

Diplomarbeit

***Die endokrine Funktion des Fettgewebes
unter besonderer Betrachtung von Visfatin/PBEF/NAMPT
bei Diabetes mellitus Typ I im Kindes- und Jugendalter***

eingereicht von

Simon Ueberschaar

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

unter der Anleitung von

ao. Prof. Dr. Siegfried Gallistl

OA Dr. Julia Höntzsch

Graz, Juli 2014

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen kenntlich gemacht habe.

Graz, am 02. Juli 2014

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei meinen Betreuern Herrn Professor Dr. Siegfried Gallistl und Frau OA Dr. Julia Höntzsch für ihre Unterstützung bei der Erstellung meiner Abschlussarbeit bedanken. Eine besondere Erfahrung verbinde ich mit der Vorstellung dieser Arbeit in Form eines Postervortrages auf dem Kongress der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde in Salzburg.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, die mir immer Rückhalt gegeben und mich bei all meinen Plänen unterstützt hat. Meine liebe Freundin Anna hat mit ihrer unbeschwerten Art für den nötigen Beistand an meiner Seite gesorgt. Danken möchte ich auch meinen Freunden und Studienkollegen, mit denen ich viele unvergessliche Momente teile. All das lässt mich auf eine schöne und abwechslungsreiche Studienzeit in Graz zurückblicken.

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	VI
2	Abstract.....	VII
3	Abkürzungsverzeichnis	VIII
4	Tabellenverzeichnis	XII
5	Abbildungsverzeichnis	XIII
6	Hintergrund und Zielsetzung.....	1
7	Das Fettgewebe als endokrines Organ.....	2
7.1	Adipokine	6
7.1.1	Leptin.....	6
7.1.2	Adiponectin.....	7
7.1.3	Resistin.....	8
7.1.4	Apelin.....	9
7.1.5	Vaspin.....	10
7.1.6	Omentin	10
7.1.7	Zytokine	11
8	Visfatin/PBEF/NAMPT	13
8.1	Gen und Genvariationen	14
8.2	Genexpression	15
8.3	Struktur.....	18
8.4	Sekretion	19
8.5	Rezeptoren und Signalwege	20
8.6	Funktion	21
8.6.1	Visfatin/PBEF/NAMPT und Immunregulation	22
8.6.2	Visfatin/PBEF/NAMPT und Glukosehomöostase	23
8.6.3	Visfatin/PBEF/NAMPT und NAD-Synthese	25

8.7	Visfatin/PBEF/NAMPT unter pathophysiologischen Gesichtspunkten	31
8.7.1	Visfatin/PBEF/NAMPT bei Stoffwechselkrankheiten.....	31
8.7.2	Visfatin/PBEF/NAMPT und kardio- / cerebrovaskuläre Erkrankungen	35
8.7.3	Visfatin/PBEF/NAMPT und chronisch entzündliche Erkrankungen....	36
8.7.4	Visfatin/PBEF/NAMPT und Krebs.....	37
8.8	Visfatin/PBEF/NAMPT und β -Zellfunktion	37
8.9	Visfatin/PBEF/NAMPT und Diabetes mellitus Typ I	40
8.9.1	Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1.....	43
8.9.2	Visfatin/PBEF/NAMPT und demografische Parameter bei DM1	44
8.9.3	Visfatin/PBEF/NAMPT und Erkrankungsdauer bei DM1.....	45
8.9.4	Visfatin/PBEF/NAMPT und Blutzuckerkontrollparameter bei DM1	46
8.9.5	Visfatin/PBEF/NAMPT und Insulin-Dosis bei DM1	46
8.9.6	Visfatin/PBEF/NAMPT und Lipidprofilparameter bei DM1	47
8.9.7	Interpretationen der Studienautoren	47
9	Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 im Kindes- und Jugendalter	50
9.1	Material und Methoden.....	51
9.1.1	Fragestellungen	51
9.1.2	Zielgrößen	51
9.1.3	Fallzahlplanung.....	52
9.1.4	Ausschlusskriterien	52
9.1.5	Studienteilnehmer.....	52
9.1.6	Durchführung	53
9.1.7	Datensammlung.....	54
9.1.8	Datenauswertung.....	54
9.2	Studienergebnisse.....	55
9.2.1	Deskriptive Statistik	56
	<i>Analyse der Sekundärzielgrößen in der DM1-Gruppe.....</i>	<i>58</i>

9.2.2	Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel im Gruppenvergleich	58
9.2.3	Einfluss demografischer Parameter auf Visfatin/PBEF/NAMPT	59
	<i>Visfatin/PBEF/NAMPT und Geschlecht</i>	59
	<i>Visfatin/PBEF/NAMPT und Pubertätsstatus</i>	61
9.2.4	Ergebnisse der Sekundärfragestellung	63
	<i>Visfatin/PBEF/NAMPT im Zusammenhang mit Blutzuckerkontrollparametern, Insulin-Dosis und Lipidprofil</i>	64
	<i>Korrelation von Visfatin/PBEF/NAMPT und Diabetesdauer</i>	65
9.2.5	Zusammenfassung	66
10	Diskussion	67
10.1	Schlussfolgerung.....	79
11	Literaturverzeichnis.....	81

1 Zusammenfassung

Hintergrund: Das Fettgewebe gilt als endokrines Organ. Das Adipokin Visfatin/PBEF/NAMPT wird zu einem großen Anteil vom viszeralen Fettgewebe gebildet und scheint neben seiner enzymatischen Eigenschaft funktionell an Glukosehomöostase und Immunregulation beteiligt zu sein. Diese Eigenschaften wurden neben anderen Forschungsbereichen bei Diabetes mellitus untersucht. Keine Daten gibt es von Visfatin/PBEF/NAMPT bei Kindern- und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ I (DM1). Ziel dieser Studie war es, erste Daten von Visfatin/PBEF/NAMPT bei Kindern- und Jugendlichen mit DM1 zu erheben und mit den Werten einer Kontrollgruppe (KG) zu vergleichen.

Methoden: Die Datenbank PubMed wurde nach aktueller Literatur zum Thema Adipokine und insbesondere hinsichtlich Visfatin/PBEF/NAMPT durchsucht. Darauf basierend umfasst die Studie 124 Kinder und Jugendliche, davon 62 mit DM1 (31 Mädchen, 31 Jungen; mittleres Alter: $13,7 \pm 3,7$ Jahre; Diabetesdauer: $5,9 \pm 3,5$ Jahre; mittlere Insulindosis: $0,9 \pm 0,3$ U/kg/d; mittlerer Body-Mass-Index (BMI): $20,2 \pm 3,2$ kg/m²), sowie 62 nach Alter und Geschlecht gematchte Kinder und Jugendliche der KG (32 Mädchen, 30 Jungen; mittleres Alter: $13,5 \pm 3,7$ Jahre; mittlerer BMI: $20,6 \pm 4,6$ kg/m²). Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte wurden auf Zusammenhänge mit demographischen Parametern und in der DM1-Gruppe zusätzlich auf Korrelationen mit Parametern der Blutzuckerkontrolle (HbA_{1c}), Nüchternblutzuckerspiegel, der Diabetesdauer, dem BMI, dem Lipidprofil und den Pubertätsstadien untersucht.

