproben entnommen. Die Zeitpunkte wurden entsprechend mit V3, V6, V9 und V12 gekennzeichnet

2.1.7 Zelllinien

Murine 3T3-L1-Fibroblasten

ATCC®

2.1.8 Zellkulturmedien der murinen Zelllinie 3T3-L1

Medium:	Zusätze:
Anzuchtmedium Dulbecco's MEM FG 0435 (Hersteller: Biochrom GmbH) w 3,7 g/l NaHCO ³ w 4,5 g/l D-Glukose w stable glutamine w/o Na-Pyruvate low endotoxin	+ 10 % NCS + 1 % P/S
Differenzierungsmedium I BioWhittaker® DMEM / F-12 BE12-719F (Hersteller: Lonza) with Glutamine and 15mM Hepes	+ 10% FCS + 2 µg/ml apo-Transferrin + 1 µM Biotin + 300 µg/ml Fetuin + 17 µM Pantothersäure + 100 nM Insulin (frisch zugesetzt) + 200 µM Ascorbat (frisch zugesetzt) + 1 µM Corticosteron (frisch zugesetzt) + 20 µM IBMX (frisch zugesetzt)
Differenzierungsmedium II BioWhittaker® DMEM / F-12 BE12-719F (Hersteller: Lonza) with Glutamine and 15mM Hepes	+ 1 µM Insulin (frisch zugesetzt)
serumfreies Medium BioWhittaker® DMEM / F-12 BE12-719F (Hersteller: Lonza) with Glutamine and 15mM Hepes	-

Niedrig-Glukose Medium Dulbecco's MEM FG 0415 (Hersteller: Biochrom GmbH) w 3,7 g/l NaHCO ³ w 1,0 g/l D-Glukose w stable glutamine low endotoxin	-
Hoch-Glukose Medium Dulbecco's MEM FG 0435 (Hersteller: Biochrom GmbH) w 3,7 g/l NaHCO ³ w 4,5 g/l D-Glukose w stable glutamine w/o Na-Pyruvate low endotoxin	-

2.1.9 Murine und humane Oligonukleotide

Alle verwendeten murinen und humanen Oligonukleotide wurden von der Firma Metabion bezogen.

2.1.9.1 Murine Oligonukleotide

Oligonukleotid	Sequenz
mCAMP	for. 5' CCC AAG TCT GTG AGG TTC CG 3' rev. 5' GTG CAC CAG GCT CGT TAC A 3'
mGAPDH	for. 5' TGT CCG TCG TGG ATC TGA C 3' rev. 5' AGG GAG ATG CTC AGT GTT GG '3

2.1.9.2 Humane Oligonukleotide

Oligonukleotid	Sequenz
hCAMP	for. 5' TAG ATG GCA TCA ACC AGC GG 3' rev. 5' CTG GGT CCC CAT CCA TCG T 3'

hGAPDH for. 5' GAG TCC ACT GGC GTC TTC AC 3'
 rev. 5' CCA GGG GTG CTA AGC AGT T 3'

2.2 Methoden

2.2.1 Zellkultur der murinen Zelllinie 3T3-L1

Alle im Folgenden beschriebene Zellkulturversuche wurden unter sterilen Bedingungen durchgeführt, um eine Kontamination der Zellen zu verhindern.

2.2.1.1 Auftauen muriner 3T3-L1-Fibroblasten

In einem Kryoröhrchen waren ca. $2,25 \cdot 10^5$ Fibroblasten, entsprechend für eine 75 cm² Zellkulturflasche, enthalten. Dieses wurde bis zur Weiterverarbeitung in Flüssigstickstoff gelagert. Zum Auftauen wurde das Kryoröhrchen im Wasserbad bei 37°C zügig erwärmt und die Zellen in 5 ml zuvor angewärmtem Anzuchtmedium (siehe Kapitel 2.1.8) aufgenommen. Um das DMSO auszuwaschen, wurde die Suspension bei 1200 rpm für 5 min abzentrifugiert, sodass ein Zellpellet entstand. Der Überstand wurde abgesaugt und das Pellet anschließend in 10 ml Anzuchtmedium resuspendiert, bevor alles in eine neue Zellkulturflasche gegeben und bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert wurde. Bei Erreichen einer Konfluenz von 70 - 80% wurden die Fibroblasten gesplittet.

2.2.1.2 Aussäen muriner 3T3-L1-Fibroblasten

In einem ersten Schritt wurde, unter Schonung der am Boden angewachsenen Fibroblasten, das Medium aus der Zellkulturflasche entfernt. Um die Zellen vom Flaschenboden abzulösen, wurden 3 ml Trypsin/EDTA in die Flasche gegeben und diese für 10 min bei 37°C inkubiert. Das erfolgreiche Ablösen der Fibroblasten wurde mikroskopisch überprüft. Das Trypsin/EDTA wurde hiernach mittels Zugabe von 7 ml Anzuchtmedium inaktiviert. Der Inhalt der Flasche wurde nun in ein Zentrifugenröhrchen überführt und für 5 min bei 1200 rpm abzentrifugiert, sodass sich ein Zellpellet bilden konnte. Nach Absaugen des Überstandes wurde dieses in neuen 5 ml Anzuchtmedium resuspendiert und im Verhältnis 1:1 mit Trypan-Blau in die Neubauer-Zählkammer gegeben. Durch

Auszählen der Fibroblasten wurde bestimmt welches Volumen an Zellsuspension benötigt wurde, um eine optimale Zellzahl von ca. $1,14 \cdot 10^4$ Fibroblasten pro Well auf einer 6-Well Zellkulturplatte auszusäen. Die Differenz zu 1 ml pro Well wurde mit Anzuchtmedium aufgefüllt und die Platte wurde anschließend bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert.

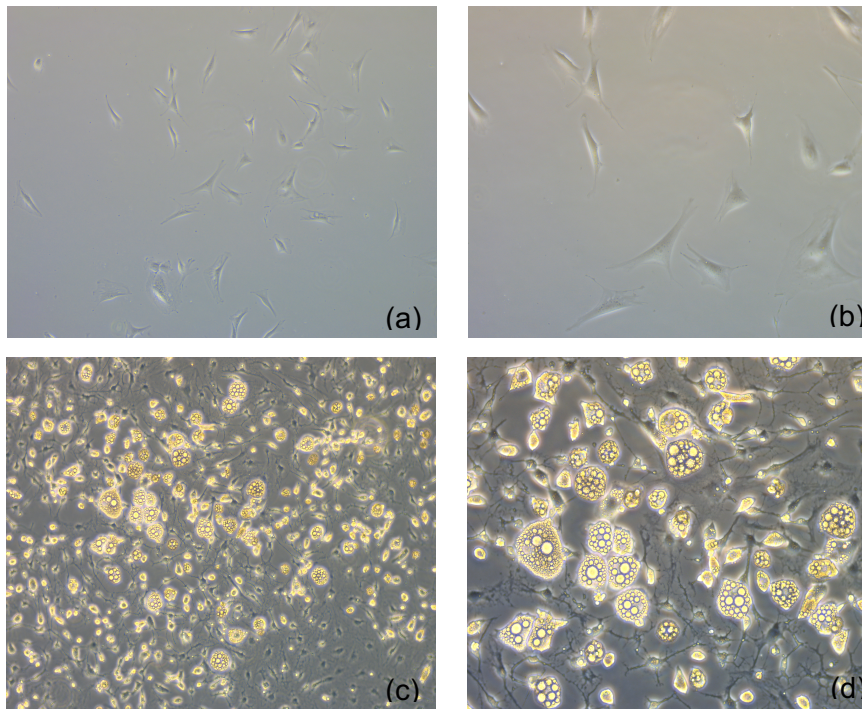
2.2.1.3 Splitten muriner 3T3-L1-Fibroblasten

Im Anschluss an das Aussäen wurden zum Splitten der Zellen Fibroblasten aus der Zellsuspension und 10 ml frisches Anzuchtmedium in eine neue 75 cm² Zellkulturflaschen aufgenommen. Die Inkubation erfolgte auch hier bei 37°C und 5% CO₂.

2.2.1.4 Differenzierung muriner 3T3-L1-Fibroblasten zu reifen Adipozyten

An Tag 0 der Differenzierung wurde in den Zellkulturplatten, durch einen Austausch des Anzuchtmediums gegen 0,5 ml Differenzierungsmedium I (siehe Kapitel 2.1.8) pro Well, die Differenzierung der Fibroblasten gestartet. Die Zellen wurden an Tag 3 und 6 durch einen Mediumwechsel mit frischen 0,5 ml Differenzierungsmedium I pro Well versorgt. An Tag 7 wurden die Zellen für 24 h mit 0,5 ml Differenzierungsmedium II (siehe Kapitel 2.1.8) pro Well behandelt. In einem letzten Schritt wurden die Adipozyten an Tag 8 mit 0,5 ml serumfreiem Medium (siehe Kapitel 2.1.8) pro Well versetzt, worauf nach 4 h die Stimulation (siehe Kapitel 2.2.1.5) der nun reifen Adipozyten folgte. Die Zellkulturplatten wurden nach jedem Mediumwechsel weiterhin bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert. Abbildung 5 zeigt mikroskopische Aufnahmen der Differenzierung muriner 3T3-L1-Fibroblasten zu reifen Adipozyten.

Abbildung 5:
Differenzierung muriner 3T3-L1-Fibroblasten zu reifen Adipozyten



Anmerkung: (a) Tag 0 der Differenzierung, Vergrößerung: 100x; (b) Tag 0 der Differenzierung, Vergrößerung: 200x; (c) Tag 9 der Differenzierung, Vergrößerung: 100x; (d) Tag 9 der Differenzierung, Vergrößerung: 200x

Quelle: Eigene Darstellung

2.2.1.5 Stimulation muriner 3T3-L1-Adipozyten

Für Stimulationsversuche wurden ausschließlich Zellkulturplatten verwendet, welche, mikroskopisch nachgewiesen, ausreichend differenzierte Adipozyten ohne Hinweise auf zytotoxische Effekte aufwiesen. An Tag 9 wurden die gewählten Stimulanzien in 0,5 ml serumfreiem Medium aufgenommen und die Adipozyten für 18 h bei 37°C und 5% CO₂ deren Einfluss ausgesetzt. Anschließend folgten der Laktatdehydrogenase-Test im Zellüberstand (siehe Kapitel 2.2.4) und die Zellernte der stimulierten 3T3-L1-Adipozyten (siehe Kapitel 2.2.2). Für die Stimulationsversuche wurden Adipozyten bis einschließlich Passage 8 verwendet.

2.2.2 Zellernte und RNA-Isolierung muriner 3T3-L1-Adipozyten

Die Zellernte und RNA-Isolierung der murinen Zelllinie 3T3-L1 erfolgte mit dem *RNeasy® Mini Kit* von Qiagen und wurde entsprechend der Herstellerangaben durchgeführt. Um die reifen und stimulierten Adipozyten zu ernten, wurden die Zellkulturplatten während der Präparation auf Eis gelagert. Der Zellüberstand der einzelnen Wells wurde

in 1,5 ml - Eppendorfgefäße überführt und bei 4000 rpm für 5 min abzentrifugiert. Das dabei entstandene Zellpellet wurde im Eppendorfgefäß belassen und der Überstand wurde in frische Eppendorfgefäße pipettiert, mit welchem anschließend der LDH-Test durchgeführt wurde (siehe Kapitel 2.2.4). In die einzelnen Wells der Zellkulturplatte wurden 350 µl RLT Puffer (versetzt mit β -Mercaptoethanol im Verhältnis 1:100) zugegeben. Anschließend wurden die am Boden der Platte anhaftenden Adipozyten mit einem Zellschaber abgelöst. Diese Puffer-Zell-Suspension wurde in QIAshredder-Gefäße überführt und für 2 min bei 4°C und 13.000 rpm abzentrifugiert. Der dabei entstandene Durchfluss wurde mit 350 µl 70% Ethanol gemischt und auf RNeasy Spin Columns pipettiert, welche zuvor auf ein Collection Tube gesetzt wurden. Nach Zentrifugation für 15 sec. bei 4°C und 10.000 rpm wurde der dabei entstandene Durchfluss verworfen. In das RNeasy Spin Column wurden 700 µl des RW1 Puffers und anschließend 500 µl des RPE Puffers gegeben und erneut jeweils 15 sec. bei 10.000 rpm zentrifugiert. Nach einer letzten Zugabe von 500 µl RPE Puffer wurde für 2 min bei 10.000 rpm zentrifugiert und das RNeasy Spin Column danach in ein frisches Collection Tube gesetzt. Dieser Schritt wurde genutzt, um ein Trockenzentrifugieren für 1 min bei 14.000 rpm durchzuführen. Das RNeasy Spin Column wurde nun in ein RNase-freies Eppendorfgefäß gesetzt und die Ribonukleinsäure (RNA) mit 30 - 40 µl RNase-freiem Wasser eluiert. Nach einer Zentrifugation von 1 min bei 10.000 rpm wurde der Durchfluss, welcher bereits die isolierte RNA enthielt, zur weiteren RNA-Anreicherung erneut auf das Spin Column gegeben. Anschließend folgte ein letzter Zentrifugationsschritt für 1 min bei 10.000 rpm, wonach das RNeasy Spin Column entfernt wurde und die im Eppendorfgefäß befindliche, neu isolierte RNA bei - 80°C gelagert wurde.

2.2.3 RNA-Isolierung aus humanem Fettgewebe

Die gentleMACS™ M Tubes wurden je mit 1 ml Trizol befüllt, in welches 90 - 100 mg von subkutanem und 70 - 80 mg von viszeralem Fettgewebe des *ROBS-Kollektivs* zugegeben wurden. Im gentleMACS™ M Dissociator wurde das Gemisch für 80 sec. zer-setzt und anschließend für 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation wurden die M-Tubes für 10 min bei 4°C und 2000 rpm zentrifugiert. Die fettfreie Phase der Suspension wurde in frische RNase freie Eppendorfgefäße überführt und mit 200 µl Chloroform gut vermischt. Nach 3-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Eppendorfgefäße für 15 min bei 4°C und 11.200 rpm zentrifugiert. Hierbei entstand eine klare Phase, welche 1:1 mit 70% Ethanol in neue RNase freie Eppendorfgefäße pipettiert wurde. Die Suspension wurde dann auf RNeasy Spin Columns überführt.

Das weitere Vorgehen entspricht den Schritten der RNA-Isolierung muriner 3T3-Adipozyten (siehe Kapitel 2.2.2) mittels *RNeasy® Mini Kit* von Qiagen.

2.2.4 Laktatdehydrogenase-Test (LDH)

Die Laktatdehydrogenase (LDH) ist ein Enzym, welches in Zellen, unter Reduktion von NAD^+ zu NADH/H^+ , Laktat zu Pyruvat oxidiert. Durch Zelluntergang und damit einhergehender gestörter Zellmembranintegrität wird die LDH in den Extrazellularraum freigesetzt. Dieser Umstand wird beim LDH-Test genutzt, um zu untersuchen, ob Substanzen, die in der Zellkultur verwendet wurden, einen zytotoxischen Effekt auf die Zellen hatten und somit Ergebnisse verfälschen können. Hierfür folgt im Anschluss an diese erste eine weitere Redoxreaktion, welche durch den Katalysator Diphorase den gelben Farbstoff Iodonitrotetrazoliumchlorid (INT), unter Oxidation des zuvor entstandenen NADH/H^+ zu NAD^+ , zum roten Formazan reduziert. Für die Durchführung des LDH-Tests wurde das *LDH Cytotoxicity Detection Kit* von Roche verwendet und entsprechend den Herstellerangaben durchgeführt. Hierzu wurden in einer Mikrotiterplatte pro Well je 25 μl des zu untersuchenden Zellkulturüberstandes und 25 μl des im Versuch verwendeten Zellkulturmediums mit 50 μl des LDH-Reaktionsmixes (siehe Kapitel 2.1.5) versetzt. Als Negativkontrolle wurden 50 μl Zellkulturmedium verwendet, zu welchen ebenfalls 50 μl des LDH-Reaktionsmixes zugegeben wurden. Nach einer Inkubation von 30 min bei Raumtemperatur im Dunkeln wurde die Absorption kolorimetrisch bei einer Wellenlänge 490 nm im Spektralphotometer gemessen. Da das entstandene Formazan und somit die Rotfärbung der Proben direkt proportional zur Aktivität der freigesetzten LDH ist, erlaubt der LDH-Test einen Rückschluss auf die Menge destruierten Zellen. Durch Vergleich mit der Negativkontrolle konnte somit die Vitalität der Zellen sichergestellt werden, indem nur experimentelle Ansätze ausgewertet wurden, die keine signifikante Abweichung in der Absorption gegenüber unbehandelten Zellen (Kontrolle) zeigten.

2.2.5 Konzentrations- und Reinheitsbestimmung der RNA

Mittels Spektralphotometrie wurde aus 2 μl Probe die optische Dichte (OD) bei einer Wellenlänge von 260 nm ermittelt und im Verhältnis zu jener von 2 μl Nuklease-freiem Wasser gesetzt. Die Konzentrationsbestimmung der isolierten RNA erfolgte anschließend auf Grundlage des Lambert-Beerschen-Gesetzes durch folgende Formel:

$$C_{\text{RNA}} = \text{OD}_{260} \cdot V \cdot \epsilon_{\text{RNA}}$$

C_{RNA}	Konzentration der RNA [$\mu\text{g/ml}$]
OD_{260}	optische Dichte bei $\lambda = 260 \text{ nm}$
V	Verdünnungsfaktor = 1
ϵ_{RNA}	Extinktionskoeffizient für RNA = $40 \mu\text{g/ml}$

Zusätzlich musste eine Verunreinigung der Proben mit Proteinen ausgeschlossen werden. Hierfür wurde ebenfalls die OD bei einer Wellenlänge von 280 nm bestimmt. Da Nukleinsäuren ihr Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 260 nm haben, während Proteine dieses bei 280 nm aufweisen, konnte der Quotient aus OD_{260} und OD_{280} zur Reinheitsbestimmung herangezogen werden. Es wurden nur solche Proben verwendet, die einen Quotienten von über 1,9 aufwiesen und somit weitestgehend frei von Proteinkontamination waren.