Ergebnisse: Der mittlere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel lag in der DM1-Gruppe mit 17,5 ng/ml (10,6 - 104,5 ng/ml) im Vergleich zur KG mit 12,5 ng/ml (4,6 - 68,6 ng/ml) signifikant höher ($p < 0,0001$). In der DM1-Gruppe zeigten sich keine Korrelationen zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und Pubertätsstadien, BMI, HbA_{1c}, Nüchternglukosespiegel, Diabetesdauer, Gesamtcholesterin, Low Density Lipoprotein (LDL) und Triglyzeriden (TG). Eine signifikante Korrelation bestand zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und dem High Density Lipoprotein (HDL) ($r=-0,39$; $p = 0,002$).

Schlussfolgerung: Kinder und Jugendliche mit DM1 haben im Vergleich zur KG höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel. Dieses Ergebnis scheint unabhängig vom BMI zu sein. Zudem zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL in der DM1-Gruppe. Der Einfluss von Visfatin/PBEF/NAMPT auf die Glukosehomeostase bedarf weiterer Untersuchungen.

2 Abstract

Background: Adipose tissue is an endocrine organ. The Adipokine Visfatin/PBEF/NAMPT is mostly secreted by visceral fat. Beside its function as an enzyme, it seems to have an influence on glucose homeostasis and immunoregulation. In this context Visfatin/PBEF/NAMPT was studied in a significant field of research, such as diabetes mellitus. The aim of this study is to investigate Visfatin/PBEF/NAMPT in children and adolescents with DM1 and to compare the data with healthy controls.

Methods: The database PubMed was screened for recent results of adipokines in particular of Visfatin/PBEF/NAMPT. In the study 124 children and adolescents were investigated, 62 with DM1 (31 girls, 31 boys; mean age 13.7 ± 3.7 ; duration of diabetes: 5.9 ± 3.5 years, mean insulin dosage: 0.9 ± 0.3 U/kg/d; mean body mass index (BMI): 20.2 ± 3.2 kg/m²) and 62 healthy controls (32 girls, 30 boys, mean age: 13.5 ± 3.7 , mean BMI: 20.6 ± 4.6 kg/m²). The Visfatin/PBEF/NAMPT-levels were investigated for correlations with demographic parameters. In addition the relationship between Visfatin/PBEF/NAMPT and glycemic control (HbA_{1c}), fasting glucose, duration of diabetes, BMI and lipid profile was analyzed in DM1.

Results: In the DM1-group the mean serum Visfatin/PBEF/NAMPT level was 17.5 ng/ml (10.6 – 104.5 ng/ml), significantly higher compared to 12.4 ng/ml (4.6 – 68.6 ng/ml) in the HC group ($p < 0.0001$). There was no correlation between Visfatin/PBEF/NAMPT and pubertal status, BMI, HbA_{1c}, fasting blood glucose, duration of diabetes, total cholesterol, LDL and triglycerids. A significant correlation was seen between Visfatin/PBEF/NAMPT and high density lipoprotein HDL ($r = -0.39$, $p = 0.002$).

Conclusions: The results show elevated serum Visfatin/PBEF/NAMPT levels in children and adolescents with DM1 compared to HC. That seems not to be influenced by BMI. In addition Visfatin/PBEF/NAMPT showed a significant correlation to HDL. The role of Visfatin/PBEF/NAMPT in glucose homeostasis remains unclear and needs further investigations.

3 Abkürzungsverzeichnis

Acrp30 = Adipocyte complement-related Protein of 30 kDa
AdipoQ = Adiponectin
ADP = Adenosindiphosphat
ADSF = Adipocyte-specific Secretory Factor
AIRg = Acute Insulin Response to Glucose
ALI = Acute Lung Injury
APC = Antigen Presenting Cells
apM1 = Adipose Abundant Gene Transcript 1
ARDS = Acute Respiratory Distress Syndrome
ATP = Adenosintriphosphat
AUC = Area under the Curve
B-Zellen = Bone marrow Lymphocytes
BMI = Body-Mass-Index
bp = Basenpaare
CD = Cluster of Differentiation
CRP = C-reactives Protein
CT = Computertomografie
CVD = Cardiovascular Disease
DM1= Diabetes mellitus Typ 1
DM2 = Diabetes mellitus Typ 2
EIA = Enzyme Immunoassay
EIA = Enzymimmunoassay
ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay
eNampt = Extracellular Nicotinamide Phosphoribosyltransferase
ERK1/2 = Extracellular signal-regulated Kinases 1 and 2
FIZZ3 = Found in the inflammatory zone 3
GBP28 = Gelatin-binding protein of 28kDa
GDM = Gestationsdiabetes mellitus
GH = Growth Hormone
GLUT-2 = Glucose-Transporter 2
GSIS = Glukose-stimulierte Insulin-Sekretion

GT-AG = Guanin/Thymin – Adenosin/Guanin
H0 = Nullhypothese
H1 = Alternativhypothese
HbA_{1c} = Hämoglobin A1c oder Glykohämoglobin
HC = healthy controls
HDL = High Density Lipoprotein
HGNC = HUGO Gene Nomenclature Committee
HOMA = Homeostasis model assessment
HOMA-IR = Homeostatic model assessment of insulin resistance
HPLC = High-Pressure Liquid Chromatography
IBD = Infectious Bowel Disease
ICAM-1 = Intercellular Adhesion Molecule 1
IE = Internationale Einheit
IGF-1 = Insulin-like Growth Factor 1
IL = Interleukin
iNamt = Intracellular Nicotinamidphosphoribosyltransferase
IP3 = Inositol-1, 4, 5-Triphosphat
IR = Insulin-Rezeptor
IRS = Insulin Receptor Substrate
kDa = Kilo-Dalton
kg = Kilogramm
KG = Kontrollgruppe
LDL = Low Density Lipoprotein
LFA-1 = Lymphocyte Function-associated Antigen
MAP = Mitogen Activated Protein
MetS = Metabolisches Syndrom
MGNC = Mouse Genomic Nomenclature Committee
MIN6 = Mouse Insulinoma cell line 6
ml = Milliliter
mRNA = Messenger Ribonucleic Acid
MWU = Mann-Whitney-U
NAD = Nicotinamidadenindinukleotid
NAM = Nicotinsäureamid
NaMN = Nicotinic acid Mononucleotid

NAmPRTase = NAMPT = Nicotinamidphosphoribosyltransferase
 NAMPT = Nicotinamidphosphoribosyltransferase
 NAPRT = NAMPT = Nicotinamidphosphoribosyltransferase
 NF κ B = Nuclear Factor `kappa-light-chain-enhancer` of acitvated B-cells
 ng = Nanogramm
 NK-Zellen = Natürliche Killerzellen
 NMN = Nicotinamidmononukleotid
 NMNAT = Nicotinsäure-Mononukleotidadenylyltransferase
 NMPRTase = NAMPT = Nicotinamidphosphoribosyltransferase
 NPT = Nicotinsäurephosphoribosyltransferase
 OGTT = Oraler Glukosetoleranztest
 PARP = Poly-(ADP-ribose)-Polymerase
 PBEF = Pre-B colony-enhancing Factor
 PBL = Peripheral Blood Leukocyte
 PCOS = Polycystic Ovary Syndrome
 PCR = Poly Chain Reaction
 PET-CT = Positronen-Emissions-Tomografie in Kombination mit Computertomografie
 PKTx = Pancreas-Kidney-Transplantation
 PPAR γ = Peroxisome Proliferator-activated Receptor gamma
 PRPP = Phosphoribosylpyrophosphat
 RIA = Radioimmunoassay
 RT-PCR = Real-time Polychain Reaction
 RT-PCR = Real-time Polymerase Chain Reaction
 s.c. = subcutan
 SAT = Subcutaneous Adipose Tissue
 SCF = Stem Cell Factor
 SIR = Silent Information Regulator
 SNP = Single Nucleotide Polymorphism
 st.p. = status post
 sTNF- α -R2 = soluble Tumor Necrosis Factor alpha Receptor 2
 SVF = Stromavaskuläre Fraktion
 T-Zellen = Thymus Lymphocytes
 TC = Total Cholesterol

TG = Triglyceride

TNF- α = Tumornekrosefaktor alpha

TRPM2 = transient receptor potential melastatin channel 2

Tx = Transplantation

UCP-1 = Uncoupling Protein 1

VAT = Visceral Adipose Tissue

VLDL = Very Low Density Lipoprotein

WHR = Waist-to-Hip Ratio

ZNS = Zentrales Nervensystem

μg = Mikrogramm

4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1) Vergleichsstudien: Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1	43
Tabelle 2) Ergebnisübersicht	55
Tabelle 3) Geschlechterverteilung in den Studiengruppen	56
Tabelle 4) Prozentualer Anteil der Pubertätsstadien prä- und postpubertär in den Studiengruppen	57
Tabelle 5) Studiengruppenvergleich in Bezug auf das Alter, Größe, Gewicht und BMI	57
Tabelle 6) Mann-Whitney-U Test: Auswertung Studiengruppenvergleich Alter, Größe, Gewicht und BMI	58
Tabelle 7) DM1-Gruppe: Diabetesdauer, Blutzuckerkontrollparameter, Insulindosis, Lipidprofil	59
Tabelle 8) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Diabetes- und Kontrollgruppe	60
Tabelle 9) Mann-Whitney-U Test: Regressionsanalyse der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel adjustiert nach Geschlecht, BMI, Pubertätsstatus	60
Tabelle 10) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Kontrollgruppe in Abhängigkeit vom Geschlecht	61
Tabelle 11) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der DM1-Gruppe in Abhängigkeit vom Geschlecht	61
Tabelle 12) Anteil der Studienteilnehmer mit Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln >40 ng/ml	62
Tabelle 13) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Kontrollgruppe in Abhängigkeit vom Pubertätsstatus	62
Tabelle 14) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in der DM1-Gruppe in Abhängigkeit zum Pubertätsstatus	62
Tabelle 15) Korrelationskoeffizient nach Spearman: Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in Bezug zum Alter, Größe, Gewicht und BMI in der Kontrollgruppe	63
Tabelle 16) Korrelationskoeffizienten nach Spearman: Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in Bezug zum Alter, Größe, Gewicht und BMI in der DM1-Gruppe	63
Tabelle 17) Korrelationskoeffizient nach Spearman: Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der DM1-Gruppe und HbA _{1c} , Blutzuckerspiegel, Insulindosis und Lipidprofil	63
Tabelle 18) Partielle Korrelationskoeffizienten nach Spearman der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel und HbA _{1c} , Blutzuckerspiegel, Insulindosis, Lipidprofilparameter und Diabetesdauer adjustiert nach BMI, Pubertätsstatus, Geschlecht	64

<i>Tabelle 19) Korrelationskoeffizienten nach Spearman: Visfatin/PBEF/NAMPT und Erkrankungsdauer</i>	<i>65</i>
<i>Tabelle 20) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in Abhängigkeit von der Erkrankungsdauer</i>	<i>65</i>
<i>Tabelle 21) Mann-Whitney-U Test: Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in Abhängigkeit von der Erkrankungsdauer</i>	<i>66</i>
<i>Tabelle 22) Mann-Whitney-U-Test: Visfatin/PBEF/NAMPT und Diabetesdauer <10 und >10 Jahre</i>	<i>66</i>
<i>Tabelle 23) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelvergleich zwischen DM1- und Kontrollgruppen der Vergleichsstudien und den aktuellen Messergebnissen</i>	<i>70</i>

5 Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1) Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression im Vergleich</i>	<i>17</i>
<i>Abbildung 2) Kristallstruktur von Visfatin/PBEF/NAMPT als Monomer</i>	<i>18</i>
<i>Abbildung 3) Kristallstruktur von Visfatin/PBEF/NAMPT als Dimer</i>	<i>19</i>
<i>Abbildung 4) NAD-Biosynthese: (Visfatin/PBEF/)/NAMPT im Nicotinamid-Stoffwechselweg</i>	<i>25</i>
<i>Abbildung 5) NAD-Biosynthese im Vergleich zwischen Hefe und Säugetieren</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 6) Hypothetisches Funktionsmodell für (Visfatin/PBEF/)/NAMPT im Zellstoffwechsel</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 7) Konzept der „NAD-World“ bei chronisch entzündlichen Prozessen</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 8) Regulationsmodell der Insulin-Sekretion bei Visfatin/PBEF/NAMPT-mediierter systemischer NAD-Biosynthese</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 9) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in der DM1- und Kontrollgruppe</i>	<i>59</i>
<i>Abbildung 10) Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und BMI in der Kontrollgruppe ..</i>	<i>62</i>
<i>Abbildung 11) Punktdiagramme: Positive Korrelation von Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL in der DM1-Gruppe</i>	<i>64</i>

6 Hintergrund und Zielsetzung

Die Studien der letzten Jahre konnten zeigen, dass Fettgewebe nicht nur ein passives Energiespeicher- und Wärmeisulationsorgan mit gewissen mechanischen Stütz- und Schutzfunktionen ist. Das Fettgewebe gilt heute als komplexes Sekretionsorgan, dessen Signalmoleküle, sog. Adipokine, lokal wirken, aber auch endokrin mit anderen Organsystemen in Beziehung stehen. Studien haben einigen Adipokinen wie Visfatin/PBEF/NAMPT einen Einfluss auf die Glukosehomöostase nachweisen können. Dies rückte das Fettgewebe auch in das Interesse der Diabetesforschung. Neue Forschungsperspektiven sind von Bedeutung im Kampf gegen Diabetes. Waren 2013 weltweit 382 Millionen Menschen an Diabetes erkrankt prognostiziert die „International Diabetes Federation“ (IDF) einen Anstieg auf 592 Millionen Diabetiker bis zum Jahr 2035 (International Diabetes Federation 2013). DM1 ist mit einem Anteil von 90 % die häufigste Diabetesform im Kindes- und jungen Erwachsenenalter. Pathogenetisch beruht DM1 auf einer autoimmun-medierten Zerstörung der Insulinsynthetisierenden β -Zellen des Pankreas (International Diabetes Federation 2013). Visfatin/PBEF/NAMPT weist neben der funktionellen Rolle in der Glukosehomöostase, enzymatische und immunregulatorische Eigenschaften auf (Fukuhara et al. 2005, 426-430; Revollo, Grimm, and Imai 2007, 164-170; Samal et al. 1994, 1431-1437).

Die funktionellen Eigenschaften und vielversprechende Ergebnisse von Visfatin/PBEF/NAMPT aus Vorläuferstudien gaben den Anlass erste Ergebnisse über die Serum-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Kindern und Jugendlichen mit DM1 zu erheben. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die gewonnenen Ergebnisse vorzustellen und mit den Daten aus Vorläuferstudien in Beziehung zu setzen. Einleitend werden aktuelle Kenntnisse über die endokrine Funktion des Fettgewebes mit dem Schwerpunkt auf Visfatin/PBEF/NAMPT vorgestellt. Abschließend soll auf Basis der erhobenen Daten aus der Studie und Ergebnissen der Literaturrecherche ein Fazit bezüglich der physiologischen und pathophysiologischen Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 gezogen werden.