2.2.6 Reverse Transkription (RT)

Die Reverse Transkription (RT) ist ein Verfahren, um messenger RNA (mRNA) in komplementäre Desoxyribonukleinsäure (cDNA) umzuschreiben. Hierfür wurde das *Quantitect® Reverse Transcription Kit* von Qiagen verwendet und entsprechend dem Herstellerprotokoll durchgeführt. Alle zu messenden Ansätze wurden zuvor auf einen einheitlichen RNA-Gehalt (200 ng bis maximal 1000 ng abhängig von den RNA-Konzentrationen in den jeweiligen Proben) gebracht, um einen Vergleich zu erlauben. Hierzu wurde die im vorherigen Schritt gemessene RNA-Konzentration der jeweiligen Ansätze verwendet. Die entsprechenden RNA Mengen wurden mit Nuklease-freiem Wasser auf 12 μl aufgefüllt. Da die Proben mit genomischer DNA (gDNA) verunreinigt sein könnten, wird diese mittels Zugabe von 2 μl gDNA Wipeout Puffer und darauffolgender 5-minütiger Inkubation bei 42°C degradiert. Danach wurden zu den Ansätzen je 6 μl des RT-Master Mix (siehe Kapitel 2.1.5) ergänzt und diese 30 min bei 42°C inkubiert. In einem letzten Schritt wurde die Temperatur für 3 min auf 95°C angehoben, um die RNA der entstandenen RNA-DNA-Hybridstränge zu degradieren und die Reverse Transkriptase zu inaktivieren. Zusätzlich wurden bei jeder RT eine Positivkontrolle mit 1000 ng mRNA und eine Negativkontrolle ohne Reverse Transkriptase mitgeführt. Bis zur Weiterverwendung wurden die neu entstandenen 20 μl cDNA bei - 20°C gelagert.

2.2.7 Real-time quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR)

Die quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) ist ein Verfahren, um die Amplifikation einer DNA-Sequenz (Template) in Echtzeit zu verfolgen. In eine 96-Well PCR-Platte wurden pro Well 4 µl der zuvor ggf. verdünnten cDNA und 6 µl des qPCR-Mastermixes (siehe Kapitel 2.1.5) pipettiert. Die einzelnen Proben wurden hierfür in Triplikaten aufgetragen. Anschließend wurde die Platte mit einer Schutzfolie vor Kontamination geschützt und bei 2000 rpm für 1 min zentrifugiert. Amplifiziert wurden die Proben im *CFX Connect™ Real-Time PCR Detection System* von Bio Rad. Ein Amplifikationszyklus besteht hierbei aus der Denaturierung, dem Annealing und der Elongation. Während der Denaturierung bei 95°C wurde die doppelsträngige DNA in Einzelstränge aufgetrennt. Folgend hybridisierten beim Annealing zwei verschiedene Primer an die jeweiligen DNA-Einzelstränge. Dies erfolgte bei einer Primer-spezifischen Temperatur, welche im Fall von CAMP 60°C und für GAPDH 58,9°C betrug. Letztlich wurde während einer Elongation bei 72°C das Template komplementär durch die DNA-Polymerase zum Doppelstrang ergänzt. Bei der Bestimmung der Genexpression von CAMP wurden 45 dieser Temperatur-Zyklen und bei der von GAPDH 30 Zyklen durchlaufen. Um in Echtzeit die Menge an amplifizierter DNA registrieren zu können wurde ein spezieller Fluoreszenzfarbstoff, das *SYBR® Green*, genutzt. Dieser gibt bei unspezifischer Bindung an doppelsträngige DNA ein Fluoreszenzsignal ab, welches proportional zur Menge der amplifizierten DNA ist. Um auf die relative Menge an cDNA zurückzuschließen, welche zu Beginn der Reaktion eingesetzt wurde, wurde der C_T -Wert bestimmt. Dieser liegt in der exponentiellen Phase der Amplifikation und gibt den Zyklus an, in welchem der Anstieg des Fluoreszenzsignals erstmals das Hintergrundsignal (Hintergrundrauschen) überschreitet. Je kleiner der C_T -Wert, desto mehr Template war initial in der Probe enthalten. Zur Normalisierung wurde als gleichmäßig exprimiertes *housekeeping gene* GAPDH verwendet. Somit wurde ein quantitativer Vergleich der Genexpression verschiedener Proben möglich. Da das *SYBR® Green* unspezifisch an doppelsträngige DNA bindet, wurde mittels Erstellung einer Schmelzkurve im Anschluss an die durchlaufenen Zyklen ausgeschlossen, dass relevante Mengen an Nebenprodukten während der Amplifikationszyklen entstanden sind. Hierfür wurde die Temperatur schrittweise von 60°C bis 95°C um 0,1°C / sec. angehoben. Nach jedem Temperaturanstieg um 0,5°C wurde das Fluoreszenzsignal gemessen und ermittelt, wie viel DNA noch doppelsträngig vorlag. Jedes Produkt hat hierbei, aufgrund des individuellen G-C-Anteils eine spezifische Schmelztemperatur T_M , bei der bereits 50% der doppelsträngigen DNA denaturiert ist und das Fluoreszenzsignal dementsprechend stark abfällt. Für das doppelsträngige Amplifikationsprodukt der CAMP-PCR lag die Schmelztemperatur T_M bei etwa 86°C. Durch

Erstellung der Schmelzkurve konnte somit die Spezifität der Amplifikation überprüft werden, indem zwischen eigentlichem Produkt und eventuell entstandenen Nebenprodukten unterschieden werden konnte.

2.2.8 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

2.2.8.1 Prinzip des ELISA

Zur quantitativen Bestimmung systemischer Proteinlevel von Cathelicidin im *ROBS-Kollektiv* wurde das *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kit humanes LL-37* von Hycult®Biotech genutzt und entsprechend des Herstellerprotokolls durchgeführt. Der ELISA ist ein Verfahren, welches sich die Bindung von Antikörpern an Antigene zu Nutze macht, um darüber Proteinlevel zu bestimmen. Das verwendete Kit funktioniert nach dem Prinzip eines Sandwich-ELISA. Die mitgelieferte Mikrotiterplatte ist mit einem Antikörper vorbehandelt, welcher am Boden der Platte adsorbiert ist. Bei Zugabe des Analysats bindet das zu bestimmende Antigen LL-37 an diesen primären Antikörper. Anschließend wird ein zweiter Antikörper, der Detektionsantikörper, hinzugegeben, welcher ebenfalls an das Antigen haftet. An diesen kann nun die Streptavidin-Peroxidase binden, welches ein Enzym ist, dass bei Zugabe eines entsprechenden Substrats zu einer Farbreaktion führt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure gestoppt. Die Konzentration des umgesetzten Substrats und damit die Farbintensität ist direkt proportional zur Menge des Proteins LL-37 im Analysat, welches vom primären Antikörper an der Platte gebunden wurde und kann photometrisch gemessen werden.

2.2.8.2 Durchführung des ELISA

Zu Beginn wurden jeweils 100 µl der Standardproben inklusive Negativkontrolle (siehe Kapitel 2.1.5) und der entsprechenden Serumproben des *ROBS-Kollektivs* auf die vom Hersteller mitgelieferte, bereits mit dem primären spezifischen Antikörper gegen humanes LL-37 beschichtete Mikrotiterplatte in Duplikaten aufgetragen. Die Standard- und Serumproben wurden zuvor im Verhältnis 1:20 mit Wasch-/Verdünnungs-(W/V)-Puffer verdünnt. Anschließend folgten, nach einer einstündigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur, vier Waschschriffe, um ungebundene Antigene des Serums von der Mikrotiterplatte zu entfernen. Dabei wurden nach Entfernung der Proben von der Mikrotiterplatte je 200 µl W/V-Puffer (siehe Kapitel 2.1.5) pro Well zugegeben. Nach einer Einwirkzeit von 20 sec. wurde die Platte entleert und der Waschschriff wurde weitere drei Male

durchgeführt. Im Anschluss wurden 100 µl des Tracers (siehe Kapitel 2.1.5) in jedes Well pipettiert. Nach einstündiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Mikrotiterplatte erneut viermal, wie bereits beschrieben, gewaschen. Es schloss sich die Zugabe von je 100 µl Streptavidin-Peroxidase Lösung (siehe Kapitel 2.1.5) pro Well an, wonach die Platte für 1 h bei Raumtemperatur inkubiert wurde. Nach vier weiteren Waschschritten wurden anschließend 100 µl TMB Substrat in jedes Well pipettiert. Die Mikrotiterplatte wurde nun für 30 min und unter fortgesetzter Kontrolle der Farbreaktion lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubiert. Bei hinreichender Färbung wurde die Reaktion mit 100 µl Stopp-Lösung abgestoppt und die Absorption bei einer Wellenlänge von 450 nm im Spektralphotometer ausgelesen, um anhand der Standard-Verdünnungsreihe eine Quantifizierung der Proteinkonzentration in den Proben zu ermöglichen.

2.2.9 Statistische Auswertung

Die Auswertung sowie graphische Darstellung der experimentellen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 22. Nicht-parametrische Mittelwertvergleiche nicht normalverteilter Variablen wie der CAMP-Konzentration / -Expression zwischen unabhängigen Stichproben wurden unter Anwendung des Mann-Whitney U-Tests (bei zwei unabhängigen Stichproben) bzw. Kruskal-Wallis Tests (bei mehr als zwei unabhängigen Stichproben) durchgeführt. Nicht-parametrische Mittelwertvergleiche nicht normalverteilter Variablen zwischen abhängigen Stichproben wurden unter Anwendung des Wilcoxon-Tests (bei zwei abhängigen Stichproben) bzw. des Friedman-Tests (bei mehr als zwei abhängigen Stichproben) durchgeführt. Bei Korrelationsanalysen zweier Variablen wurde der nicht-parametrische Spearman-rho Test angewendet. Ergebnisse mit einem $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant erachtet.

3 Ergebnisse

Die folgenden Daten, die im Rahmen dieser Promotionsarbeit erhoben wurden, konnten bereits 2021 im Rahmen der Publikation „Serum Levels and Adipose Tissue Gene Expression of Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) in Obesity and During Weight Loss“ im Journal *Hormone and Metabolic Research* veröffentlicht werden.

3.1 Ergebnisse aus der ROBS-Studie: operative Therapie (ex vivo)

In Kapitel 3.1 werden die Ergebnisse der 156 Patienten und Patientinnen aus der *ROBS-Studie*, welche mittels bariatrischer Operation behandelt wurden, aufgeführt. Im Weiteren wird nur noch auf „Patienten und Patientinnen“ verwiesen.

3.1.1 Studiencharakteristika des ROBS-Kollektivs: operative Therapie

In Tabelle 5 werden die Studiencharakteristika der 156 Patienten und Patientinnen aufgeführt.

Tabelle 5:
Studiencharakteristika des ROBS-Kollektivs: operative Therapie

n = 156		
Parameter	n (%)	Mittelwert ± SD (Spannweite)
Frauen	122	
Männer	34	
Alter (Jahre)		40,1 ± 11,0
BMI Zeitpunkt V0 (kg/m ²)		53,6 ± 6,6
Roux-en-Y-Magenbypass	121 (77,6)	
Vertikale Sleeve-Gastrektomie	35 (22,4)	
Gewichtsverlust 12 Monate postoperativ (kg)	103	56,9 ± 16,9

Anmerkung: SD = Standardabweichung, BMI = Body-Mass-Index

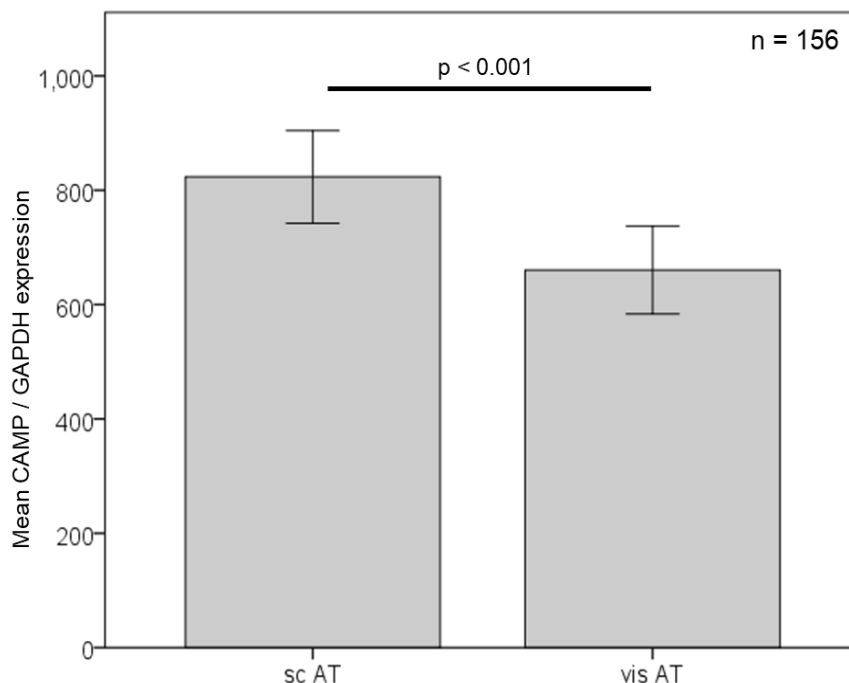
Quelle: In Anlehnung an Hochberg et al., 2021, S. 171

3.1.2 Unterschied der Genexpressionslevel von CAMP im Vergleich von subkutanem und viszeralem Fettgewebe

Zur Bestimmung der Genexpressionslevel von CAMP in den unterschiedlichen Fettgewebekompartimenten wurde den Patienten und Patientinnen während der bariatrischen Operation sowohl subkutanes als auch viszerales Fettgewebe entnommen. Aus den Fettgewebeproben wurden daraufhin mittels Isolation von RNA (siehe Kapitel 2.2.3), reverser Transkription (siehe Kapitel 2.2.6) sowie anschließender Real-Time-PCR (siehe Kapitel 2.2.7) die Genexpressionslevel von CAMP und GAPDH, das als *housekeeping gene* verwendet wurde, quantitativ bestimmt. Die CAMP-Expressionslevel wurden dabei auf die jeweiligen Expressionslevel von GAPDH normiert. Daten der Genexpression aus beiden Kompartimenten liegen für insgesamt 156 Patienten und Patientinnen vor. Hier zeigte sich, wie in Abbildung 6 dargestellt, im subkutanen Fettgewebe der Probanden und Probandinnen eine signifikant höhere CAMP-Genexpression im Vergleich zum viszeralen Fettgewebe ($p < 0,001$). Der Unterschied beträgt etwa 20% (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 6:

Genexpression von CAMP in subkutanem und viszeralem Fettgewebe schwer adipöser Patienten und Patientinnen des ROBS-Kollektivs



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, GAPDH = Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, Mean CAMP / GAPDH expression = mittlere CAMP / GAPDH Genexpression, sc AT = subkutanes Fettgewebe, vis AT = viszerales Fettgewebe

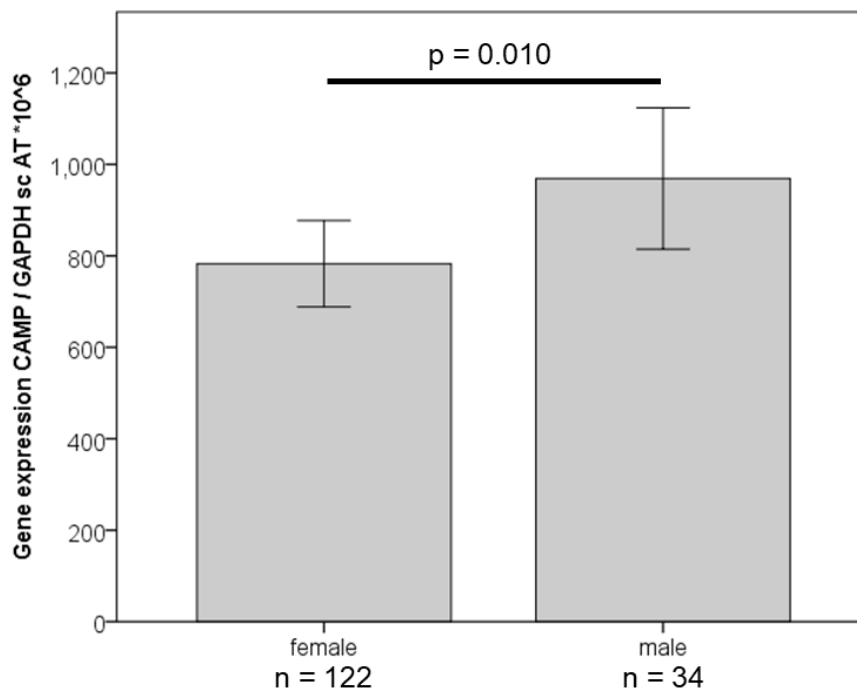
Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 175