7 Das Fettgewebe als endokrines Organ

Im Jahr 1994 wurde Leptin (griech.: *leptos* = *dünn*) als erstes von Adipozyten sezerniertes endokrin wirksames Protein identifiziert. Mit dieser Entdeckung wurde die Lücke in dem bereits in den fünfziger Jahren postulierten Regelkreis zwischen Fettgewebe und ZNS, „Das lipostatische Modell“, geschlossen (KENNEDY 1953, 578-596; HERVEY 1959, 336-352). Die Entdeckung war ein Meilenstein in der Erforschung der physiologischen Funktion des Fettgewebes und lieferte den Beweis für die endokrine Interaktion des Fettgewebes mit dem ZNS (Ahima 2006, 242S-249S). Später folgten Ergebnisse über weitere sog. „Adipokine“, die mit anderen Organen in Wechselbeziehung stehen.

Definitionsgemäß ist der Begriff: „Adipokin“ (lat.: *adeps-* = *Fett*; altgriech.: *-kinesis* = *Bewegung*) eine Sammelbezeichnung für vom Fettgewebe synthetisierte und sezernierte Mediatoren mit auto-, para- und endokriner Wirkung. Es handelt sich um eine heterogene Gruppe von Proteinen, die funktionell in Hormone, Zytokine, Enzyme, Wachstumsfaktoren, Matrix-Proteine und Komplementfaktoren untergliedert werden können. Heute sind über 100 verschiedene Adipokine bekannt, die an der Regulierung von Energiestoffwechsel, Glukosehomöostase, Insulinsensitivität, Nahrungsaufnahme und –verwertung, Immunmodulation, Hämodynamik, Nierenfunktion, Hämatopoese, Angiogenese, Hämostase, Fortpflanzung und Knochenstoffwechsel beteiligt sind (Pschyrembel online; Trayhurn and Beattie 2001, 329-339; Gelsinger et al. 2010, 377-390; Ronti, Lupattelli, and Mannarino 2006, 355-365; Fischer-Posovszky, Wabitsch, and Hochberg 2007, 314-321; Adamczak and Wiecek 2013, 2-13). Die Bezeichnung „Adipokin“ hat sich gegenüber dem früher häufig verwendeten Begriff „Adipozytokin“ (lat.: *adeps* = *Fett*; altgriech.: *kytos* = *Zelle*; *kinesis* = *Bewegung*) durchgesetzt, da Untersuchungen gezeigt haben, dass ein Großteil der Adipokine nicht von Adipozyten, sondern von anderen Zellen des Fettgewebes synthetisiert werden.

Der Großteil der Studien bezieht sich auf das beim erwachsenen Menschen in Bezug auf die Masse dominierende histologisch „weiße“ Fettgewebe. Der physiologische Anteil an weißem Fettgewebe beträgt bei Frauen 13-20 % und bei

Männern 8-15 % des Körpergewichts (van den Berg 2001, 229-229). Es besteht neben weißen Adipozyten aus einem heterogenen Zellverbund der Stromavaskulären Fraktion (SVF). Die SVF setzt sich aus Präadipozyten, multipotenten Stammzellen, Endothelzellen, Fibroblasten, Makrophagen und Leukozyten zusammen (Mariman and Wang 2010, 1277-1292; Adamczak and Wiecek 2013, 2-13). Das Verhältnis von Adipozyten zur SVF ist ca. 1/3 zu 2/3 (Geloën, Roy, and Bukowiecki 1989, E547-53). Die Adipokine des weißen Fettgewebes stammen zu ca. 90% von Zellen der SVF. Adipozyten haben nur einen kleinen Anteil an der Adipokin-Synthese. Leptin und Adiponectin sind Adipokine, die überwiegend von Adipozyten stammen (Fain et al. 2004, 2273-2282). Dabei besteht 95 % des Zellvolumens eines weißen Adipozyten aus Vakuole. Histologisch ist neben der Bezeichnung weißes Fettgewebe auch die Nomenklatur „univakuoläres“ Fettgewebe anerkannt. Diese Vakuole dient zur Lipidspeicherung. Die restlichen 5 % des Zellvolumens sind metabolisch hoch aktives Zytosol, in welchem neben anderen intrazellulären Stoffwechselvorgängen auch einige wenige Adipokine synthetisiert werden (Adamczak and Wiecek 2013, 2-13; Mariman and Wang 2010, 1277-1292; Lüllmann-Rauch 2012, 140-143).

In Bezug auf die Lokalisation wird zwischen subkutanem und viszeralem Fettgewebe unterschieden (Lüllmann-Rauch 2012, 140-143). Studien haben zeigen können, dass sich auch das Adipokin-Expressions- und -Synthese-Profil von subkutanem und viszeralem weißem Fettgewebe unterscheidet (Fain et al. 2004, 2273-2282; Maeda et al. 1997, 227-235).

Krankhafte Masseveränderungen des Fettgewebes können zu Dysregulation und einem Ungleichgewicht der Adipokin-Ausschüttung führen (Wozniak et al. 2009, 1847-1856; Scherer 2006, 1537-1545). Omnipräsentes Beispiel ist mit einer Zunahme der Fettgewebssmasse, Adipositas, und damit assoziierte Komplikationen Diabetes mellitus, kardio-, zerebrovaskuläre Erkrankungen, Krebs (WHO 2013). Die pathophysiologischen Mechanismen dafür sind in vielen Bereichen unklar. Einige Adipokine werden aufgrund ihrer Eigenschaften mit den genannten Pathologien in Bezug gebracht. Die weltweit steigende Inzidenz von Adipositas und ihren Folgen haben den Anlass gegeben die physiologische und pathophysiologische Bedeutung von Adipokinen im Organismus zu untersuchen.

In den letzten Jahren konnte die Wissenschaft bereits vielversprechende Ergebnisse liefern.

Diese Erkenntnisse haben zu einem Paradigmenwechsel geführt. Weißes Fettgewebe wird nicht mehr als inertes Gewebe angesehen und funktionell auf die Eigenschaften Energiespeicherung, Wärmeisolation sowie mechanische Schutz- und Stützfunktionen reduziert (Lüllmann-Rauch 2012, 140-143), sondern als komplexes Sekretionsorgans wahrgenommen, das sich über Signalmoleküle auto- und parakrin reguliert sowie endokrin mit anderen Organsystemen in Beziehung steht.

Neben dem weißen Fettgewebe wird histologisch zwischen einer „braunen“ und seit kurzem auch „beigen“ Art differenziert (Giralt and Villarroya 2013, 2992-3000; Lüllmann-Rauch 2012, 140-143). Der erwachsene Mensch hat braunes Fettgewebe nur noch in sehr geringen Konzentrationen im oberen Mediastinum und in der Hals- und Supraklavikularregion. Anders ist es bei Neugeborenen und Säuglingen, die physiologisch mehr braunes Fettgewebe für die „zitterfreie Thermogenese“ haben (Lüllmann-Rauch 2012, 140-143). Braunes Fettgewebe galt lange Zeit beim erwachsenen Menschen als metabolisch inaktiv. PET-CT-Untersuchungen haben das Gegenteil bewiesen. Mittlerweile geht der Funktionsbereich des braunen Fettgewebes über die zitterfreie Thermogenese hinaus und es wurden wie beim weißen Fettgewebe endokrin wirksame Moleküle entdeckt, die von einigen Autoren auch als „Batokines“ (engl. **brown adipose tissue**, -(Adip)**okine**) oder auf deutsch als „Batokine“ bezeichnet werden. Auch im Zusammenhang mit Batokinen haben Studien bereits vielversprechende Ergebnisse und Theorien im Zusammenhang mit Adipositas und Diabetes liefern können (Townsend and Tseng 2012, 13-24; Stanford et al. 2013, 215-223; Villarroya, Cereijo, and Villarroya 2013, E567-72). Gunawardana et al. konnten 2012 im Mausmodell die Bedeutung von Fettgewebe für die Glukosehomöostase aufzeigen. So führte die Transplantation von embryonalem braunem Fettgewebe in DM1-Mäuse zum Rückgang der Symptomatik und zu Euglykämie. Die katabolisch verminderten subkutanen Fettreserven erholten sich wieder. Daraus wurde die Hypothese aufgestellt, dass gesundes Fettgewebe für die Erhaltung der Glukosehomöostase wichtig ist (Gunawardana and Piston 2012, 674-682). Die genauen Funktionsmechanismen sind bisher noch unklar.

Seit ein paar Jahren ist eine neue Art des Fettgewebes bekannt. Es handelt sich dabei um die Entdeckung von „beigen“ oder „brite“ – ein zusammengesetztes Wort aus „**brown**“ und „**white**“ – oder auch thermogenetisch „rekrutierbare“, „induzierbare“ Fettzellen. Sie sind in weißen Fettgewebsdepots zu finden und weisen funktionelle Charakteristika von braunen Fettzellen auf. Beige Fettzellen sind wie braunes Fettgewebe sensibel auf β -adrenerge und sympathische Innervation nach Kälteexposition. Allerdings stammen beige Fettzellen nicht wie braune Fettzellen von Pax7/Myf5⁺-Vorläuferzellen, sondern wie weiße Fettzellen von Pax7/Myf5⁻-Vorläuferzellen ab. In der Literatur wird eine Neubildung aus Vorläuferzellen der weißen Fettzelllinie und die Möglichkeit einer induzierten Umbildung aus weißen Fettzellen diskutiert. Eine endokrine Funktion von beigen Fettzellen ist bisher unbekannt. Potenzielle therapeutische Ansätze sehen Wissenschaftler bei der Behandlung von Adipositas und Diabetes (Wu, Cohen, and Spiegelman 2013, 234-250; Giralt and Villarroya 2013, 2992-3000).

Die endokrine Funktion der Adipokine des weißen Fettgewebes ist im Vergleich zu jener des braunen Fettgewebes umfangreicher mit Daten belegt. Die Definition für „Adipokine“ schließt die in der Literatur erst kürzlich entdeckten Signalmoleküle des braunen Fettgewebes mit ein. Einige Autoren verwenden bereits zur besseren Differenzierung den Begriff: „Batokine“. Die Untersuchung der Adipozyten hat zur Entdeckung von beigen Adipozyten geführt. Möglicherweise werden auch bei beigen Fettzellen Signalmoleküle mit endokriner Wirkung entdeckt. Dies bedarf weiterer Untersuchungen.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt auf der Untersuchung eines Adipokins des weißen Fettgewebes – Visfatin/PBEF/NAMPT – im Zusammenhang mit DM1. Aufgrund dessen werden im weiteren Verlauf dieses Kapitels ausschließlich Adipokine des weißen Fettgewebes und mit einem Bezug auf Glukosehomöostase, Immunsystem und DM1 vorgestellt.

7.1 Adipokine

7.1.1 Leptin

Die Entdeckung von Leptin im Jahr 1994 hat die Betrachtung des Fettgewebes als endokrines Organ geprägt (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Fischer-Posovszky, Wabitsch, and Hochberg 2007, 314-321; Gelsinger et al. 2010, 377-390). Leptin (griech.: *leptos* = *dünn*), ein 16 kDa schweres Protein, ist auf dem menschlichen Chromosom 7 lokalisiert (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Neben anderen Gewebetypen und Organen wird Leptin beim Menschen vorwiegend von Adipozyten des subkutanen Fettgewebes synthetisiert (Trayhurn and Beattie 2001, 329-339; Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Zu einer erniedrigten Leptin-Expression kommt es bei Nahrungskarenz und Kälte, im Allgemeinen bei Aktivierung des sympathischen Nervensystems und Ausschüttung von Katecholaminen, wohingegen Insulin, Glukokortikoide, Östrogene und Zytokine wie TNF- α zu einer vermehrten Leptin-Produktion führen (Trayhurn and Beattie 2001, 329-339). Es wird vermutet, dass Leptin auto- und parakrin an der Entwicklung des fetalen Fettgewebes beteiligt ist (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Bekannt ist Leptin als sogenanntes „Adipostat“, da es über Rezeptoren im Hypothalamus die Nahrungsaufnahme durch Appetithemmung und verbesserte Energieverwertung beeinflusst (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Der Funktionsverlust von Leptin oder seiner Rezeptoren führt zu unkontrollierter Nahrungsaufnahme und Adipositas (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Es wird vermutet, dass Über- oder Untergewicht in bestimmten Phasen der Hypothalamus-Entwicklung zu potenziell irreversiblen Spätfolgen in der Entwicklung von zentralen Signalwegen für die Regulation der Nahrungsaufnahme führen (Fischer-Posovszky, Wabitsch, and Hochberg 2007, 314-321). Im Hypothalamus wirkt Leptin auf Neurone, die direkt und indirekt die Regulation von Schilddrüsen-, Sexual-, Wachstumshormonen und die Aktivität des autonomen Nervensystems beeinflussen (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Insgesamt wird Leptin neben der Regulation des Körpergewichts und Fettgewebismetabolismus ein Beitrag zur Regulation der Insulinsensitivität von Muskulatur und Leber, Immunantwort, Knochenmetabolismus Pubertät, Fortpflanzung und Plazenta

zugeschrieben (Fischer-Posovszky, Wabitsch, and Hochberg 2007, 314-321; Gelsinger et al. 2010, 377-390). Dabei soll Leptin einen positiven Effekt auf die Insulinsensitivität durch die Modulation der β -Zellfunktion haben (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Einen direkten Einfluss hat Leptin auf die Produktion inflammatorischer Mediatoren und immunologischer Zellen wie Lymphozyten, NK-Zellen, Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen, neutrophile und eosinophile Granulozyten (Gelsinger et al. 2010, 377-390).