3.1.3 Unterschied der Genexpressionslevel von CAMP in subkutanem Fettgewebe im Vergleich bei Frauen und Männern

Im subkutanen Fettgewebe von 156 Patienten und Patientinnen wurde, wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben, die Genexpression von CAMP und GAPDH quantitativ bestimmt. Im Folgenden wurden die Probanden und Probandinnen nach Geschlechtern in zwei Gruppen aufgeteilt und der Unterschied der Genexpressionslevel analysiert. Hier zeigte sich, wie in Abbildung 7 dargestellt, bei den eingeschlossenen 34 Männern eine signifikant höhere CAMP-Genexpression im Vergleich zu den 122 Frauen ($p = 0,01$). Der Unterschied beträgt etwa 20% (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 7:

Genexpression von CAMP in subkutanem Fettgewebe schwer adipöser Frauen und Männer des ROBS-Kollektivs



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, GAPDH = Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, Gene expression CAMP / GAPDH = Genexpression CAMP / GAPDH, sc AT = subkutanen Fettgewebe, female = Frauen, male = Männer

Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 175

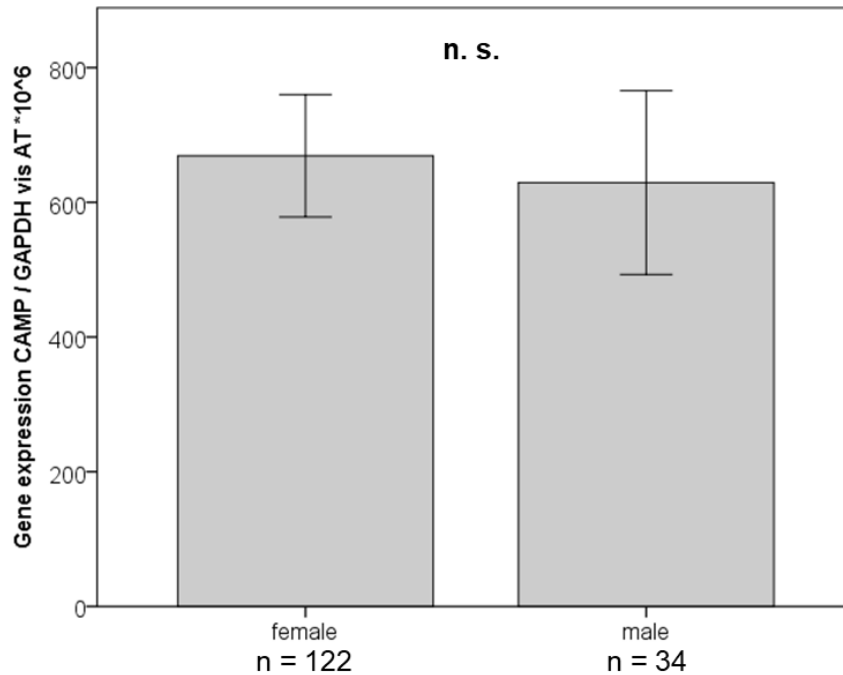
3.1.4 Unterschied der Genexpressionslevel von CAMP in viszeralem Fettgewebe im Vergleich bei Frauen und Männern

Im viszeralen Fettgewebe von 156 Patienten und Patientinnen wurde, wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben, die Genexpression von CAMP und GAPDH quantitativ bestimmt. Im Folgenden wurden die Probanden und Probandinnen nach Geschlechtern in zwei

Gruppen aufgeteilt und der Unterschied der Genexpression analysiert. Hier zeigte sich, wie in Abbildung 8 dargestellt, bei den eingeschlossenen 34 Männern und 122 Frauen kein signifikanter Unterschied in der CAMP-Genexpression (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 8:

Genexpression von CAMP in viszeralem Fettgewebe schwer adipöser Frauen und Männer des ROBS-Kollektivs



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, GAPDH = Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, Gene expression CAMP / GAPDH = Genexpression von CAMP / GAPDH, vis AT = viszerale Fettgewebe, female = Frauen, male = Männer, n. s. = nicht signifikant

Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 175

3.1.5 Analyse der CAMP-Serumproteinspiegel zum Zeitpunkt vor und 12 Monate nach Therapie mittels bariatrischer Operation

Zur Bestimmung der CAMP-Serumproteinspiegel wurden den Patienten und Patientinnen vor (V0) und 12 Monate (V12) nach der bariatrischen Operation Serumproben entnommen. Die Ergebnisse liegen für den Zeitpunkt V0 von 156 Patienten und Patientinnen und für den Zeitpunkt V12 für 91 Probanden und Probandinnen vor und werden in Tabelle 6 dargestellt. Die CAMP-Proteinspiegel wurden mittels ELISA (siehe Kapitel 2.2.8) aus den Serumproben bestimmt. Hierbei zeigte sich zum Zeitpunkt V0 die niedrigste CAMP-Serumkonzentration mit 14,35 ng/ml und die höchste mit 91,04 ng/ml. Darüber hinaus fanden sich bei Frauen ($38,25 \pm 1,18$ ng/ml) signifikant geringere ($p = 0,033$) basale CAMP-Serumproteinspiegel im Vergleich zu Männern ($43,91 \pm 2,68$ ng/ml) (Hochberg et al., 2021).

Tabelle 6:

Analyse der CAMP-Serumproteinspiegel zum Zeitpunkt V0 und V12 nach Therapie mittels bariatrischer Operation

CAMP (ng/ml)	Bariatrische Operation (n = 156) Roux-en-Y-Magenbypass (n = 121) Vertikale Sleeve-Gastrektomie (n = 35)	
	V0 (n = 156)	V12 (n = 91)
Mittelwert $\pm$ SEM	39,48 $\pm$ 1,10	46,02 $\pm$ 1,66
Standardabweichung	13,76	15,81
Median	37,25	42,70
Spannweite	14,35 – 91,04	9,61 – 98,69
Varianz	189,47	249,94
Mittelwert $\pm$ SEM ♀	38,25 $\pm$ 1,18* (n = 122)	44,39 $\pm$ 1,76 (n = 69)
Mittelwert $\pm$ SEM ♂	43,91 $\pm$ 2,68* (n = 34)	51,15 $\pm$ 3,94 (n = 22)

Anmerkung: * p = 0,033; CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, V = Visite, SEM = mittlerer Standardfehler

Quelle: In Anlehnung an Hochberg et al., 2021, S. 171

3.1.6 Korrelationsanalyse der basalen CAMP-Serumproteinspiegel (a) sowie der CAMP-Genexpressionslevel in subkutanem (b) und viszeralem Fettgewebe (c) mit basalen anthropometrischen und biochemischen Parametern

Die basalen CAMP-Serumproteinspiegel sowie die CAMP-Genexpressionslevel in subkutanem und viszeralem Fettgewebe der Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* wurden mit den zu Beginn der Studie erhobenen anthropometrischen und biochemischen Parametern korreliert. Die CAMP-Proteinspiegel wurden, wie in Kapitel 3.1.5 beschrieben, aus den Serumproben bestimmt und die Genexpression von CAMP und GAPDH in den Fettgewebeproben, wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben, quantifiziert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt. Es zeigte sich eine negative Korrelation der basalen CAMP-Serumproteinspiegel mit dem systemischem HDL-Cholesterinspiegel ($p = 0,038$; $\rho = -0,176$) sowie eine positive Korrelation mit den systemischen Triglyzerid ($p = 0,005$; $\rho = +0,239$) und Resistinspiegeln ($p = 0,003$; $\rho = +0,242$). Darüber hinaus bestand eine negative Korrelation der CAMP-Genexpressionslevel in subkutanem Fettgewebe mit den systemischen Adiponektinspiegeln ($p = 0,003$; $\rho = -0,24$) sowie eine positive Korrelation mit dem Taille-Hüft-Quotienten ($p = 0,002$; $\rho = +0,268$). In viszeralem Fettgewebe zeigte sich eine positive Korrelation der CAMP-Genexpression mit dem BMI ($p = 0,02$; $\rho = +0,186$), dem HbA_{1c} ($p = 0,031$; $\rho = +0,185$) und den systemischen Triglyzeridspiegeln ($p = 0,026$; $\rho = +0,188$) (Hochberg et al., 2021).

Tabelle 7:

Korrelationsanalyse der basalen CAMP-Serumproteinspiegel (a) und der CAMP-Genexpression in subkutanem (b) und viszeralem Fettgewebe (c) mit anthropometrischen und biochemischen Parametern

a:			
CAMP-Serumproteinspiegel	Bariatrische Operation (n = 156)		
Parameter	n	rho	p
Alter	156	-0,085	0,292
Körpergewicht	156	+0,145	0,071
BMI	156	+0,025	0,754
Körperfettmasse (%)	131	-0,089	0,314
Taille-Hüft-Quotient	135	+0,053	0,541
HbA _{1c}	136	-0,100	0,245
Gesamtcholesterin	139	+0,004	0,960
LDL Cholesterin	139	+0,041	0,631
HDL Cholesterin	139	-0,176	0,038*
Triglyzeride	139	+0,239	0,005*
CRP	155	-0,059	0,462
Adiponektin	150	-0,062	0,452
Leptin	150	-0,076	0,353
Resistin	150	+0,242	0,003*

b:			
CAMP Genexpressionslevel in subkutanem Fettgewebe	Bariatrische Operation (n = 156)		
Parameter	n	rho	p
Alter	156	-0,006	0,944
Körpergewicht	156	+0,038	0,166
BMI	156	+0,090	0,264
Körperfettmasse (%)	131	-0,053	0,549
Taille-Hüft-Quotient	135	+0,268	0,002*
HbA _{1c}	136	+0,096	0,266
Gesamtcholesterin	139	-0,096	0,261
LDL Cholesterin	139	-0,021	0,808

HDL Cholesterin	139	-0,165	0,052
Triglyzeride	139	+0,120	0,160
CRP	155	+0,072	0,373
Adiponektin	150	-0,240	0,003*
Leptin	150	-0,160	0,050
Resistin	150	-0,101	0,219

c:

CAMP Genexpressionslevel in viszeralem Fettgewebe	Bariatrische Operation (n = 156)		
Parameter	n	rho	p
Alter	156	+0,015	0,855
Körpergewicht	156	+0,110	0,173
BMI	156	+0,186	0,020*
Körperfettmasse (%)	131	+0,014	0,876
Taille-Hüft-Quotient	135	-0,077	0,375
HbA _{1c}	136	+0,185	0,031*
Gesamtcholesterin	139	-0,001	0,995
LDL Cholesterin	139	-0,041	0,635
HDL Cholesterin	139	-0,036	0,672
Triglyzeride	139	+0,188	0,026*
CRP	155	+0,045	0,582
Adiponektin	150	-0,057	0,487
Leptin	150	0	1,000
Resistin	150	-0,017	0,837

Anmerkung: * p < 0,05; CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, BMI = Body-Mass-Index, CRP = C-reaktives Protein

Quelle: In Anlehnung an Hochberg et al., 2021, S. 174

3.1.7 Korrelationsanalyse der Veränderungen anthropometrischer und biochemischer Parameter nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels bariatrischer Operation und den basalen CAMP-Serumproteinspiegeln (a) sowie den Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (b)

Den Patienten und Patientinnen wurden zum Zeitpunkt V0 und V12 Serumproben entnommen. Mit diesen wurden sowohl basale CAMP-Serumproteinspiegel als auch die

Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (Δ CAMP) nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels bariatrischer Operation ermittelt. Die CAMP-Proteinspiegel wurden, wie in Kapitel 3.1.5 beschrieben, aus den Serumproben bestimmt. Anthropometrische und biochemische Daten wurden ebenfalls zum Zeitpunkt V0 und V12 bestimmt und die Veränderung dieser (Δ Parameter) ermittelt. Anschließend wurden die Ergebnisse der basalen CAMP-Proteinlevel mit den Veränderungen der anthropometrischen und biochemischen Parameter (Δ Parameter) korreliert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8a dargestellt. Darüber hinaus wurden auch die Veränderungen der CAMP-Proteinspiegel (Δ CAMP) mit den Veränderungen der anthropometrischen und biochemischen Parameter (Δ Parameter) korreliert. Die Ergebnisse hierfür sind in Tabelle 8b dargestellt. Die Ergebnisse liegen für 91 Probanden und Probandinnen vor. Es zeigte sich eine positive Korrelation der basalen CAMP-Proteinlevel mit Δ HbA_{1c} ($p = 0,025$; $\rho = +0,252$). Außerdem fand sich eine positive Korrelation von Δ CAMP mit Δ Körperfettanteil ($p = 0,013$; $\rho = +0,277$) (Hochberg et al., 2021).

Tabelle 8:

Korrelationsanalyse der Veränderungen anthropometrischer und biochemischer Parameter nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels bariatrischer Operation und den basalen CAMP-Serumproteinspiegeln (a) und den Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (b)

Korrelationen mit den CAMP-Serumproteinspiegeln	Bariatrische Operation (n = 91)		
Parameter	n	rho	p
a:			
Δ Körpergewicht (kg)	87	+0,021	0,845
Δ BMI (kg/m ²)	87	+0,100	0,356
Δ Körperfett (%)	80	+0,111	0,327
Δ Taille-Hüft-Quotient	72	+0,200	0,092
Δ HbA _{1c} (%)	79	+0,252	0,025*
Δ Gesamtcholesterin (mg/dl)	81	-0,084	0,458
Δ LDL Cholesterin (mg/dl)	81	+0,108	0,336
Δ HDL Cholesterin (mg/dl)	81	-0,029	0,796
Δ Triglyzeride (mg/dl)	81	-0,032	0,778
Δ CRP (mg/dl)	86	+0,003	0,975
b:			
Δ Körpergewicht (kg)	87	+0,027	0,801
Δ BMI (kg/m ²)	87	-0,010	0,928

Δ Körperfett (%)	80	+0,277	0,013*
Δ Taille-Hüft-Quotient	72	+0,008	0,950
Δ HbA _{1c} (%)	79	-0,129	0,258
Δ Gesamtcholesterin (mg/dl)	81	+0,081	0,473
Δ LDL Cholesterin (mg/dl)	81	+0,016	0,890
Δ HDL Cholesterin (mg/dl)	81	-0,113	0,314
Δ Triglyzeride (mg/dl)	81	+0,155	0,168
Δ CRP (mg/dl)	86	+0,001	0,999

Anmerkung: * $p < 0,05$; CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, CRP = C-reaktives Protein

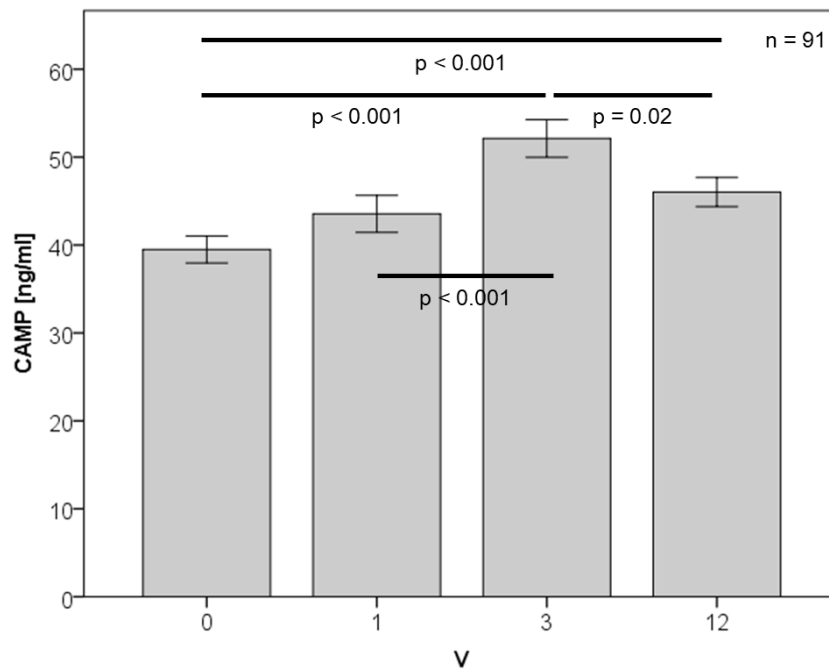
Quelle: In Anlehnung an Hochberg et al., 2021, S. 173

3.1.8 Serumproteinspiegel von CAMP im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme mittels bariatrischer Operation

Zur Bestimmung der Proteinspiegel im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme wurden den Patienten und Patientinnen vor (V0) und unmittelbar nach (V1) der bariatrischen Operation Serumproben entnommen. Es folgten darüber hinaus Entnahmen nach 3 (V3) und 12 Monaten (V12). Die Ergebnisse liegen für 91 Probanden und Probandinnen bis zum Zeitpunkt V12 vor und werden in Abbildung 9 dargestellt. Die CAMP-Proteinspiegel wurden, wie in Kapitel 3.1.5 beschrieben, aus den Serumproben bestimmt. Drei Monate nach Durchführung der bariatrischen Operation zeigte sich eine signifikante Zunahme der CAMP-Serumproteinspiegel (ng/ml) im Vergleich zu den Zeitpunkten V0 sowie V1 ($p < 0,001$). Ein Jahr nach der Operation zeigte sich ein signifikanter Abfall der CAMP-Serumproteinspiegel im Vergleich zum Zeitpunkt V3 ($p = 0,02$), jedoch eine weiterhin bestehende signifikante Zunahme im Vergleich zum Ausgangspunkt V0 ($p < 0,001$) (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 9:

Serumproteinspiegel von CAMP im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme der Patienten und Patientinnen des ROBS-Kollektivs: bariatrische Operation zum Zeitpunkt V0, V1, V3 und V12



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, V = Visiten

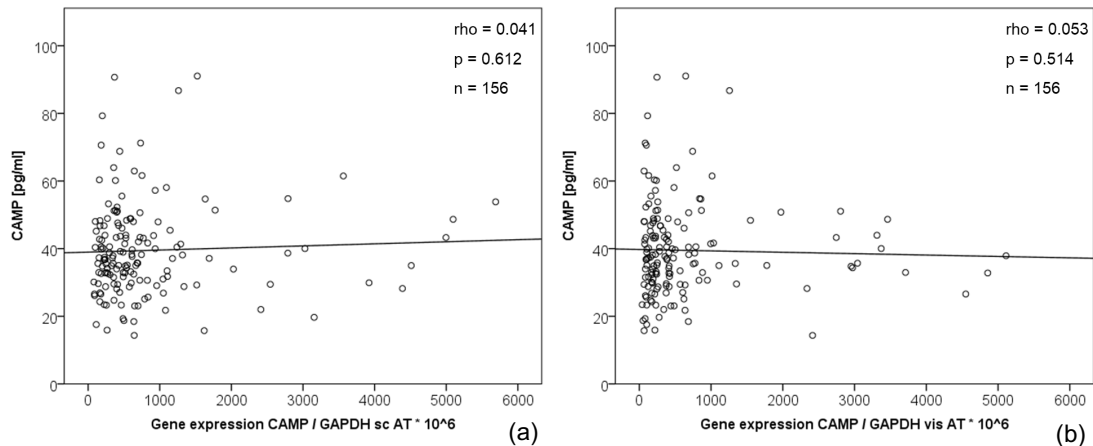
Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 172

3.1.9 Korrelationsanalyse der CAMP-Genexpressionslevel in subkutanem und viszeralem Fettgewebe mit den CAMP-Serumproteinspiegeln

Im Folgenden wurde die CAMP-Genexpression in den beiden Fettgewebsskompartimenten mit den CAMP-Serumproteinspiegeln korreliert. Hierbei zeigte sich, wie in Abbildung 10 dargestellt, weder bei der Expression in subkutanem noch in viszeralem Fettgewebe ein signifikanter Zusammenhang zur Serumkonzentration von CAMP (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 10:

Korrelationsanalyse der CAMP-Genexpressionslevel in jeweils subkutanem (a) und viszeralem (b) Fettgewebe mit den CAMP-Serumproteinspiegeln der Patienten und Patientinnen des ROBS-Kollektivs



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, GAPDH = Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, Gene expression CAMP / GAPDH = Genexpression CAMP / GAPDH, sc AT = subkutanes Fettgewebe, vis AT = viszerale Fettgewebe

Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 175

3.2 Ergebnisse aus der ROBS-Studie: konservative Therapie (ex vivo)

In Kapitel 3.2 werden die Ergebnisse der 79 Patienten und Patientinnen aus der *ROBS-Studie*, welche mittels niedrigkalorischer Diät behandelt wurden, aufgeführt. Im Weiteren wird nur noch auf „Patienten und Patientinnen“ verwiesen.

3.2.1 Studiencharakteristika des ROBS-Kollektivs: konservative Therapie

In Tabelle 9 werden die Studiencharakteristika der 79 Patienten und Patientinnen aufgeführt.

Tabelle 9:
Studiencharakteristika des ROBS-Kollektivs: konservative Therapie

n = 79		
Parameter	n (%)	Mittelwert $\pm$ SD (Spannweite)
Frauen	51	
Männer	28	
Alter (Jahre)		42,0 $\pm$ 12,1
BMI Zeitpunkt V0 (kg/m ²)		44,0 $\pm$ 5,5
Gewichtsverlust 12 Monate nach Start des Diätprogramms (kg)	78	30,1 $\pm$ 16,2

Anmerkung: SD = Standardabweichung, BMI = Body-Mass-Index

Quelle: In Anlehnung an Hochberg et al., 2021, S. 171

3.2.2 Analyse der CAMP-Serumproteinspiegel zum Zeitpunkt vor und 12 Monate nach Therapie mittels niedrigkalorischer Diät

Zur Bestimmung der CAMP-Proteinspiegel wurden den Patienten und Patientinnen vor (V0) und 12 Monate (V12) nach Therapie mittels niedrigkalorischer Diät Serumproben entnommen. Die Ergebnisse liegen für Zeitpunkt V0 von 79 Patienten und Patientinnen und für Zeitpunkt V12 für 66 Probanden und Probandinnen vor und werden in Tabelle 10 dargestellt. Die CAMP-Proteinspiegel wurden, wie in Kapitel 3.1.5 beschrieben, aus den Serumproben bestimmt. Hierbei zeigte sich zum Zeitpunkt V0 die niedrigste CAMP-Serumkonzentration mit 10,91 ng/ml und die höchste mit 190,37 ng/ml. Darüber hinaus fanden sich bei Frauen (37,62 $\pm$ 4,55 ng/ml) signifikant geringere ($p = 0,006$) basale CAMP-Serumproteinspiegel im Vergleich zu Männern (50,97 $\pm$ 5,84 ng/ml) (Hochberg et al., 2021).

Tabelle 10:
Analyse der CAMP-Serumproteinspiegel zum Zeitpunkt V0 und V12 nach Therapie mittels niedrigkalorischer Diät

CAMP (ng/ml)	niedrigkalorische Diät (n = 79)	
	V0 (n = 79)	V12 (n = 66)
Mittelwert ± SEM	42,35 ± 3,64	29,31 ± 1,65
Standardabweichung	32,37	13,42
Median	30,44	26,40
Spannweite	10,91 – 190,37	9,15 – 94,16
Varianz	1047,55	180,04
Mittelwert ± SEM ♀	37,62 ± 4,55° (n = 51)	28,49 ± 1,61 (n = 46)
Mittelwert ± SEM ♂	50,97 ± 5,84° (n = 28)	31,20 ± 4,05 (n = 20)

Anmerkung: ° p = 0,006; CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, V = Visite, SEM = mittlerer Standardfehler

Quelle: In Anlehnung an Hochberg et al., 2021, S. 171

3.2.3 Korrelationsanalyse der Veränderungen anthropometrischer und biochemischer Parameter nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels niedrigkalorischer Diät und den basalen CAMP-Serumproteinspiegeln (a) sowie den Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (b)

Den Patienten und Patientinnen wurden zum Zeitpunkt V0 und V12 Serumproben entnommen. Mit diesen wurden sowohl basale CAMP-Serumproteinspiegel als auch die Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (Δ CAMP) nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels niedrigkalorischer Diät ermittelt. Die CAMP-Proteinspiegel wurden, wie in Kapitel 3.1.5 beschrieben, aus den Serumproben bestimmt. Anthropometrische und biochemische Daten wurden ebenfalls zum Zeitpunkt V0 und V12 bestimmt und die Veränderung dieser (Δ Parameter) ermittelt. Anschließend wurden die Ergebnisse der basalen CAMP-Proteinspiegel mit den Veränderungen der anthropometrischen und biochemischen Parameter (Δ Parameter) korreliert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11a dargestellt. Darüber hinaus wurden auch die Veränderungen der CAMP-Proteinspiegel (Δ CAMP) mit den Veränderungen der anthropometrischen und biochemischen Parameter (Δ Parameter) korreliert. Die Ergebnisse hierfür sind in Tabelle 11b dargestellt. Die Ergebnisse liegen für 66 Probanden und Probandinnen vor. Es zeigte sich eine positive Korrelation von Δ CAMP mit Δ Körpergewicht (p = 0,039; rho = +0,256) (Hochberg et al., 2021).

Tabelle 11:

Korrelationsanalyse der Veränderungen anthropometrischer und biochemischer Parameter nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels niedrigkalorischer Diät und den basalen CAMP-Serumproteinspiegeln (a) und den Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (b)

Korrelationen mit den CAMP-Serumproteinspiegeln	niedrigkalorische Diät (n = 66)		
Parameter	n	rho	p
a:			
Δ Körpergewicht (kg)	65	-0,068	0,590
Δ BMI (kg/m ²)	65	+0,008	0,947
Δ Körperfett (%)	64	-0,054	0,675
Δ Taille-Hüft-Quotient	59	+0,184	0,164
Δ HbA _{1c} (%)	64	+0,109	0,389
Δ Gesamtcholesterin (mg/dl)	64	+0,173	0,173
Δ LDL Cholesterin (mg/dl)	64	+0,196	0,121
Δ HDL Cholesterin (mg/dl)	64	+0,064	0,617
Δ Triglyzeride (mg/dl)	64	-0,049	0,703
Δ CRP (mg/dl)	64	+0,001	0,991
b:			
Δ Körpergewicht (kg)	65	+0,256	0,039*
Δ BMI (kg/m ²)	65	+0,222	0,075
Δ Körperfett (%)	64	+0,232	0,065
Δ Taille-Hüft-Quotient	59	+0,136	0,303
Δ HbA _{1c} (%)	64	+0,026	0,838
Δ Gesamtcholesterin (mg/dl)	64	+0,114	0,371
Δ LDL Cholesterin (mg/dl)	64	+0,066	0,602
Δ HDL Cholesterin (mg/dl)	64	-0,071	0,580
Δ Triglyzeride (mg/dl)	64	+0,109	0,392
Δ CRP (mg/dl)	64	+0,197	0,119

Anmerkung: * p < 0,05; CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, CRP = C-reaktives Protein

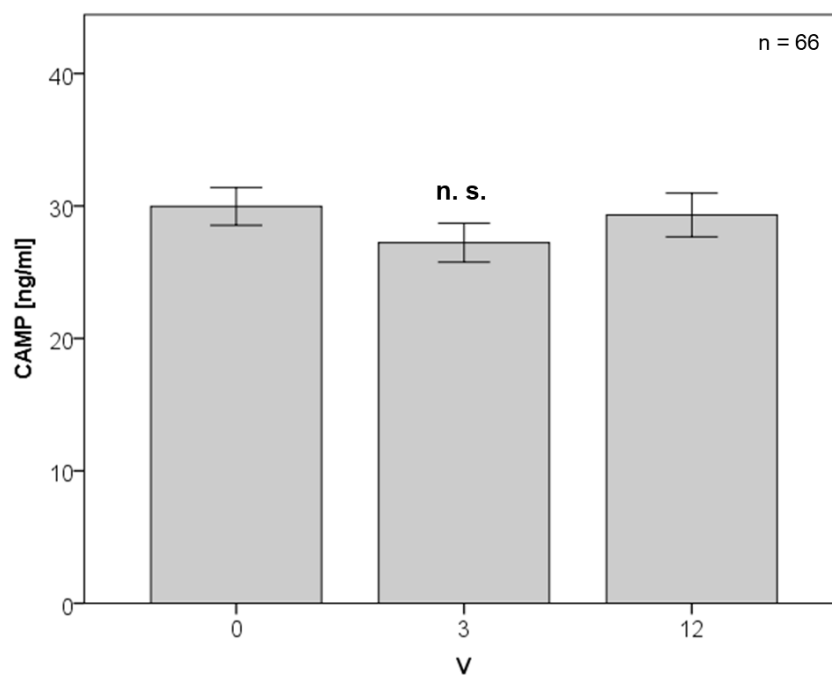
Quelle: In Anlehnung an Hochberg et al., 2021, S. 173

3.2.4 Serumproteinspiegel von CAMP im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme mittels niedrigkalorischer Diät

Zur Bestimmung der Proteinspiegel im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme mittels niedrigkalorischer Diät wurden den Patienten und Patientinnen zu Beginn des Abnahmeprozesses (V0), nach 3 (V3) und 12 Monaten (V12) Serumproben entnommen. Die Ergebnisse liegen für 66 Probanden und Probandinnen bis zum Zeitpunkt V12 vor und werden in Abbildung 11 dargestellt. Die CAMP-Proteinspiegel wurden, wie in Kapitel 3.1.5 beschrieben, aus den Serumproben bestimmt. Es zeigte sich keine signifikante Veränderung der CAMP-Serumproteinspiegel im Verlauf der Gewichtsabnahme (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 11:

Serumproteinspiegel von CAMP im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme der Patienten und Patientinnen des ROBS-Kollektivs: niedrigkalorische Diät zum Zeitpunkt V0, V3 und V12



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, V = Visiten, n. s. = nicht signifikant

Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 172

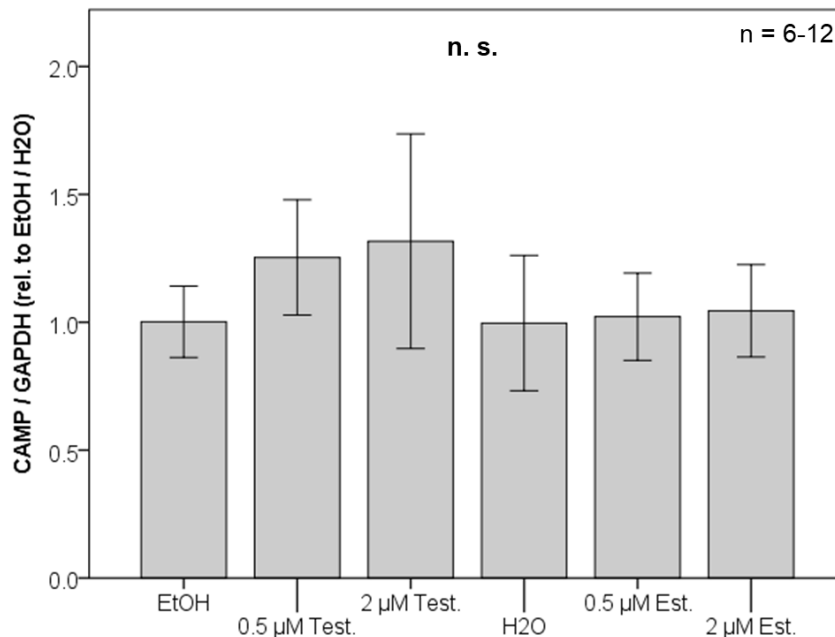
3.3 Ergebnisse der Zellkulturversuche (in vitro)

3.3.1 Genexpressionslevel von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit Sexualsteroiden

Im Rahmen der Untersuchungen im *ROBS-Kollektiv* ergab sich eine signifikant verminderte CAMP-Genexpression in subkutanem Fettgewebe bei Frauen im Vergleich zu Männern (siehe Kapitel 3.1.3). Zur weiteren Untersuchung des Geschlechtsdimorphismus wurden die Einflüsse von Sexualsteroiden auf die Genexpression von CAMP in Adipozyten untersucht. Hierzu wurden 3T3-L1-Fibroblasten, wie in Kapitel 2.2.1.4 beschrieben, zu reifen Adipozyten differenziert. Um die Auswirkung männlicher Sexualsteroiden zu bestimmen, wurden die differenzierten Adipozyten mit je 0,5 μM und 2 μM Testosteron (gelöst in Ethanol) stimuliert. Als Solvenskontrolle wurde Ethanol verwendet. Zur Untersuchung des Einflusses weiblicher Sexualsteroiden wurden die differenzierten Adipozyten mit je 0,5 μM und 2 μM Östradiol (gelöst in H_2O) stimuliert. Als Solvenskontrolle wurde H_2O verwendet. Im Anschluss an die jeweilige Stimulation wurden die Adipozyten geerntet und RNA isoliert (siehe Kapitel 2.2.2). Die Genexpression von CAMP und GAPDH wurde mittels reverser Transkription (siehe Kapitel 2.2.6) und anschließender Real-Time-PCR (siehe Kapitel 2.2.7) quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 12 dargestellt. Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss der jeweiligen Sexualsteroiden auf die Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten. Es zeichnete sich lediglich eine nicht signifikante Tendenz dahingehend ab, dass die CAMP-Genexpression unter Einfluss von Testosteron leicht induziert werden könnte. Bei Östradiol fand sich diese Tendenz nicht (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 12:

Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten nach Stimulation mit jeweils niedrig- und hochkonzentriertem Testosteron und Östradiol, Kontrollansatz mit Ethanol für Testosteron und Wasser für Östradiol



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, GAPDH = Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, CAMP / GAPDH (rel. to EtOH / H₂O) = CAMP / GAPDH in Relation zu Ethanol und Wasser, n. s. = nicht signifikant, EtOH = Ethanol, Test. = Testosteron, H₂O = Wasser, Est. = Östradiol

Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 176

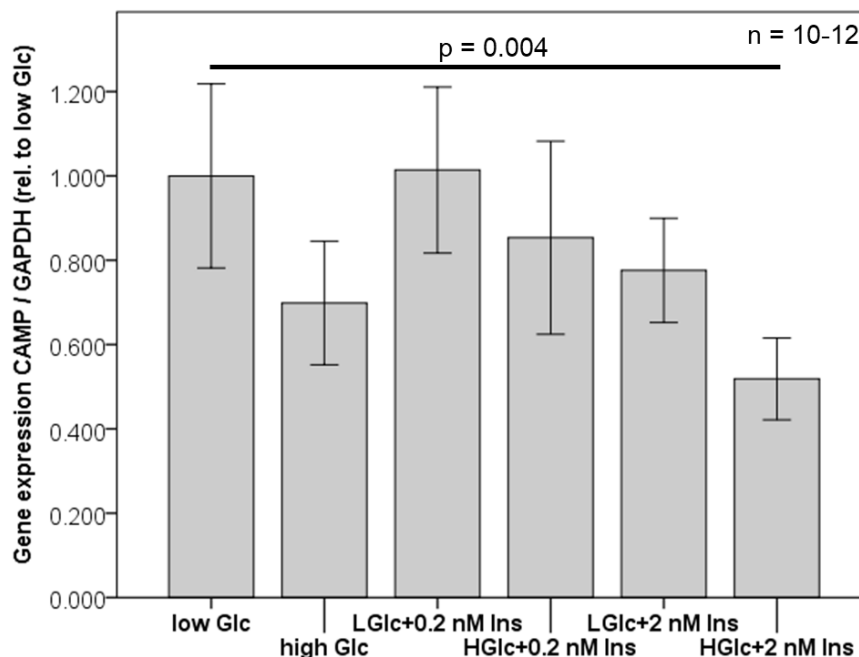
3.3.2 Genexpressionslevel von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit Glukose und Insulin