7.1.2 Adiponectin

Adiponectin, auch unter den Namen Acrp30, AdipoQ, apM1 und GBP28 bekannt, ist ein 30 kDa und 224 Aminosäuren langes Protein, das 1995 entdeckt wurde (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Gelsinger et al. 2010, 377-390; Vazquez-Vela, Torres, and Tovar 2008, 715-728). Es kommt im Plasma in unterschiedlich biologisch aktiven Formen als Trimer, Hexamer oder Multimer vor (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Beim Menschen liegt das kodierende Gen auf dem Chromosom 3q27 (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Adiponectin wird vorwiegend von reifen Adipozyten des subkutanen Fettgewebes synthetisiert (Fischer-Posovszky, Wabitsch, and Hochberg 2007, 314-321), weniger dagegen von Kardiomyozyten, Muskelzellen, Osteoblasten und Endothelzellen. Gewichtsabnahme gilt als Stimulationsreiz für die Adiponectin-Synthese. Die Sekretion unterliegt hormonellen Einflüssen. Vermindert ist die Sekretion nach Stimulierung mit Insulin, TNF- α , Endothelin-1 und Glukokortikoiden, erhöht hingegen durch Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1). Die Plasmakonzentration liegt beim Menschen zwischen 3-30 $\mu\text{g/ml}$. Adiponectin gilt als antiatherosklerotisch, antidiabetisch und antiinflammatorisch wirksames Protein. Es spielt eine zentrale Rolle im Lipid- und Glukosemetabolismus. Adiponectin stimuliert die Insulin-Sekretion und die Glukoseaufnahme im Skelettmuskel durch die Steigerung der Fettsäureoxidation und supprimiert die Glukoneogenese in der Leber (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Ein niedriger Adiponectin-Spiegel könnte auf eine Entwicklung von Diabetes mellitus Typ II oder eine kardiovaskuläre Erkrankung hinweisen (Fischer-Posovszky, Wabitsch, and Hochberg 2007, 314-321). Studien haben gezeigt, dass das Verhältnis von

Adiponectin in Form von Multimeren zur Adiponectin-Plasmagesamtkonzentration umgekehrt mit der Insulinresistenz assoziiert ist (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Generell haben erniedrigte Adiponectin-Plasmakonzentration mit Adipositas, Insulin-Resistenz und dem metabolischen Syndrom korreliert (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Die antiatherosklerotische und antiinflammatorische kommen durch die funktionelle Rolle von Adiponectin in der Cholesterinhomöostase und im erworbenen sowie angeborenen Immunsystem zustande (Fischer-Posovszky, Wabitsch, and Hochberg 2007, 314-321; Gelsinger et al. 2010, 377-390).

7.1.3 Resistin

Resistin, auch bekannt als ADSF oder FIZZ3, ist ein 750 Aminosäuren langes und 12.5 kDa schweres Protein, das 2001 zum ersten Mal beschrieben wurde (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Vazquez-Vela, Torres, and Tovar 2008, 715-728; Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139). Das kodierende Gen befindet sich beim Menschen auf Chromosom 19 (Vazquez-Vela, Torres, and Tovar 2008, 715-728). In Mäusen wird Resistin überwiegend vom weißen Fettgewebe exprimiert und nur zu einem kleineren Anteil vom braunen Fettgewebe. Auch das Brustdrüsengewebe exprimiert Resistin (Vazquez-Vela, Torres, and Tovar 2008, 715-728; Gelsinger et al. 2010, 377-390). Bei Menschen wird Resistin zum Großteil von Entzündungszellen, insbesondere von Makrophagen, exprimiert (Gelsinger et al. 2010, 377-390; Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139). Postprandial und bei Adipositas kommt es zu erhöhter Resistin-Produktion, wohingegen PPAR γ die Syntheserate senkt. Im Blut ist Resistin in aktiver Form als Hexamer vorzufinden (Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139). Resistin beeinflusst stoffwechselregulierende Signalwege des Hypothalamus, der Adipozyten und der Leber (Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139). Außerdem wird es mit der Entwicklung einer Insulinresistenz in Verbindung gebracht (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Es wird angenommen, dass Resistin Insulin antagonisiert und bei Adipositas für die Insulinresistenz und den Status chronischer Entzündung verantwortlich ist (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Studien haben diesbezüglich zu widersprüchlichen

Ergebnisse geführt. Insbesondere der Vergleich von Resistin-Messungen in Studien mit Tiermodellen im Vergleich zu Messungen bei Menschen zeigten kontroverse Ergebnisse. Dadurch wird vermutet, dass es Unterschiede in der Resistin-Expression zwischen Nagetieren und Menschen gibt (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass erhöhte Resistin-Spiegel zu einer Hyperglykämie durch erhöhte Glukoneogenese der Leber führen und erniedrigte Spiegel die Insulin-Sensitivität der Leber erhöhen (Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139). Beim Menschen wurde die Rolle von Resistin bei Adipositas und Diabetes mellitus Typ II untersucht, jedoch waren die Ergebnisse nicht eindeutig, da nicht in allen Studien erhöhte Resistin-Spiegel bei adipösen Typ-II-Diabetes-Patienten gemessen wurden (Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139). Signifikante Korrelationen bestehen zwischen Resistin und inflammatorischen Markern (sTNF- α -R2, IL-6, CRP), dagegen gibt es keine Korrelationen zwischen Resistinkonzentration und Biomarkern für endotheliale Funktion, Insulinämie, Insulin-Sekretion oder Glykämie (Gelsinger et al. 2010, 377-390).

7.1.4 Apelin

Apelin ist in seiner bioaktiven Form ein 13 Aminosäuren langes Protein, das im Fettgewebe von Adipozyten und vaskulären Stromazellen sowie von Myokardiozyten sezerniert wird (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Gelsinger et al. 2010, 377-390). Apelin-Konzentrationen variieren bei Stoffwechseländerungen, insbesondere bei Konzentrationsänderungen von Insulin, TNF- α , Dexamethason und Wachstumshormonen (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Dabei steigt der Apelin-Spiegel mit zunehmender Insulin-Konzentration und bei Adipositas. Daher wird vermutet, dass Apelin einen Einfluss auf die Insulin-Resistenzentwicklung hat (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Studien haben gezeigt, dass Apelin i. v. appliziert zur Erhöhung der Herzfrequenz und zur Senkung des Blutdrucks führt. Daneben scheint es auch die Angiogenese zu stimulieren (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Im Rattenmodell wird Apelin eine protektive Rolle bei der Entstehung von ischämischen Herzerkrankungen zugeschrieben (Gelsinger et al. 2010, 377-390).

7.1.5 Vaspin

Vaspin, „**V**isceral **A**dipose Tissue-derived **S**erine **P**rotease **I**nhibitor“, ist ein 45 kDa schweres Protein, das zur Familie der Serpine gehört (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Gelsinger et al. 2010, 377-390). Es wird von Adipozyten sezerniert und mit einer funktionellen Rolle auf die Insulin-Sensitivität und Glukosehomöostase in Verbindung gebracht, da es von einem Tiemodell isoliert wurde, das zur Untersuchung der Pathogenese von Adipositas und Diabetes mellitus Typ II verwendet wird (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Bisher konnte allerdings noch keine kausale Assoziation zwischen Vaspin und Insulin-Regulation beschrieben werden (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Niedrigere Vaspin-Spiegel wurden in normalgewichtigen Probanden gemessen, erhöhte Spiegel hingegen bei Frauen und adipösen Probanden, insbesondere bei adipösen Probanden mit Glukoseintoleranz (Wozniak et al. 2009, 1847-1856; Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Gelsinger et al. 2010, 377-390). Vaspin soll auf Leptin, Resistin und TNF- α einen konzentrationsenkenden Effekt haben (Wozniak et al. 2009, 1847-1856). Bisher konnte in Studien gezeigt werden, dass eine Beziehung zwischen BMI und Vaspin, eine positive Korrelation zwischen Vaspin und Leptin, eine negative Korrelation zwischen Vaspin und CRP sowie eine ebenfalls negative Korrelation zwischen Vaspin-Spiegel und symptomatischen Karotisstenosen bestehen (Gelsinger et al. 2010, 377-390).