Aufgrund des ausgeprägten Einflusses von Glukose- und Insulinspiegeln im Rahmen der Adipositas und dem metabolischen Syndrom auf den Adipozytenstoffwechsel sowie die im Rahmen des *ROBS-Kollektivs* aufgezeigten Zusammenhänge zwischen der Stoffwechsellage und der CAMP-Genexpression (siehe Kapitel 3.1.6, 3.1.7 und 3.2.3), wurden folgend die Einflüsse von Glukose und Insulin auf die Genexpression von CAMP in zu Adipozyten differenzierten 3T3-L1-Fibroblasten (siehe Kapitel 2.2.1.4) untersucht. Eine Gruppe Adipozyten wurde mit normalkonzentriertem Glukose-Medium (5,6 mM) behandelt. Eine zweite Gruppe Adipozyten erhielt zusätzlich zur normalkonzentrierten Glukose außerdem eine niedrige Konzentration Insulin (0,2 nM), eine dritte Gruppe zusätzlich eine hohe Konzentration Insulin (2 nM). In einer weiteren Versuchsreihe wurden Adipozyten mit hochkonzentriertem Glukose-Medium (25 mM) behandelt. Auch hier gab es eine zweite Gruppe Adipozyten, die zusätzlich zur hochkonzentrierten Glukose mit niedrigkonzentriertem Insulin (0,2 nM), und eine dritte Gruppe Adipozyten, die zusätzlich mit hochkonzentriertem Insulin (2 nM) stimuliert wurden. Die Genexpressionslevel der

unterschiedlichen Ansätze wurden, wie in Kapitel 3.3.1 beschrieben, quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 13 dargestellt. In den Adipozyten, welche mit hochkonzentrierter (supraphysiologisches Niveau) Glukose sowie hochkonzentriertem Insulin behandelt wurden, zeigte sich eine signifikante Abnahme der Genexpression von CAMP im Vergleich zu Versuchsansätzen mit normalkonzentrierter Glukose, welche den physiologischen Zustand darstellt ($p = 0,004$). Der Unterschied beträgt etwa 50%. Die Ansätze, die ausschließlich mit hochkonzentrierter Glukose oder hochkonzentriertem Insulin behandelt wurden, zeigten im Vergleich zum Kontrollansatz mit normalkonzentrierter Glukose jeweils lediglich einen Trend zur Reduktion der CAMP-Genexpression. Hierbei wurde jedoch keine statistische Signifikanz erreicht (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 13:

Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten nach Stimulation mit niedrig- (0,2 nM) und hochkonzentriertem Insulin (2 nM) und hochkonzentrierter Glukose (25 mM) sowie in Kombination, Kontrollansatz mit normalkonzentrierter Glukose (5,6 mM)



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, GAPDH = Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, Gene expression CAMP / GAPDH (rel. to low Glc) = Genexpression CAMP / GAPDH in Relation zu normal konzentrierter Glukose, low (L) Glc = normalkonzentrierte Glukose (5,6 mM), high (H) Glc = hoch konzentrierte Glukose (25 mM), Ins = Insulin

Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 176

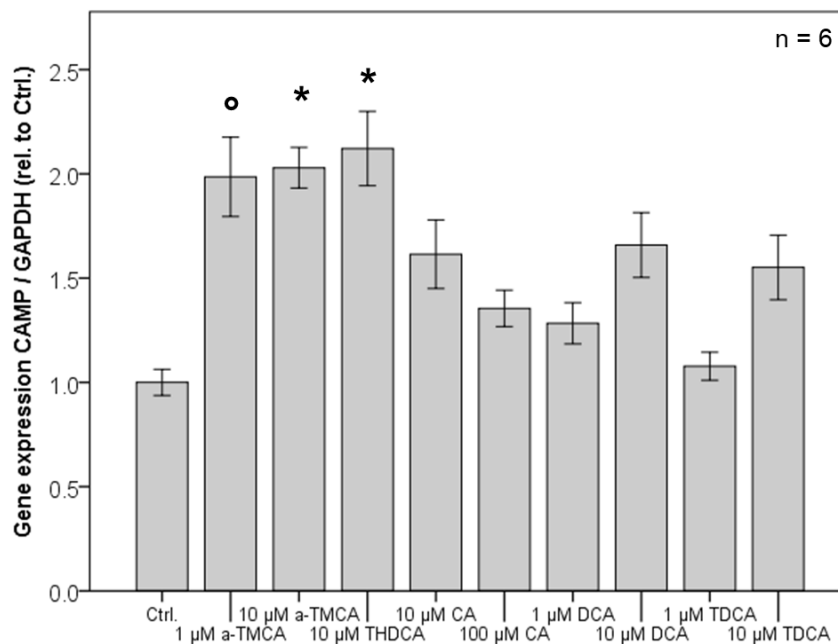
3.3.3 Genexpressionslevel von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit verschiedenen Gallensäuren

Durch die Untersuchungen im *ROBS-Kollektiv* konnte gezeigt werden, dass die CAMP-Serumproteinspiegel nach *operativer Therapie* mittels bariatrischer Operation bis 3

Monate postoperativ (V3) signifikant ansteigen (siehe Kapitel 3.1.8). Dieser Effekt konnte ausschließlich in der *operativ* nicht hingegen in der *konservativ* behandelten Patientengruppe beobachtet werden (siehe Kapitel 3.2.4). Es ist bekannt, dass es im Anschluss an eine bariatrische Operation regelhaft zu einem Anstieg der systemischen Gallensäuren im Serum der Patienten und Patientinnen kommt (Noel et al., 2016; Penney et al., 2015). Um die Auswirkung von verschiedenen Gallensäuren auf die Genexpression von CAMP in Adipozyten zu untersuchen, wurden 3T3-L1-Fibroblasten, wie in Kapitel 2.2.1.4 beschrieben, zu reifen Adipozyten differenziert. Es wurden jeweils Gruppen von Adipozyten mit 1 μ M und 10 μ M α -Tauromuricholsäure, 10 μ M Taurohyodeoxycholsäure, 10 μ M und 100 μ M Cholsäure, 1 μ M und 10 μ M Desoxycholsäure sowie 1 μ M und 10 μ M Taurodeoxycholsäure stimuliert. Als Solvenskontrolle wurde Dimethylsulfoxid (DMSO) verwendet, in dem die Gallensäuren gelöst waren. Die Genexpressionslevel der unterschiedlichen Ansätze wurden, wie in Kapitel 3.3.1 beschrieben, quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 14 dargestellt. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg der CAMP-Genexpression unter Stimulation mit 1 μ M ($p < 0,05$) und 10 μ M ($p < 0,01$) α -Tauromuricholsäure. Außerdem ergab sich eine signifikante Steigerung unter Einfluss von 10 μ M Taurohyodeoxycholsäure ($p < 0,01$). Für alle weiteren untersuchten Gallensäuren ergaben sich keine signifikanten Veränderungen der CAMP-Genexpression (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 14:

Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten nach Stimulation mit verschiedenen Gallensäuren, Kontrollansatz mit DMSO



Anmerkung: ° $p < 0,05$, * $p < 0,01$; CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, GAPDH = Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, Gene expression CAMP / GAPDH (rel. to Ctrl.) = Genexpression CAMP / GAPDH in Relation zur Kontrolle, Ctrl. = Kontrolle, TMCA = α -Tauromuricholsäure, THDCA = Taurohydrodeoxycholsäure, CA = Cholsäure, DCA = Desoxycholsäure, TDCA = Taurodeoxycholsäure

Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 176

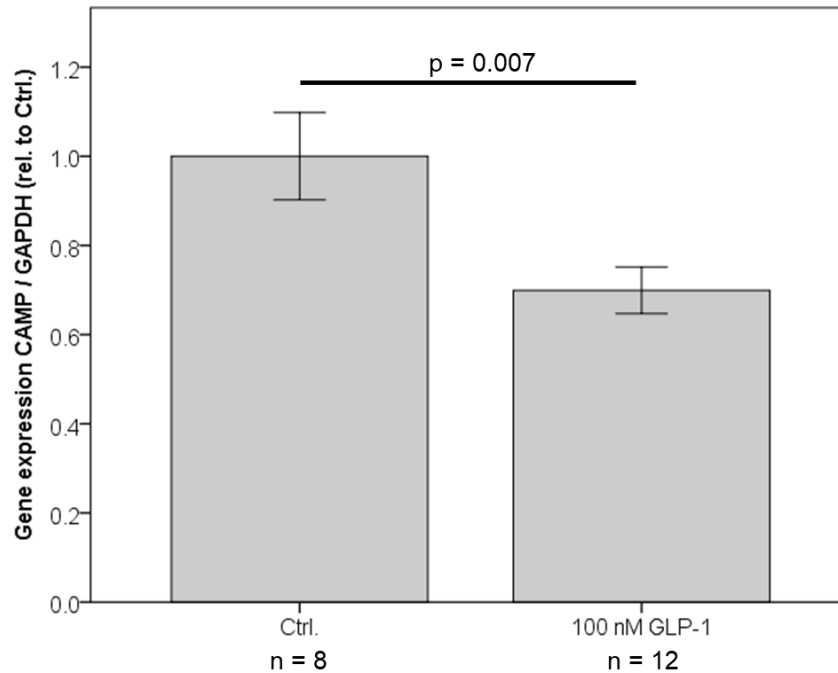
3.3.4 Genexpressionslevel von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit Glucagon-like Peptide-1

Im Rahmen der Untersuchungen im *ROBS-Kollektiv* konnte beobachtet werden, dass es ein Jahr nach bariatrischer Operation zu einem signifikanten Abfall der CAMP-Serumproteinspiegel im Vergleich zum Zeitpunkt V3 kommt (siehe Kapitel 3.1.8). Dieser Effekt konnte ausschließlich in der *operativ* nicht hingegen in der *konservativ* behandelten Patientengruppe beobachtet werden (siehe Kapitel 3.2.4). In Studien konnte gezeigt werden, dass die systemischen Inkretin-Spiegel im Serum der Patienten und Patientinnen im Anschluss an eine bariatrische Operation postprandial deutlich ansteigen, während sich dieser Effekt durch eine niedrigkalorische Diät nicht beobachten lässt (Ionut et al., 2013; Isbell et al., 2010). Um die Auswirkung des Inkretins Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) auf die Genexpression von CAMP in Adipozyten zu untersuchen, wurden 3T3-L1-Fibroblasten, wie in Kapitel 2.2.1.4 beschrieben, zu reifen Adipozyten differenziert. Die differenzierten Adipozyten wurden mit 100 nM GLP-1 stimuliert. Als Solvenskontrolle wurde serumfreies Medium mit sterilem H₂O verwendet. Die Genexpressionslevel der unterschiedlichen Ansätze wurden, wie in Kapitel 3.3.1 beschrieben, quantitativ

bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 15 dargestellt. Es zeigte sich eine signifikante Verringerung der CAMP-Genexpression in 3T3-L1-Adipozyten unter Stimulation mit GLP-1 ($p = 0,007$) (Hochberg et al., 2021).

Abbildung 15:

Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten nach Stimulation mit GLP-1, Kontrollansatz mit Wasser



Anmerkung: CAMP = cathelicidin antimicrobial peptide, GAPDH = Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase, Gene expression CAMP / GAPDH (rel. to Ctrl.) = Genexpression CAMP / GAPDH in Relation zur Kontrolle, Ctrl. = Kontrolle, GLP-1 = Glucagon-like Peptide-1

Quelle: Hochberg et al., 2021, S. 176

4 Diskussion

4.1 Regulation von CAMP in Abhängigkeit vom jeweiligen Fettgewebskompartiment bei adipösen Patienten und Patientinnen

Aufgrund der durchgeführten Untersuchungen konnte aufgezeigt werden, dass es eine differente Regulation der CAMP-Genexpression je nach Fettgewebskompartiment zu geben scheint. Die CAMP-Expressionslevel der 156 untersuchten adipösen Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* waren in subkutanem Fettgewebe signifikant höher als in viszeralem Fettgewebe ($p < 0,001$) (Hochberg et al., 2021). Dies impliziert, dass CAMP insbesondere in subkutanem Fettgewebe seinen Wirkort als antimikrobielles Peptid hat. Dieses Erkenntnis deckt sich mit den Beobachtungen von Zhang et al., dass CAMP an der Abwehr subkutaner *S. aureus* Infektionen der Haut beteiligt ist (2015).

Häufig wird beobachtet, dass sich Fettgewebe an entzündlich veränderten Organen neu bildet. Beispiel hierfür ist das „creeping fat“ bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, bei welchem das viszerale Fettgewebe beteiligt ist (Schäffler & Herfarth, 2005). Obwohl das viszerale Fettgewebe ebenfalls in relevante Entzündungsprozesse involviert ist, bleibt unklar, weshalb CAMP in diesem in geringeren Konzentrationen exprimiert wird und welcher Rolle dem antimikrobiellen Peptid hier zuzuschreiben ist.

4.2 Geschlechtsdimorphismus der CAMP-Serumproteinspiegel und der CAMP-Genexpression in subkutanem Fettgewebe adipöser Patienten und Patientinnen

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass es einen Geschlechtsdimorphismus der CAMP-Serumproteinspiegel sowie der CAMP-Genexpression in subkutanem Fettgewebe bei adipösen Patienten und Patientinnen zu geben scheint. Frauen zeigen signifikant geringere basale Serumproteinspiegel von CAMP im Vergleich zu Männern (operativ: $p = 0,033$; konservativ: $p = 0,006$) (Hochberg et al., 2021). Auch in subkutanem Fettgewebe exprimieren Frauen signifikant geringere CAMP-Konzentrationen im Vergleich zu Männern ($p = 0,01$) (Hochberg et al., 2021). Die Hypothese, dass Sexualsteroid die Genexpression von CAMP beeinflussen, wurde daraufhin in der Zellkultur überprüft. Hierfür wurden 3T3-L1-Adipozyten zum einen mit Östradiol und zum anderen mit Testosteron in aufsteigenden Dosierungen stimuliert. Es zeigte sich eine Tendenz, dass

Testosteron in steigenden Konzentrationen die CAMP-Genexpression induziert. Der Effekt von Testosteron auf die CAMP-Genexpression blieb dabei jedoch knapp nicht signifikant (Hochberg et al., 2021). Bereits in vorherigen Untersuchungen konnte ein Geschlechtsdimorphismus im Tierversuch festgestellt werden. Hier zeigte sich in Versuchen mit Wildtyp-Mäusen (Zuchtstamm C57BL/6) eine signifikant geringere CAMP-Genexpression in weiblichen Mäusen verglichen mit männlichen ($p = 0,014$) (Höpfinger et al., 2021). Dieser Effekt war jedoch ausschließlich in intraabdominalem (entspricht viszeralem Fettgewebe) und nicht in subkutanem Fettgewebe zu beobachten. Die Hypothese, dass Sexualsteroiden die CAMP-Genexpression in Adipozyten beeinflussen, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht bestätigt werden und erfordert umfangreichere künftige *in vitro* Studien. Die zugrundeliegende Ursache für den signifikanten Unterschied der CAMP-Serumspiegel und der CAMP-Genexpression in subkutanem Fettgewebe der Patienten und Patientinnen bleibt bislang unklar. Hier müssen weitere regulative Mechanismen mit unterschiedlichen Auswirkungen bei den beiden Geschlechtern auf die CAMP-Genexpression vermutet werden.

4.3 Assoziation von CAMP mit einer ungünstigen Stoffwechsellage und Inflammation

Die Adipositas stellt durch deren Auswirkungen auf das Fettgewebe einen Zustand der chronischen Entzündung dar. Zur Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs von CAMP-Serumspiegeln sowie CAMP-Genexpression in subkutanem und viszeralem Fettgewebe und den im Rahmen der *ROBS-Studie* erhobenen anthropometrischen und biochemischen Parametern wurden verschiedene Korrelationsanalysen durchgeführt. Hierbei sollte untersucht werden, ob positive Korrelationen zu Parametern, welche für das Vorliegen einer ungünstigen Stoffwechsellage und den damit assoziierten Entzündungszustand sprechen, bestehen. Es zeigte sich eine negative Korrelation der basalen CAMP-Serumproteinspiegel mit dem HDL-Cholesterinspiegel ($p = 0,038$; $\rho = -0,176$) sowie eine positive Korrelation mit Triglyzerid- ($p = 0,005$; $\rho = +0,239$) und Resistinspiegeln ($p = 0,003$; $\rho = +0,242$) (Hochberg et al., 2021). Wie bereits zuvor beschrieben, ist Resistin ein Adipokin mit proinflammatorischer Wirkung (Ouchi et al., 2011). Demnach kann geschlussfolgert werden, dass hohe systemische CAMP-Spiegel eher mit Parametern einer ungünstigen, niedrige systemische CAMP-Spiegel hingegen eher mit Parametern einer günstigen Stoffwechsellage assoziiert sind. Bei Betrachtung der beiden Fettgewebekompartimente fand sich eine negative Korrelation der CAMP-Genexpressionslevel in subkutanem Fettgewebe mit Adiponektin ($p = 0,003$; $\rho = -0,24$) sowie eine positive Korrelation mit dem Taille-Hüft-Quotienten ($p = 0,002$; $\rho = +0,268$)

(Hochberg et al., 2021). In viszeralem Fettgewebe zeigte sich eine positive Korrelation der CAMP-Genexpression mit dem BMI ($p = 0,02$; $\rho = +0,186$), dem HbA_{1c} ($p = 0,031$; $\rho = +0,185$) und den Triglyzeridspiegeln ($p = 0,026$; $\rho = +0,188$) (Hochberg et al., 2021). Wie bereits zuvor beschrieben, ist Adiponektin ein Adipokin mit antiinflammatorischer Wirkung (Ouchi et al., 2011). In Kongruenz mit den Korrelationen der systemischen CAMP-Spiegel fand sich auch in der Genexpression der beiden Fettgewebekompartimente eine positive Korrelation der CAMP-Expression mit metabolisch ungünstigen Faktoren sowie eine negative Korrelation mit günstigen Parametern. Die Hypothese, dass eine ungünstige Stoffwechsellage die CAMP-Genexpression in Adipozyten induziert, wurde in Zellkulturversuchen überprüft. Hierzu wurden 3T3-L1-Adipozyten mit verschiedenen Dosen Glukose und Insulin einzeln und in Kombination inkubiert. Der Versuchsansatz, welcher mit einer sehr hohen Dosis Glukose (25 mM) und zusätzlich hoher Dosis Insulin (2 nM) behandelt wurde, stellte hierbei die Stoffwechsellage im Zustand einer – ggf. Adipositas assoziierten – Insulinresistenz (Hyperglykämie und Hyperinsulinismus) dar. Es zeigte sich eine signifikante Reduktion der CAMP-Genexpression unter Einfluss von hohen Dosen Glukose in Kombination mit hohen Dosen Insulin ($p = 0,004$) (Hochberg et al., 2021). Die Hypothese, dass die CAMP-Expression in Adipozyten durch eine ungünstige Stoffwechsellage induziert wird, wurde demnach nicht bestätigt. Die Ergebnisse legen nahe, dass im Zustand der Adipositas nicht nur der kürzlich beschriebene Effekt durch TGF- β , wie bereits in Kapitel 1.4 erwähnt, sondern auf Ebene des einzelnen Adipozyten ggf. zusätzlich auch die Kombination aus Hyperglykämie und Hyperinsulinismus zur weiteren Reduktion der CAMP-Genexpression im Fettgewebe beitragen könnte. Die Ergebnisse aus der Zellkultur widersprechen den Beobachtungen auf systemischer Ebene und denen auf Genexpressionsebene im Fettgewebe nicht zwangsweise, da diese CAMP-Spiegel nicht nur aus der Sekretion von CAMP durch Adipozyten resultieren. Viele weitere Zellen sezernieren CAMP und tragen so zu den systemisch zirkulierenden CAMP-Konzentrationen sowie den CAMP-Genexpressionsleveln im Fettgewebe bei. Dies wird durch die Untersuchungen dieser Dissertation gestützt, durch welche gezeigt werden konnte, dass die systemischen CAMP-Serumproteinspiegel weder mit der CAMP-Genexpression in subkutanem noch in viszeralem Fettgewebe korrelieren. Auswirkungen einer ungünstigen Stoffwechsellage auf die systemischen CAMP-Serumspiegel müssen demnach nicht zwangsweise kongruent mit den Auswirkungen auf Ebene der Genexpression im Fettgewebe oder im einzelnen Adipozyten sein.

Zhang et al. stellten fest, dass CAMP-Serumspiegel in übergewichtigen ($\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$) Patienten und Patientinnen signifikant höher sind als in normalgewichtigen ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$) (2015). Dies deckt sich mit den Ergebnissen aus den Korrelationsanalysen, dass CAMP positiv mit Parametern einer ungünstigen Stoffwechsellage, wie sie bei

Übergewichtigen vorliegt, assoziiert ist. Da die Stichprobengröße in den Untersuchungen von Zhang et al. jedoch mit $n = 10$ in den jeweiligen Patientengruppen sehr klein ist, wäre es interessant, eine normalgewichtige Kontrollkohorte zum *ROBS-Kollektiv* aufzubauen. Somit könnte überprüft werden, ob die CAMP-Serumspiegel in übergewichtigen Patienten und Patientinnen auch bei Untersuchung einer größeren Stichprobe signifikant höher sind als in normalgewichtigen Personen, und ob auch dort analoge Korrelationen mit anthropometrischen und biochemischen Parametern bestehen.

Die Ergebnisse aus der Zellkultur könnten ein Hinweis darauf sein, dass Infektionen des Fettgewebes, durch eine ungünstige Stoffwechsellage und die damit einhergehende Reduktion der CAMP-Expression in den Adipozyten, aggraviert werden. Dies würde sich mit der klinischen Beobachtung decken, dass adipöse Patientinnen und Patienten mit ihrer ungünstigen Stoffwechsellage dazu tendieren, vermehrt an schweren und rezidivierenden Weichteilinfektionen zu erkranken (Sreeramoju et al., 2011; Zhuang et al., 2021).

Da CAMP auf systemischer Ebene mit ungünstigen Stoffwechselfparametern assoziiert ist, könnte es zukünftig möglicherweise als diagnostischer Marker für inflammatorische Erkrankungen dienen. CAMP scheint auf Ebene der Adipozyten im Rahmen einer Adipositas und der damit assoziierten ungünstigen Stoffwechsellage reduziert zu sein und könnte hier möglicherweise in der Therapie schwerer Weichteilinfektionen eingesetzt werden.

4.4 Regulation von CAMP im Verlauf einer einjährigen Gewichtsabnahme durch operative versus konservative Therapie

Untersuchungen in einem solch umfangreichen Patientenkollektiv adipöser Patienten und Patientinnen, in welchem zwei Gewichtsabnahmemethoden verglichen und die Probanden und Probandinnen über ein Jahr verfolgt wurden, sind bislang einzigartig. Bis zum jetzigen Zeitpunkt existiert keine systematische Untersuchung zu Referenzwerten basaler CAMP-Serumproteinspiegel adipöser Patienten und Patientinnen. Auch Auswirkungen eines Gewichtsverlusts auf die CAMP-Serumspiegel sind bislang unerforscht. Durch die vorliegenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die CAMP-Serumproteinspiegel nach *operativer Therapie* mittels bariatrischer Operation bis 3 Monate postoperativ (V3) signifikant ansteigen ($p < 0,001$) (Hochberg et al., 2021). Ein Jahr nach der Operation zeigte sich ein signifikanter Abfall der CAMP-Serumproteinspiegel im Vergleich zum Zeitpunkt V3 ($p = 0,02$), jedoch eine weiterhin bestehende signifikante Zunahme im Vergleich zum Ausgangswert vor der Operation ($p < 0,001$) (Hochberg et al.,

2021). Im Gegensatz hierzu fand sich in der Patientengruppe der *konservativen Therapie* keine signifikante Zunahme der CAMP-Serumspiegel. Die CAMP-Serumspiegel blieben hier über den Zeitraum von einem Jahr auf etwa dem gleichen Niveau. Beide Therapiegruppen haben über ein Jahr hinweg einen deutlichen Gewichtsverlust (operativ: 56,9 kg; konservativ: 30,1 kg) erreichen können. Diese Ergebnisse implizieren einen Effekt auf die CAMP-Serumproteinspiegel, welcher unabhängig von der Gewichtsabnahme selbst sein muss. Stattdessen liegt nahe, dass die Methode der Gewichtsabnahme eine entscheidende Rolle spielen muss. Hier müssen Mechanismen, welche nach bariatrischer Operation, nicht jedoch durch einen Gewichtsverlust mittels niedrigkalorischer Diät auftreten, Einfluss nehmen und die CAMP-Serumproteinspiegel zunächst hochregulieren.

Eine mögliche Erklärung für die beobachteten Unterschiede zwischen den Patientenkohorten könnte der Einfluss von Gallensäuren auf die CAMP-Genexpression sein. Es wurde beobachtet, dass es im Anschluss an Roux-en-Y-Magenbypass Operationen regelmäßig zu einem Anstieg der systemischen Gallensäuren im Serum der Patienten und Patientinnen kommt (Noel et al., 2016; Penney et al., 2015). So konnte eine Arbeit aus dem Jahr 2013 zeigen, dass es bei Patienten und Patientinnen, nachdem 20% des ursprünglichen Startgewichts in Folge eines Roux-en-Y-Magenbypasses abgenommen waren, zu einem Anstieg auf das etwa 2,5-fache der systemischen Gallensäuren im Serum kam (Kohli et al., 2013). Im Tiermodell konnte auch für die Sleeve-Gastrektomie ein solcher Effekt festgestellt werden. So fand sich in Mäusen, die zunächst mit einer hochkalorischen Diät behandelt und anschließend mittels Sleeve-Gastrektomie therapiert wurden, ebenfalls ein signifikanter Anstieg der Nüchtern-Gallensäure-Spiegel im Serum mit Höchstwerten an Tag 14 und Tag 28 postoperativ. Postprandiale Gallensäure-Spiegel blieben sogar bis zum Versuchsende an Tag 60 postoperativ erhöht (Myronovych et al., 2014). Dass Gallensäuren mit dem Adipozytenstoffwechsel interagieren, wird durch die Erkenntnis klar, dass Adipozyten die Gallensäurerezeptoren farnesoid X receptor (FXR) und G-protein-coupled bile acid receptor 1 (GPBAR1 / TGR5) exprimieren (Schmid et al., 2019). Die Hypothese, dass Gallensäuren die CAMP-Genexpression in Adipozyten induzieren und somit für den Anstieg der CAMP-Serumproteinspiegel postoperativ verantwortlich sein könnten, wurde *in vitro* überprüft. Hierfür wurden 3T3-L1-Adipozyten mit verschiedenen Gallensäuren inkubiert. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg der CAMP-Genexpression unter Stimulation mit 1 μM ($p < 0,05$) und 10 μM ($p < 0,01$) α -Tauromuricholsäure. Außerdem ergab sich eine signifikante Steigerung unter Einfluss von 10 μM Taurohyodeoxycholsäure ($p < 0,01$) (Hochberg et al., 2021). Die Hypothese, dass gewisse Gallensäuren einen induzierenden Effekt auf die CAMP-Genexpression haben, konnte bestätigt werden. Dieser Effekt könnte somit eine mögliche

Ursache für den signifikanten Anstieg der CAMP-Serumspiegel der Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* verantwortlich sein und erklären, weshalb dieser induktive Effekt in der Patientengruppe der *konservativen Therapie* nicht beobachtet werden konnte.

Im Zeitraum zwischen V3 und V12 kam es bei den bariatrisch operierten Patienten zu einem signifikanten Rückgang der CAMP-Serumspiegel. Ein möglicher Auslöser hierfür könnte der Einfluss von Inkretinen wie GLP-1 auf die CAMP-Genexpression sein. Ähnlich wie bei den Gallensäuren wurde auch hier in früheren Studien im Anschluss an bariatrische Operationen postprandial ein deutlicher Anstieg der systemischen Inkretin-Spiegel beobachtet, während sich dieser Effekt durch eine niedrigkalorische Diät nicht zeigt (Ionut et al., 2013; Isbell et al., 2010). So konnte in einer Vergleichsstudie adipöser Patienten und Patientinnen, welche ebenfalls in eine operative und eine konservative Therapiegruppe eingeteilt wurden, gezeigt werden, dass es ausschließlich in der operativ versorgten Patientengruppe postprandial zu einem Anstieg der GLP-1-Serumkonzentration kommt. Dieser Effekt war auch 6 Monate postoperativ noch zu beobachten (Campos et al., 2009). Die Hypothese, dass Inkretine wie GLP-1 die CAMP-Genexpression in Adipozyten reduzieren und somit für den Rückgang der CAMP-Serumproteinpiegel postoperativ ab V3 verantwortlich sein könnten, wurde in der Zellkultur überprüft. Hierzu wurden 3T3-L1-Adipozyten mit 100 nM GLP-1 inkubiert. Es zeigte sich eine signifikante Reduktion der CAMP-Genexpression unter dem Einfluss von GLP-1 ($p = 0,007$) (Hochberg et al., 2021). Die Hypothese, dass Inkretine wie GLP-1 einen inhibitorischen Effekt auf die CAMP-Genexpression haben, konnte bestätigt werden. Dieser Effekt könnte somit eine mögliche Ursache für die signifikante Reduktion der CAMP-Serumspiegel ab Zeitpunkt V3 bei den Patienten und Patientinnen der *operativen Therapie* verantwortlich sein und erklären, weshalb dieser inhibitorische Effekt in der Patientengruppe der *konservativen Therapie* nicht beobachtet werden konnte.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden weder die Gallensäuren-Konzentrationen noch die GLP-1-Konzentrationen im Serum der Probanden und Probandinnen der *ROBS-Studie* zu den verschiedenen Zeitpunkten V0, V1, V3 und V12 bestimmt. Im Ausblick auf weiterführende Arbeiten wäre es interessant, die Gallensäure- und Inkretin-Konzentrationen im Serum zu bestimmen und mit den CAMP-Serumspiegeln zu den verschiedenen Zeitpunkten zu korrelieren.

Ein weiterer Aspekt, welcher bei der Betrachtung der Auswirkungen von Gallensäuren und Inkretinen auf die CAMP-Serumspiegel nicht vergessen werden darf, ist die Tatsache, dass CAMP nicht nur von Adipozyten, sondern auch von vielen verschiedenen weiteren Zelltypen exprimiert wird. Die CAMP-Genexpression in den beiden Fettgewebs-

kompartimenten korreliert, wie bereits aufgezeigt, nicht mit den CAMP-Serumprotein-spiegeln. Inwiefern der beobachtete induzierende Effekt auf die CAMP-Serumspiegel im Anschluss an eine bariatrische Operation auf die CAMP-Sekretion durch Adipozyten und auf den Einfluss von Gallensäuren sowie Inkretinen entfällt, bleibt offen. Zur Klärung dieser Frage werden weitere Untersuchungen – auch an anderen Zelltypen – nötig sein.

Ähnlich wie die Ursodeoxycholsäure bereits bei der Behandlung der primär biliären Zirrhose (PBC) und der primär sklerosierenden Cholangitis (PSC) eingesetzt wird, wären zukünftig Medikamente auf Basis von Gallensäuren vorstellbar, welche regulativ auf CAMP wirken und bei inflammatorischen Erkrankungen zum Einsatz kommen könnten.

4.5 Fazit

Zusammenfassend kann aus den Untersuchungen im Rahmen dieser Dissertation abgeleitet werden, dass:

1. die CAMP-Genexpression adipöser Patienten und Patientinnen in subkutanem Fettgewebe signifikant höher ist als in viszeralem. Hier müssen unterschiedliche regulative Mechanismen auf die CAMP-Genexpression je nach Fettgewebskompartiment vermutet werden.
2. sowohl die CAMP-Serumproteinspiegel als auch die CAMP-Genexpression in subkutanem Fettgewebe bei adipösen Frauen signifikant niedriger sind als bei adipösen Männern. Hier müssen regulative Mechanismen, möglicherweise unabhängig von einem direkten Einfluss der Sexualsteroiden, vermutet werden.
3. die Bestimmung basaler CAMP-Serumproteinspiegel in einem großen und gut charakterisierten Kollektiv adipöser Patienten und Patientinnen zur Festlegung von Referenzwerten beitragen kann.
4. CAMP-Konzentrationen bei adipösen Patienten und Patientinnen sowohl auf systemischer als auch auf Ebene der lokalen Genexpression im Fettgewebe positiv mit Parametern einer ungünstigen und negativ mit Parametern einer günstigen Stoffwechsellage korrelieren. *In vitro* wirkt sich auf Ebene der Adipozyten eine ungünstige Stoffwechsellage (vergleichbar zur Situation bei Diabetes mellitus Typ 2) hingegen in einer signifikanten Reduktion der CAMP-Genexpression aus.
5. die CAMP-Serumproteinspiegel adipöser Patienten und Patientinnen nach Therapie mittels bariatrischer Operation ansteigen und über ein Jahr hinweg signifikant erhöht bleiben. Bei Therapie durch eine niedrigkalorische Diät bleiben die

CAMP-Serumspiegel im Verlauf von einem Jahr hingegen nahezu konstant. Hier müssen Einflussfaktoren auf die Regulation von CAMP vermutet werden, welche unabhängig vom Gewichtsverlust selbst sind. Diese Einflussfaktoren sind am ehesten abhängig von der Methode, durch welche die Gewichtsabnahme induziert wird.

4.6 Ausblick

Auf der Grundlage der in dieser Promotionsarbeit erarbeiteten Ergebnisse können weitere Forschungsfragen abgeleitet werden. Langfristig könnten die Erkenntnisse dazu beitragen die Fragen zu klären, ob CAMP als Prädiktor für Adipositas und deren Folgeerkrankungen sowie Entzündungszustände genutzt werden könnte und / oder CAMP als Biomarker Aussagekraft über die vorliegende Stoffwechsellage haben könnte. Auf lange Sicht wäre ein medikamentöser Einsatz zur Regulation von CAMP im Kontext inflammatorischer Erkrankungen vorstellbar. Durch seine antimikrobielle Wirkung wäre auch der Einsatz von CAMP selbst als eine neue Form des lokalen Antibiotikums bei subkutanen bakteriellen Infektionen denkbar. Zur Verfolgung dieser und weiterer Forschungsfragen sind jedoch weitere Untersuchungen zum besseren Verständnis der Funktion und Regulation von CAMP nötig. Hierzu könnten bspw. *in vitro* Versuche an primären murinen und humanen Adipozyten beitragen. In Anlehnung an das *ROBS-Kollektiv* wäre das Etablieren eines Vergleichskollektivs von normalgewichtigen Patienten und Patientinnen interessant.