7.1.6 Omentin

Omentin ist ein 38 kDa schweres Protein, das nicht von Adipozyten, sondern überwiegend von vaskulären Stromazellen des omentalen Fettgewebes sezerniert wird (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Gelsinger et al. 2010, 377-390). Es besteht die Hypothese, dass Omentin in einem Zusammenhang mit Glukose- und Insulin-Siegeln steht (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). Dabei ist die Omentin-Konzentration bei Adipositas und Insulin-Resistenz vermindert. Der Insulin-mediierte Glukosetransport wird durch Omentin positiv beeinflusst (Gelsinger et al. 2010, 377-390). Somit könnte Omentin eine Rolle in der Modulation der Insulin-Sensitivität spielen (Gelsinger et al. 2010, 377-390).

Omentin beeinflusst die Barrierefunktion des Gastrointestinaltrakts (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34).

7.1.7 Zytokine

TNF- α

TNF- α ist entweder als 26 kDa schweres transmembranes Monomer oder als 17 kDa schweres lösliches Molekül bekannt (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139). Synthetisiert wird es von Adipozyten des viszeralen Fettgewebes und Makrophagen. Lange Zeit wurde geglaubt, dass die erhöhten TNF- α -Spiegel bei Adipositas durch die vermehrte Fettmasse zustande kommen. Studien haben jedoch gezeigt, dass der Großteil des im Fettgewebe synthetisierten TNF- α von Makrophagen sezerniert wird und die erhöhten TNF- α -Spiegel bei Adipositas die Ursache einer erhöhten Makrophagen-Infiltration des Fettgewebes sind (Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139; Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34). TNF- α war der erste vom Fettgewebe synthetisierte Faktor, der in der Literatur als potenzielle Verbindung zwischen Adipositas, chronischer Entzündung und in weiterer Folge Diabetes beschrieben wurde (Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139). Dabei soll TNF- α parakrin die Expression von Proteinen in Adipozyten unterdrücken, die für die Insulin-stimulierte Glukoseaufnahme essenziell sind, und somit zur Entstehung der Insulinresistenz beitragen (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34; Galic, Oakhill, and Steinberg 2010, 129-139).

Interleukine

Adipozyten sind an der Synthese von Interleukinen beteiligt. Dabei scheint IL-6 eine besondere Rolle zu spielen, da ca. 10 % des zirkulierenden IL-6 von Adipozyten synthetisiert werden. Einige Studien haben gezeigt, dass IL-6-Polymorphismen mit Adipositas assoziiert sind. IL-6 führt zur erhöhten Sekretion

von CRP. Es gibt die Hypothese, dass IL-6 eine signifikante Rolle beim metabolischen Syndrom, insbesondere bei Diabetes und kardiovaskulären Erkrankungen, spielt.

Neben IL-6 werden viele weitere Interleukine insbesondere IL-8, IL-10, IL-15 und IL-1 β in der Literatur mit Fettgewebe und Adipositas, Diabetes und dem metabolischen Syndrom in Verbindung gebracht (Poulos, Hausman, and Hausman 2010, 20-34).

Dieses Kapitel spiegelt nur einen kleinen Teil der Vielfalt und Komplexität der Adipokine des weißen Fettgewebes wider. Vorgestellt wurden Adipokine mit einem funktionellen Bezug auf den Stoffwechsel. Die Adipokine Leptin und Adiponectin wurden durch langjährige intensive Untersuchungen bereits gut verstanden. Andere weisen noch eine kontroverse Datenlage auf. Nicht zu vergessen sind Adipokine aus anderen Klassen wie der Wachstumsfaktoren, Matrix-Proteine und Komplementfaktoren.

In detaillierter Form wird im folgenden Kapitel das Adipokin Visfatin/PBEF/NAMPT vorgestellt, um im weiteren Verlauf dieser Arbeit auf die Studienergebnisse eingehen zu können.

8 Visfatin/PBEF/NAMPT

Die Aufführung von drei Nomenklaturen für ein- und dasselbe Molekül macht bereits auf die kontroverse Forschungsgeschichte von Visfatin/PBEF/NAMPT aufmerksam. Diese ist für das Verständnis des Enzyms wichtig und wird daher einleitend in diesem Kapitel zusammengefasst.

Besonderes Aufsehen in der Stoffwechsel- und Diabetesforschung erregten 2005 die Studienergebnisse von Fukuhara et al., die im Ergebnis ihrer Suche nach unentdeckten Adipokinen erfolgreich Daten zu einem vornehmlich vom viszeralen Fettgewebe synthetisierten Protein mit insulin-mimetischen Eigenschaften publizierten. Visfatin, aus dem engl. „**vis**ceral **fat**“-**in**, bewirkt laut Fukuhara et al. den glukosesenkenden Effekt über eine Aktivierung von Insulin-Rezeptoren. Die Studie musste aufgrund mangelnder Reproduzierbarkeit in Bezug auf die Insulin-mimetische Rezeptoraktivierung und auf Druck eines nachfolgenden Gutachtens, dass eine fehlerhafte Durchführung der biochemischen Versuche aufzeigte, zurückgezogen werden. Eine kontroverse Debatte wird allerdings weiterhin geführt, was zu einer weitgehenden Etablierung der Bezeichnung „Visfatin“ führte (siehe Kap. 9.6.2) (Revollo et al. 2007, 363-375; Xie et al. 2007, 201-210). In derselben Studie haben Fukuhara und Kollegen eine Homologie der Aminosäuresequenz zu Pre-B cell colony-enhancing Factor (PBEF) beschrieben (Fukuhara et al. 2005, 426-430).

PBEF ist ein von Samal et al. 1994 entdecktes Zytokin mit einem reifungssteigernden Effekt auf B-Vorläuferzellen im Zusammenspiel mit den Faktoren IL-7 und SCF (Samal et al. 1994, 1431-1437). Die hämatopoetische Wirkung wurde bisher nicht bestätigt. Folgestudien konnten einen proinflammatorischen und immunregulatorischen Effekt nachweisen (Moschen et al. 2007, 1748-1758).

Interessanterweise stellten Martin et al. bereits 2001, somit vor der Publikation der Studie von Fukuhara et al., eine Sequenzhomologie zwischen PBEF und Nicotinamidphosphoribosyltransferase (NAMPT) fest (Martin, Shea, and Mulks 2001, 1168-1174), die durch Folgestudien bestätigt wurde (Rongvaux et al. 2002, 3225-3234; Revollo, Grimm, and Imai 2004, 50754-50763). NAMPT ist bei Säugetieren ein Schlüsselenzym in der Nicotinamidadenindinukleotid-(NAD)-

Biosynthese. NAD ist in seinen verschiedenen Formen ein essenzielles Coenzym für wichtige intrazelluläre Reaktionen im Energiestoffwechsel, für Mitochondrienfunktion, Calcium-Homöostase, Antioxidation, Genexpression, Immunfunktionen, Alterung und Zelltod (Ying 2008, 179-206).

Die kontroverse Entdeckungsgeschichte verdeutlicht bereits die Komplexität und die physiologische Multifunktionalität von Visfatin/PBEF/NAMPT (Imai 2009, 20-28). Allerdings sind die genauen Kenntnisse über den Funktionsmechanismus lückenhaft. Aktuelle Studien über das Schlüsselenzym NAMPT weisen plausible Ergebnisse und Theorien insbesondere im Hinblick auf den Funktionsmechanismus in der Glukosehomöostase auf. Offiziell wurde NAMPT bereits als Bezeichnung für das Gen und Protein vom HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) und dem Mouse Genomic Nomenclature Committee (MGNC) anerkannt. Dennoch wird die Nomenklatur in der aktuellen Literatur nicht einheitlich verwendet. Aktuelle Studien verwenden bereits häufig die Bezeichnung NAMPT oder auch alle drei Bezeichnungen. Um Verwirrung vorzubeugen, wird in dieser Arbeit, mit Ausnahme besonders gekennzeichnete Textpassagen, die Bezeichnung „Visfatin/PBEF/NAMPT“ verwendet.