5 Zusammenfassung

5.1 Zusammenfassung

Das Fettgewebe wird in jüngster Zeit nicht mehr nur als Organ, welches Energie speichert und bereitstellt angesehen, sondern durch die Synthese und Sekretion von sogenannten Adipokinen auch als endokrines Organ. Eines dieser Adipokine ist das antimikrobielle Peptid Cathelicidin (CAMP). Eine 2015 erschienene Publikation im *Science Journal* von Zhang et al. konnte zeigen, dass das Fettgewebe über die Sekretion von CAMP und seine antimikrobielle Wirkung an der Infektabwehr von *Staphylococcus aureus*-Infektionen der Haut beteiligt ist. Klinisch kann beobachtet werden, dass Patienten und Patientinnen mit einer Adipositas ein höheres Risiko für schwere Weichteilinfektionen und postoperative Infektionen aufweisen. Da die Rolle von CAMP im Kontext einer krankhaft gesteigerten Fettmasse weitgehend unklar ist, soll es Ziel dieser Dissertation sein, die Regulation und Funktion von CAMP im Kontext des Fettgewebes und insbesondere der Adipositas näher zu untersuchen. Hierfür wurde im Rahmen der Studie *Research in Obesity and Bariatric Surgery (ROBS)* ein adipöses Patientenkollektiv herangezogen. Ein Gewichtsverlust der Patienten und Patientinnen wurde entweder durch eine bariatrische Operation oder eine niedrigkalorische Diät erzielt und die Probanden und Probandinnen über den Verlauf eines Jahres untersucht. In beiden Therapiegruppen wurden CAMP-Serumproteinspiegel zu festgelegten Zeitpunkten bestimmt und verglichen. Darüber hinaus wurde die CAMP-Genexpression in subkutanem und viszeralem Fettgewebe der Patienten und Patientinnen, welche mittels bariatrischer Operation therapiert wurden, ermittelt. Die im Rahmen der Studie erhobenen anthropometrischen und biochemischen Parameter der Patienten und Patientinnen wurden für verschiedene Korrelationsanalysen herangezogen. Hypothesen, welche auf den beobachteten Ergebnissen aus dem Patientenkollektiv beruhen, wurden in der Adipozyten-Zellkultur überprüft. Es zeigte sich eine signifikant höhere CAMP-Genexpression in subkutanem verglichen mit viszeralem Fettgewebe. Zudem fand sich ein Geschlechtsdimorphismus, der sich kongruent sowohl in den CAMP-Serumproteinspiegeln als auch in der CAMP-Genexpression in subkutanem Fettgewebe zeigte. Die CAMP-Spiegel waren hier bei den adipösen Frauen im Vergleich zu den adipösen Männern signifikant niedriger. In der Zellkultur konnte kein signifikanter Einfluss der Sexualsteroiden Östradiol und Testosteron festgestellt werden. CAMP-Konzentrationen der adipösen Patienten und Patientinnen korrelieren sowohl auf systemischer als auch auf Ebene der Genexpression im

Fettgewebe positiv mit Parametern einer ungünstigen und negativ mit Parametern einer günstigen Stoffwechsellage. Auf Ebene der Adipozyten zeigte sich in der Zellkultur eine signifikante Reduktion der CAMP-Genexpression unter Einfluss hoher Dosen Glukose und Insulin. Die CAMP-Serumproteinspiegel waren nach bariatrischer Operation, nicht jedoch unter niedrigkalorischer Diät, über die Dauer eines Jahres hinweg signifikant erhöht. Dies lässt einen Mechanismus, welcher unabhängig vom Gewichtsverlust selbst ist, vermuten. Da die Gallensäurekonzentrationen im Serum im Anschluss an eine bariatrische Operation regelhaft ansteigen, wurde deren Effekt auf die CAMP-Genexpression in der Zellkultur untersucht. Es bestätigte sich eine signifikante Induktion der CAMP-Genexpression durch Einfluss einzelner Gallensäuren.

Das Fettgewebe stellt durch CAMP und seine antimikrobielle Wirkung eine Schnittstelle zwischen metabolischem und immunologischem Organ dar. Durch ein besseres Verständnis seiner Regulation und Funktion könnte CAMP zukünftig als diagnostischer Marker für systemische Entzündungszustände, wie sie die Adipositas darstellt, dienen. Darüber hinaus ist auch ein therapeutischer Einsatz von Medikamenten, welche CAMP regulieren, denkbar.

5.2 Summary

Adipose tissue is no longer only considered to be an organ that stores and provides energy, but through the synthesis and secretion of so-called adipokines also as an endocrine and immunological organ. One adipokine with immunomodulatory function is cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP). In 2015 a publication in the *Science Journal* by Zhang et al. was able to demonstrate that adipose tissue is involved in host defence against *Staphylococcus aureus* infections of the skin by the secretion of CAMP and its antimicrobial effects. In a clinical context it is observed that patients suffering from obesity have a higher risk of severe soft tissue infections and postsurgical infections. Since the role of CAMP in morbidly increased fat mass is largely unclear, the aim of this thesis is to further investigate the regulation and function of CAMP in the context of adipose tissue and obesity. A cohort of obese patients was established as a part of the study *Research in Obesity and Bariatric Surgery (ROBS)*. Significant weight loss of the patients was induced either by bariatric surgery or low-calorie diet and the study subjects were studied over the course of one year. In both treatment groups, CAMP serum levels were determined and compared at prespecified time points. Furthermore, CAMP gene expression was investigated in subcutaneous and visceral adipose tissue of patients treated by bariatric surgery. Anthropometric and biochemical parameters of the patients were

assessed during the study and were used for various correlation analyses. Hypotheses based on data from the clinical cohort were tested in adipocyte cell culture. There was a significantly higher CAMP gene expression in subcutaneous compared with visceral adipose tissue. In addition, a sexual dimorphism was found congruently both in CAMP serum levels and CAMP gene expression in subcutaneous adipose tissue. CAMP levels were significantly lower in obese females compared with obese males. In cell culture, no significant impact of the sex hormones estradiol and testosterone was detected. CAMP concentrations of obese patients were correlated positively with parameters of an unfavorable metabolic state and negatively with parameters of a favorable metabolic state, both at the systemic level and at the level of local gene expression in adipose tissue. At the adipocyte level, cell culture showed a significant reduction of CAMP gene expression under the presence of high doses of glucose and insulin. CAMP serum levels were significantly elevated after bariatric surgery but not under low-calorie diet over the course of one year. This suggests a mechanism which is independent of weight loss itself. Since serum bile acid concentrations regularly increase following bariatric surgery, their effect on CAMP gene expression was investigated in cell culture. A significant induction of CAMP gene expression by the influence of certain bile acids was confirmed.

Through CAMP and its antimicrobial effects, adipose tissue represents an interface between metabolism and immune system. With a better understanding of its regulation and function, CAMP may in the future serve as a diagnostic marker for systemic inflammation, as it is represented by obesity. In addition, the therapeutic use of drugs that regulate CAMP is also conceivable.

6 Abkürzungsverzeichnis

AT	adipose tissue = Fettgewebe
BMI	Body Mass Index
BSA	Bovines Serumalbumin
°C	Grad Celsius
ca	circa
CA	Cholsäure
CAMP	cathelicidin antimicrobial peptide
cDNA	komplementäre Desoxiribonukleinsäure
C/EBP	CCAAT-enhancer binding protein
CTRP	C1q/TNF-related proteins
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CRP	C-reaktives Peptid
CSF-1	Kolonie-stimulierender Faktor-1
Ctrl	Kontrolle
d	Tag
DCA	Desoxycholsäure
dl	Deziliter
DMSO	Dimethylsulfoxide
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
eGFR	estimated Glomerular Filtration Rate
EGR2	early growth response 2
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
Est.	Östradiol
et al.	und andere
EtOH	Ethanol
FCS	Fetal Calf Serum
for.	forward
FXR	farnesoid X receptor
g	Gramm
GAPDH	Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase
gDNA	genomische Desoxyribonukleinsäure
Glc	Glukose

GLP-1	Glucagon-like Peptide-1
GPBAR-1.....	G-protein-coupled bile acid receptor 1
h	Stunde
H ₂ O.....	Wasser
hCAMP	human cathelicidin antimicrobial peptide
HDL	High Density Lipoprotein
hGAPDH.....	humanes Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase
IBMX.....	Isobutylmethylxanthin
IL	Interleukin
Ins.	Insulin
INT	Iodnitrotetrazoliumchlorid
kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
KLF	krueppel-like transcription factor
l	Liter
LDH	Laktat-Dehydrogenase
LDL	Low Density Lipoprotein
LL-37	humanes Cathelicidin
Lp(a)	Lipoprotein(a)
LPS.....	Lipopolysaccharid
m	Meter
MALP	Makrophagen-aktivierendes-Lipopeptid
mCAMP	murine cathelicidin antimicrobial peptide
MCP-1	Makrophagen-Chemoattraktorprotein-1
mg	Milligramm
mGAPDH.....	murines Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase
min.....	Minute
ml.....	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mRNA.....	messenger Ribonukleinsäure
mU	Milliunits
n	Stichprobengröße
NAD+	oxidiertes Nikotinamidadenindinukleotid
NADH/H+	reduziertes Nikotinamidadenindinukleotid
NaHCO ³	Natriumhydrogencarbonat

NCS	Newborn Calf Serum
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
nM	Nanomolar
n. s.	nicht signifikant
OD	optische Dichte
OGTT	oraler Glukosetoleranztest
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit
PAMP	Pathogen-assoziierte molukulare Muster
pg	Pikogramm
PPAR	peroxisome proliferator activated receptor
PPRE	PPAR response elements
Pref-1	preadipocyte factor-1
PRR	pattern-recognition receptor
P/S	Penicillin-Streptomycin
qPCR	quantitative Polymerase-Kettenreaktion
rev.	reverse
rho	Korrelationskoeffizient
RLT	RNeasy Lysis Buffer
RNA	Ribonukleinsäure
ROBS	Research and Registry in Obesity and Bariatric Surgery
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Reverse Transkription
RXR	retinoid X receptor
S. aureus	Staphylokokkus aureus
sc	subkutan
sec	Sekunde
SEM	mittlerer Standardfehler
sog	sogenannt
SVF	Stromal Vascular Fraction
TDCA	Taurodeoxycholsäure
Test.	Testosteron
TGF	transforming growth factor
THDCA	Taurohyodeoxycholsäure
TLR	Toll-like-Rezeptor
T _M	Schmelztemperatur
TMCA	Tauromuricholsäure

TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
V	Visite
vis	viszeral
W/V Puffer	Waschpuffer / Verdünnungspuffer
z. B.	zum Beispiel
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
μM	Mikromolar

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung eines weißen Adipozyten	5
Abbildung 2: Schematische Darstellung der bei der Differenzierung zu reifen Adipozyten mitwirkenden Transkriptionsfaktoren.....	6
Abbildung 3: Arbeitsablauf der ROBS-Studie.....	12
Abbildung 4: Bariatrische Chirurgie: (a) Roux-en-Y-Magenbypass (RYGB); (b) vertikale Sleeve-Gastrektomie (VSG)	17
Abbildung 5: Differenzierung muriner 3T3-L1-Fibroblasten zu reifen Adipozyten.....	30
Abbildung 6: Genexpression von CAMP in subkutanem und viszeralem Fettgewebe schwer adipöser Patienten und Patientinnen des ROBS-Kollektivs	38
Abbildung 7: Genexpression von CAMP in subkutanem Fettgewebe schwer adipöser Frauen und Männer des ROBS-Kollektivs	39
Abbildung 8: Genexpression von CAMP in viszeralem Fettgewebe schwer adipöser Frauen und Männer des ROBS-Kollektivs	40
Abbildung 9: Serumproteinspiegel von CAMP im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme der Patienten und Patientinnen des ROBS-Kollektivs: bariatrische Operation zum Zeitpunkt V0, V1, V3 und V12	46
Abbildung 10: Korrelationsanalyse der CAMP-Genexpressionslevel in jeweils subkutanem (a) und viszeralem (b) Fettgewebe mit den CAMP-Serumproteinspiegeln der Patienten und Patientinnen des ROBS-Kollektivs	47
Abbildung 11: Serumproteinspiegel von CAMP im zeitlichen Verlauf der Gewichtsabnahme der Patienten und Patientinnen des ROBS-Kollektivs: niedrigkalorische Diät zum Zeitpunkt V0, V3 und V12	51
Abbildung 12: Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten nach Stimulation mit jeweils niedrig- und hochkonzentriertem Testosteron und Östradiol, Kontrollansatz mit Ethanol für Testosteron und Wasser für Östradiol	53

Abbildung 13: Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten nach Stimulation mit niedrig- (0,2 nM) und hochkonzentriertem Insulin (2 nM) und hochkonzentrierter Glukose (25 mM) sowie in Kombination, Kontrollansatz mit normalkonzentrierter Glukose (5,6 mM).....	54
Abbildung 14: Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten nach Stimulation mit verschiedenen Gallensäuren, Kontrollansatz mit DMSO	56
Abbildung 15: Genexpression von CAMP in 3T3-L1-Adipozyten nach Stimulation mit GLP-1, Kontrollansatz mit Wasser	57

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der Adipositas	1
Tabelle 2: Folgeerkrankungen von Adipositas	2
Tabelle 3: Definitionen des Metabolischen Syndroms	3
Tabelle 4: Erhobene Parameter von Patienten und Patientinnen zum Zeitpunkt V0 und V12 im Rahmen der ROBS-Studie.....	15
Tabelle 5: Studiencharakteristika des ROBS-Kollektivs: operative Therapie.....	37
Tabelle 6: Analyse der CAMP-Serumproteinspiegel zum Zeitpunkt V0 und V12 nach Therapie mittels bariatrischer Operation	41
Tabelle 7: Korrelationsanalyse der basalen CAMP-Serumproteinspiegel (a) und der CAMP-Genexpression in subkutanem (b) und viszeralem Fettgewebe (c) mit anthropometrischen und biochemischen Parametern.....	42
Tabelle 8: Korrelationsanalyse der Veränderungen anthropometrischer und biochemischer Parameter nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels bariatrischer Operation und den basalen CAMP-Serumproteinspiegeln (a) und den Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (b)	44
Tabelle 9: Studiencharakteristika des ROBS-Kollektivs: konservative Therapie	48
Tabelle 10: Analyse der CAMP-Serumproteinspiegel zum Zeitpunkt V0 und V12 nach Therapie mittels niedrigkalorischer Diät	49
Tabelle 11: Korrelationsanalyse der Veränderungen anthropometrischer und biochemischer Parameter nach 12 Monaten Gewichtsabnahme mittels niedrigkalorischer Diät und den basalen CAMP-Serumproteinspiegeln (a) und den Veränderungen der CAMP-Serumproteinspiegel (b)	50

9 Literaturverzeichnis

- Alberti, K., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J. C., James, W. P. T., Loria, C. M. & Smith, S. C. (2009). Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation*, 120(16), 1640-1645.
<https://doi.org/10.1161/circulationaha.109.192644>
- Asklepios Klinik Lich. (o. D.). *Adipositaschirurgie*. Abgerufen am 02. Mai 2022 von <https://www.asklepios.com/lich/experten/allgemeinchirurgie/adipositaschirurgie/>
- Billmann, F., & Keck, T. (2016). *Facharztwissen Visceral- und Allgemeinchirurgie*. Berlin: Springer.
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-48308-4>
- Blüher, M. (2013). Importance of adipokines in glucose homeostasis. *Diabetes Management*, 3(5), 389-400.
<https://doi.org/10.2217/dmt.13.35>
- 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. *Clinical Endocrinology*, 91(3), 400-410.
<https://doi.org/10.1111/cen.14040>
- Brubaker, S. W., Bonham, K. S., Zanoni, I. & Kagan, J. C. (2015). Innate Immune Pattern Recognition: A Cell Biological Perspective. *Annual Review of Immunology*, 33(1), 257-290.
<https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112240>
- Campos, G. M., Rabl, C., Peeva, S., Ciovica, R., Rao, M., Schwarz, J. M., Havel, P., Schambelan, M. & Mulligan, K. (2009). Improvement in Peripheral Glucose Uptake After Gastric Bypass Surgery Is Observed Only After Substantial Weight Loss Has Occurred and Correlates with the Magnitude of Weight Lost. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 14(1), 15-23.
<https://doi.org/10.1007/s11605-009-1060-y>
- Cancello, R., Henegar, C., Viguier, N., Taleb, S., Poitou, C., Rouault, C., Coupaye, M., Pelloux, V., Hugol, D., Bouillot, J. L., Bouloumié, A., Barbatelli, G., Cinti, S., Svensson, P. A., Barsh, G. S., Zucker, J. D., Basdevant, A., Langin, D. & Clément, K. (2005). Reduction of Macrophage Infiltration and Chemoattractant Gene Expression Changes in White Adipose Tissue of Morbidly Obese Subjects After Surgery-Induced Weight Loss. *Diabetes*, 54(8), 2277-2286.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.54.8.2277>
- Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., Wang, S., Fortier, M., Greenberg, A. S. & Obin, M. S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *Journal of Lipid Research*, 46(11), 2347-2355.
<https://doi.org/10.1194/jlr.m500294-jlr200>

- Dürr, U. H., Sudheendra, U. & Ramamoorthy, A. (2006). LL-37, the only human member of the cathelicidin family of antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1758(9), 1408-1425.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.03.030>
- De Smet, K. & Contreras, R. (2005). Human Antimicrobial Peptides: Defensins, Cathelicidins and Histatins. *Biotechnology Letters*, 27(18), 1337-1347.
<https://doi.org/10.1007/s10529-005-0936-5>
- Destatis Statistisches Bundesamt. (2021). *Europa: Mehr als die Hälfte der Erwachsenen hat Übergewicht*. Abgerufen am 09. April 2022 von <https://www.destatis.de/Europa/DE/Thema/Bevoelkerung-Arbeit-Soziales/Gesundheit/Uebergewicht.html>
- Destatis Statistisches Bundesamt. (2022). *Krankheitskosten: Deutschland, Jahre, Krankheitsdiagnosen (ICD-10), Geschlecht, Altersgruppen*. Abgerufen am 24. April 2022 von <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?sequenz=tabelleErgebnis&selectionname=23631-0003&sachmerkmal=ICD10Y&sachschluessel=ICD10-E65-E68&transponieren=true#abreadcrumb>
- Deutsche Adipositas-Gesellschaft e.V. (2014). Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur „Prävention und Therapie der Adipositas“. In *AWMF online* (Registernummer 050-001).
- Deutsche Diabetes-Stiftung. (2011). Leitfaden Prävention Diabetes. In *Edition Lipp*.
- Deutsche Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie e.V. (DGAV). (2018). Chirurgie der Adipositas und metabolischer Erkrankungen. In *AWMF online* (Registernummer 088-001).
- Engeli, S., Gorzelniak, K., Kreutz, R., Runkel, N., Distler, A. & Sharma, A. M. (1999). Co-expression of renin-angiotensin system genes in human adipose tissue. *Journal of Hypertension*, 17(4), 555-560.
<https://doi.org/10.1097/00004872-199917040-00014>
- Eurostat. (24. Februar 2022). *BMI nach Geschlecht, Alter und Bildungsabschluss*. Abgerufen am 02. April 2022 von https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/HLTH_EHIS_BM1E__custom_1239277/bookmark/table?lang=de&bookmarkId=9788b851-2313-410c-9a8a-5a03c0f068e9
- Farkhondeh, T., Llorens, S., Pourbagher-Shahri, A. M., Ashrafizadeh, M., Talebi, M., Shakibaei, M. & Samarghandian, S. (2020). An Overview of the Role of Adipokines in Cardiometabolic Diseases. *Molecules*, 25(21), 5218.
<https://doi.org/10.3390/molecules25215218>
- Fried, S. K., Bunkin, D. A. & Greenberg, A. S. (1998). Omental and Subcutaneous Adipose Tissues of Obese Subjects Release Interleukin-6: Depot Difference and Regulation by Glucocorticoid¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 83(3), 847-850.
<https://doi.org/10.1210/jcem.83.3.4660>
- Gioannini, T. L. & Weiss, J. P. (2007). Regulation of interactions of Gram-negative bacterial endotoxins with mammalian cells. *Immunologic Research*, 39(1–3), 249-260.
<https://doi.org/10.1007/s12026-007-0069-0>

- Höpfinger, A., Karrasch, T., Schäffler, A. & Schmid, A. (2021). Regulation of CAMP (cathelicidin antimicrobial peptide) expression in adipocytes by TLR 2 and 4. *Innate Immunity*, 27(2), 184-191.
<https://doi.org/10.1177/1753425920988167>
- Hochberg, A., Patz, M., Karrasch, T., Schäffler, A. & Schmid, A. (2021). Serum Levels and Adipose Tissue Gene Expression of Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) in Obesity and During Weight Loss. *Hormone and Metabolic Research*, 53(03), 169-177.
<https://doi.org/10.1055/a-1323-3050>
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860-867.
<https://doi.org/10.1038/nature05485>
- Hotamisligil, G. S. (2017). Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*, 542(7640), 177–185.
<https://doi.org/10.1038/nature21363>
- Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S. & Spiegelman, B. M. (1993). Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor- α : Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance. *Science*, 259(5091), 87-91.
<https://doi.org/10.1126/science.7678183>
- Ionut, V., Burch, M., Youdim, A. & Bergman, R. N. (2013). Gastrointestinal hormones and bariatric surgery-induced weight loss. *Obesity*, 21(6), 1093-1103.
<https://doi.org/10.1002/oby.20364>
- Isbell, J. M., Tamboli, R. A., Hansen, E. N., Saliba, J., Dunn, J. P., Phillips, S. E., Marks-Shulman, P. A. & Abumrad, N. N. (2010). The Importance of Caloric Restriction in the Early Improvements in Insulin Sensitivity After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery. *Diabetes Care*, 33(7), 1438-1442.
<https://doi.org/10.2337/dc09-2107>
- Kawai, T., Autieri, M. V. & Scalia, R. (2021). Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 320(3), C375-C391.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00379.2020>
- Kern, P. A., Saghizadeh, M., Ong, J. M., Bosch, R. J., Deem, R. & Simsolo, R. B. (1995). The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *Journal of Clinical Investigation*, 95(5), 2111-2119.
<https://doi.org/10.1172/jci117899>
- Kershaw, E. E. & Flier, J. S. (2004). Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(6), 2548-2556.
<https://doi.org/10.1210/jc.2004-0395>
- Kohli, R., Bradley, D., Setchell, K. D., Eagon, J. C., Abumrad, N. & Klein, S. (2013). Weight Loss Induced by Roux-en-Y Gastric Bypass But Not Laparoscopic Adjustable Gastric Banding Increases Circulating Bile Acids. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(4), E708-E712.
<https://doi.org/10.1210/jc.2012-3736>

- Kopp, A., Buechler, C., Neumeier, M., Weigert, J., Aslanidis, C., Schölmerich, J. & Schäffler, A. (2009). Innate Immunity and Adipocyte Function: Ligand-specific Activation of Multiple Toll-like Receptors Modulates Cytokine, Adipokine, and Chemokine Secretion in Adipocytes. *Obesity*, 17(4), 648-656.
<https://doi.org/10.1038/oby.2008.607>
- Kozawa, J. & Shimomura, I. (2021). Ectopic Fat Accumulation in Pancreas and Heart. *Journal of Clinical Medicine*, 10(6), 1326.
<https://doi.org/10.3390/jcm10061326>
- Lüllmann-Rauch, R. & Asan, E. (2019). *Taschenlehrbuch Histologie: Mit Online-Zugang (Taschenlehrbuch Biologie)* (6., vollständig überarbeitete). Thieme.
- Lee, E. Y., Lee, M. W. & Wong, G. C. (2019). Modulation of toll-like receptor signaling by antimicrobial peptides. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 88, 173-184.
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.02.002>
- Lee, J. J., Pedley, A., Hoffmann, U., Massaro, J. M., Levy, D. & Long, M. T. (2018). Visceral and Intrahepatic Fat Are Associated with Cardiometabolic Risk Factors Above Other Ectopic Fat Depots: The Framingham Heart Study. *The American Journal of Medicine*, 131(6), 684-692.e12.
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2018.02.002>
- Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G. A., Beguinot, F. & Miele, C. (2019). Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2358.
<https://doi.org/10.3390/ijms20092358>
- Lumeng, C. N., Bodzin, J. L. & Saltiel, A. R. (2007). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *Journal of Clinical Investigation*, 117(1), 175-184.
<https://doi.org/10.1172/JCI29881>
- Mechanick, J. I., Zhao, S. & Garvey, W. T. (2018). Leptin, An Adipokine With Central Importance in the Global Obesity Problem. *Global Heart*, 13(2), 113.
<https://doi.org/10.1016/j.gheart.2017.10.003>
- Murano, I., Barbatelli, G., Parisani, V., Latini, C., Muzzonigro, G., Castellucci, M. & Cinti, S. (2008). Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. *Journal of Lipid Research*, 49(7), 1562-1568.
<https://doi.org/10.1194/jlr.m800019-jlr200>
- Myronovych, A., Kirby, M., Ryan, K. K., Zhang, W., Jha, P., Setchell, K. D., Dexheimer, P. J., Aronow, B., Seeley, R. J. & Kohli, R. (2013). Vertical sleeve gastrectomy reduces hepatic steatosis while increasing serum bile acids in a weight-loss-independent manner. *Obesity*, 22(2), 390-400.
<https://doi.org/10.1002/oby.20548>

- Noel, O. F., Still, C. D., Argyropoulos, G., Edwards, M. & Gerhard, G. S. (2016). Bile Acids, FXR, and Metabolic Effects of Bariatric Surgery. *Journal of Obesity*, 2016, 1-8.
<https://doi.org/10.1155/2016/4390254>
- Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T. & Isenovic, E. R. (2021). Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Frontiers in Endocrinology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.585887>
- Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J. & Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*, 11(2), 85-97.
<https://doi.org/10.1038/nri2921>
- Penney, N. C., Kinross, J., Newton, R. C. & Purkayastha, S. (2015). The role of bile acids in reducing the metabolic complications of obesity after bariatric surgery: a systematic review. *International Journal of Obesity*, 39(11), 1565-1574.
<https://doi.org/10.1038/ijo.2015.115>
- Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R., Mosca, J. D., Moorman, M. A., Simonetti, D. W., Craig, S. & Marshak, D. R. (1999). Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Science*, 284(5411), 143-147.
<https://doi.org/10.1126/science.284.5411.143>
- Sørensen, O. E., Follin, P., Johnsen, A. H., Calafat, J., Tjabringa, G. S., Hiemstra, P. S. & Borregaard, N. (2001). Human cathelicidin, hCAP-18, is processed to the antimicrobial peptide LL-37 by extracellular cleavage with proteinase 3. *Blood*, 97(12), 3951-3959.
<https://doi.org/10.1182/blood.v97.12.3951>
- Samaras, K., Botelho, N. K., Chisholm, D. J. & Lord, R. V. (2010). Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue Gene Expression of Serum Adipokines That Predict Type 2 Diabetes. *Obesity*, 18(5), 884-889.
<https://doi.org/10.1038/oby.2009.443>
- Schäffler, A. (2022). Rolle der Metaflammation als systemische Manifestation bei Stoffwechselerkrankungen. *Die Innere Medizin*, 64(4), 313–322.
<https://doi.org/10.1007/s00108-022-01416-7>
- Schäffler, A. & Buechler, C. (2012). CTRP family: linking immunity to metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 23(4), 194–204.
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2011.12.003>
- Schäffler, A. & Herfarth H. (2005). Creeping fat in Crohn's disease: travelling in a creeper lane of research? *Gut*, 54(6), 742-744.
<https://doi.org/10.1136/gut.2004.061531>
- Schäffler, A., Müller-Ladner, U., Schölmerich, J. & Büchler, C. (2006). Role of Adipose Tissue as an Inflammatory Organ in Human Diseases. *Endocrine Reviews*, 27(5), 449-467.
<https://doi.org/10.1210/er.2005-0022>

- Schäffler, A., Schölmerich, J. & Salzberger, B. (2007). Adipose tissue as an immunological organ: Toll-like receptors, C1q/TNFs and CTRPs. *Trends in Immunology*, 28(9), 393–399.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2007.07.003>
- Schmid, A., Karrasch, T., Thomalla, M., Schlegel, J., Salzberger, B., Schäffler, A. & Hanses, F. (2017). Innate Immunity of Adipose Tissue in Rodent Models of Local and Systemic *Staphylococcus aureus* Infection. *Mediators of Inflammation*, 2017, 1–13.
<https://doi.org/10.1155/2017/5315602>
- Schmid, A., Schlegel, J., Thomalla, M., Karrasch, T. & Schäffler, A. (2019). Evidence of functional bile acid signaling pathways in adipocytes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 483, 1–10.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.12.006>
- Scott, M. G., Davidson, D. J., Gold, M. R., Bowdish, D. & Hancock, R. E. W. (2002). The Human Antimicrobial Peptide LL-37 Is a Multifunctional Modulator of Innate Immune Responses. *The Journal of Immunology*, 169(7), 3883–3891.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.7.3883>
- Shapouri-Moghaddam, A., Mohammadian, S., Vazini, H., Taghadosi, M., Esmaeili, S., Mardani, F., Seifi, B., Mohammadi, A., Afshari, J. T. & Sahebkar, A. (2018). Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of Cellular Physiology*, 233(9), 6425–6440.
<https://doi.org/10.1002/jcp.26429>
- Sreeramoju, P., Porbandarwalla, N. S., Arango, J., Latham, K., Dent, D. L., Stewart, R. M. & Patterson, J. E. (2011). Recurrent skin and soft tissue infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* requiring operative debridement. *The American Journal of Surgery*, 201(2), 216–220.
<https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2009.12.024>
- Statista. (21. Juni 2016). *Direkte und indirekte Kosten für Adipositas (Fettleibigkeit) in Deutschland im Jahr 2015*. Abgerufen am 15. April 2022 von <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/593247/umfrage/direkte-und-indirekte-kosten-fuer-adipositas-in-deutschland/>
- Weisberg, S., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R., & Ferrante, A. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1796–808.
<https://doi.org/10.1172/JCI19246>
- World Health Organization. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. In *WHO technical report series*; 894.
- World Health Organization. (09. Juni 2021). *Obesity and overweight - Key facts*. Abgerufen am 15. April 2022 von <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

- Xhindoli, D., Pacor, S., Benincasa, M., Scocchi, M., Gennaro, R. & Tossi, A. (2016). The human cathelicidin LL-37 – A pore-forming antibacterial peptide and host-cell modulator. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1858(3), 546-566.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.11.003>
- Yamauchi, T. & Kadowaki, T. (2013). Adiponectin Receptor as a Key Player in Healthy Longevity and Obesity-Related Diseases. *Cell Metabolism*, 17(2), 185-196.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.01.001>
- Zhang, L. J., Guerrero-Juarez, C. F., Chen, S. X., Zhang, X., Yin, M., Li, F., Wu, S., Chen, J., Li, M., Liu, Y., Jiang, S. I. B., Hata, T., Plikus, M. V. & Gallo, R. L. (2021). Diet-induced obesity promotes infection by impairment of the innate antimicrobial defense function of dermal adipocyte progenitors. *Science Translational Medicine*, 13(577).
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abb5280>
- Zhang, L. J., Guerrero-Juarez, C. F., Hata, T., Bapat, S. P., Ramos, R., Plikus, M. V. & Gallo, R. L. (2015). Dermal adipocytes protect against invasive *Staphylococcus aureus* skin infection. *Science*, 347(6217), 67-71.
<https://doi.org/10.1126/science.1260972>
- Zhuang, T., Shapiro, L. M., Fogel, N., Richard, M. J., Gardner, M. J. & Kamal, R. N. (2021). Perioperative Laboratory Markers as Risk Factors for Surgical Site Infection After Elective Hand Surgery. *The Journal of Hand Surgery*, 46(8), 675-684.
<https://doi.org/10.1016/j.jhsa.2021.04.001>

10 Publikationsverzeichnis

10.1 Eigene Publikationen

Hochberg, A., **Patz, M.**, Karrasch, T., Schäffler, A., & Schmid, A. (2021). Serum Levels and Adipose Tissue Gene Expression of Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) in Obesity and During Weight Loss. *Hormone and Metabolic Research*, 53(03), 169-177.

<https://doi.org/10.1055/a-1323-3050>

Schmid, A., Gehl, J., Thomalla, M., Hochberg, A., Kreiß, A., **Patz, M.**, Karrsch, T., Schäffler, A. (2020). Downregulation of CTRP-3 by Weight Loss In Vivo and by Bile Acids and Incretins in Adipocytes In Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8168.

<https://doi.org/10.3390/ijms21218168>

Schmid, A., Hochberg, A., Kreiß, A., Gehl, J., **Patz, M.**, Thomalla, M., Hanses, F., Karrasch, T., Schäffler, A. (2020). Role of progranulin in adipose tissue innate immunity. *Cytokine*, 125, 154796.

<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154796>

10.2 Postervorträge

Patz, M. (2019). *Cathelicidin and its Metabolic Role in Adipose Tissue and Adipocytes* (von A. Hochberg, A. Schmid, J. U. Albrecht, T. Karrasch & A. Schäffler). 3. Science Day der Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen, Deutschland.

11 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, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. 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

12 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich gerne herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Andreas Schäffler und Herrn Dr. med. Thomas Karrasch für die Aufnahme und Betreuung in der Arbeitsgruppe der Molekularen Endokrinologie bedanken. Hier war mir insbesondere auch Herr Dr. rer. nat. Andreas Schmid eine große Unterstützung, der mir stets mit Rat und Tat im Labor und bei der Erstellung dieser Dissertation zur Seite stand. Vielen Dank für den kompetenten, geduldigen und wertschätzenden Austausch!

Ich bedanke mich bei Herrn Dr. med. Jens Uwe Albrecht für die Entnahme der Fettgewebsproben während der bariatrischen Operationen im Rahmen der *ROBS-Studie*. Darüber hinaus danke ich den Mitarbeitenden der endokrinologischen Ambulanz der Uniklinik Gießen für die regelmäßigen Serumentnahmen der Probanden und Probandinnen, sowie für die medizinische Betreuung dieser. Ein großer Dank geht auch an die Ernährungsberater und -beraterinnen der Uniklinik Gießen, welche die Patienten und Patientinnen der *konservativen Therapie* betreuten.

Ganz besonders herzlich bedanke ich mich bei unserer Labor-technischen Assistentin Lisa Knüpfer, die mich nicht nur kompetent in die Laborarbeit eingeführt hat, sondern mir inzwischen seit vielen Jahren auch als eine meiner engsten Freundinnen zur Seite steht. Auch meiner Doktoranden-Kollegin Franziska Kreiß danke ich für die großartige Zusammenarbeit, die gegenseitige Unterstützung und die Frustrationstoleranz, wenn mal wieder ein Versuch schief lief. Ihr zwei seid wohl das Wertvollste, was ich aus der Zeit als Doktorandin mitnehmen durfte. Vielen Dank!

Ein großes Dankeschön geht außerdem an all meine Freunde, die im Laufe der letzten 5 Jahre an mein Durchhaltevermögen appelliert haben. Ich danke insbesondere meinem Partner Fabian Eidt für seine liebevolle Unterstützung in der Zeit des Schreibens, dass der Kühlschrank stets gefüllt war und er mich auch hin und wieder mal mit „dem Leben da draußen“ vom Schreibtisch weggelockt hat.

Der größte Dank geht jedoch an meine Familie und insbesondere meine Eltern Suleika und Andreas Patz, die mir nicht nur das Studium ermöglicht haben, sondern mir darüber hinaus auch in jeder Lebenslage die größte Unterstützung sind. Es ist pures Glück zu wissen, dass ich euch - egal was da kommt - an meiner Seite weiß! DANKE!