Im weiteren Kapitelverlauf werden die aktuellen Studienergebnisse von Visfatin/PBEF/NAMPT vorgestellt.

8.1 Gen und Genvariationen

Das menschliche Gen für Visfatin/PBEF/NAMPT befindet sich auf Chromosom 7 zwischen 7q22.1 und 7q31.33 (Jia et al. 2004, 1318-1327) und ist 36.908 Bp lang. Es besteht strukturell aus 11 Exons und 10 Introns, die 491 Aminosäuren kodieren. Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Gensequenz von Säugetieren wurde im Verlauf der Evolution gut konserviert. Die Analyse der Proteinsequenz von Kaninchen-Visfatin/PBEF/NAMPT hat gezeigt, dass sie zu 96 % mit der menschlichen übereinstimmt. Ansonsten existieren kaum Organismen, weder Bakterien noch andere Wirbeltiere, die Homologien aufweisen. Dies weist auf die überlebenswichtige Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT hin und wird im Versuch

mit Visfatin/PBEF/NAMPT-Gen-Knockout-Mäusen deutlich, die embryonal nicht überlebensfähig sind (Zhang, Heruth, and Ye 2011, 13-25).

Genvariationen kommen häufig in Form von Einzelnukleotid-Polymorphismen (engl.: Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) vor. Funktionelle Konsequenzen sind in Bezug auf Visfatin/PBEF/NAMPT weitestgehend unbekannt (Zhang, Heruth, and Ye 2011, 13-25). Insgesamt sind zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit 770 SNPs für Visfatin/PBEF/NAMPT dokumentiert (SNP Database). Viele von ihnen wurden auf einen Zusammenhang mit Adipositas und Diabetes mellitus untersucht (Blakemore et al. 2009, 1549-1553; Bottcher et al. 2006, 2725-2731; Korner et al. 2007, 772-777).

8.2 Genexpression

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse über bekannte Zwischenprodukte der Visfatin/PBEF/NAMPT-Biosynthese präsentiert. Dabei wird insbesondere auf die gewebespezifische Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression eingegangen.

In der Literatur werden drei verschiedene Visfatin/PBEF/NAMPT-mRNA-Spezies mit jeweils 4.000, 2.400 und 2.000 bp beschrieben. Das menschliche Visfatin/PBEF/NAMPT-Gen beinhaltet 19 verschiedene GT-AG Introns, die insgesamt 19 verschiedene mRNA transkribieren. Posttranskriptionell werden 14 mRNAs durch alternatives Splicing hergestellt (Zhang, Heruth, and Ye 2011, 13-25).

Die Analyse der Gewebequellen von 719 cDNAs haben gezeigt, dass Visfatin/PBEF/NAMPT in fast allen untersuchten Zellen, Geweben oder Organen exprimiert wird (Zhang, Heruth, and Ye 2011, 13-25). Allerdings ist die Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression in Abhängigkeit vom Gewebetyp unterschiedlich stark ausgeprägt. Folgende Zelltypen und Gewebearten bzw. Organe wurden untersucht: Lymphozyten, Leukozyten, β -Zellen, Fettgewebe, Skelettmuskulatur, glatte Muskulatur, Knochenmark, Gehirn, Hypothalamus, Schilddrüse, Herz, Aorta, Lunge, Nieren, Leber, Pankreas, Darm, Hoden und

Plazenta (Samal et al. 1994, 1431-1437; Fukuhara et al. 2005, 426-430; Revollo et al. 2007, 363-375; Moschen et al. 2007, 1748-1758; Friebe et al. 2011, 1200-1211; Spinnler et al. 2013, e54106).

1994 beschrieben Samal et al. nach der Isolierung von Visfatin/PBEF/NAMPT aus peripheren B-Lymphozyten auch eine Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression in anderen Gewebetypen. Mittels RT-PCR wurde Visfatin/PBEF/NAMPT in höheren Konzentrationen in der Leber und in etwas niedrigerer Konzentration auch in der Muskulatur und im Knochenmark gemessen. Nachweisbar war es ebenfalls in Herz, Lunge, Niere und Plazenta. Ergebnisse zu den Messungen an Gehirn, Schilddrüse, Pankreas und Hoden wurden trotz Untersuchung nicht beschrieben (Samal et al. 1994, 1431-1437).

Fukuhara et al. zeigten in ihren Ergebnissen, dass Visfatin/PBEF/NAMPT von Adipozyten und überwiegend von Adipozyten des viszeralen Fettgewebes im Vergleich zum subkutanen Fettgewebe exprimiert wird. Dazu wurden 8800 cDNA-Proben aus subkutanem sowie viszeralem Fettgewebe von insgesamt zwei Probandinnen gewonnen und mittels PCR untersucht. Der Northern Blot zeigte, dass Visfatin/PBEF/NAMPT fast ausschließlich von viszeralen Adipozyten exprimiert wird (Fukuhara et al. 2005, 426-430). Berndt et al. Hingegen konnten keine Unterschiede zwischen der Visfatin/PBEF/NAMPT-Genexpression in subkutanem und viszeralem Fettgewebe feststellen (Berndt et al. 2005, 2911-2916).

Revollo et al. differenzieren in ihrer Studie zwischen einer intra- (i) und einer extrazellulären (e) Form von NAMPT bzw. Visfatin/PBEF bei Säugetieren. Die höchste iNAMPT-Expression wurde in braunem Fettgewebe, Leber und Niere gemessen. Im Vergleich dazu war die iNAMPT-Expression im weißen Fettgewebe sowie in Lunge, Milz, Hoden und Muskulatur niedrig. In Bezug auf das weiße Fettgewebe wurden beide Anteile – das subkutane und viszerale Fettgewebe – untersucht, aber in den Messungen für die iNAMPT-Expression nicht gesondert beschrieben. In der Bauchspeicheldrüse und im Gehirn konnte keine iNAMPT-Expression nachgewiesen werden. Die extrazelluläre Form, eNAMPT, wird fast ausschließlich in differenzierten Adipozyten des weißen Fettgewebes exprimiert. Auch hier wurde nicht gesondert auf Messungen des subkutanen und viszeralen Fettgewebes Bezug genommen. Die eNAMPT-Sekretion ist aufgrund der

Gewebespezifität ein hochregulierter Prozess. Unter physiologischen Bedingungen werden keine hohen Konzentrationen von eNAMPT exprimiert. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass erst pathophysiologische Zustände zu einer vermehrten eNAMPT-Expression führen (Revollo et al. 2007, 363-375).

2011 untersuchten Friebe et al. die Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression bei Kindern und Jugendlichen. Dazu wurde die mRNA-Expression von 14 metabolisch, endokrin und immunologisch aktiven Zell- und Gewebetypen bzw. Organen gemessen. Das Ergebnis war eine signifikant erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression in peripheren Leukozyten im Vergleich zum restlichen Untersuchungsmaterial (siehe Abb. 1). Granulozyten und Monozyten haben mit fünffach höheren Werten im Vergleich zu Lymphozyten den größten Anteil (Friebe et al. 2011, 1200-1211).

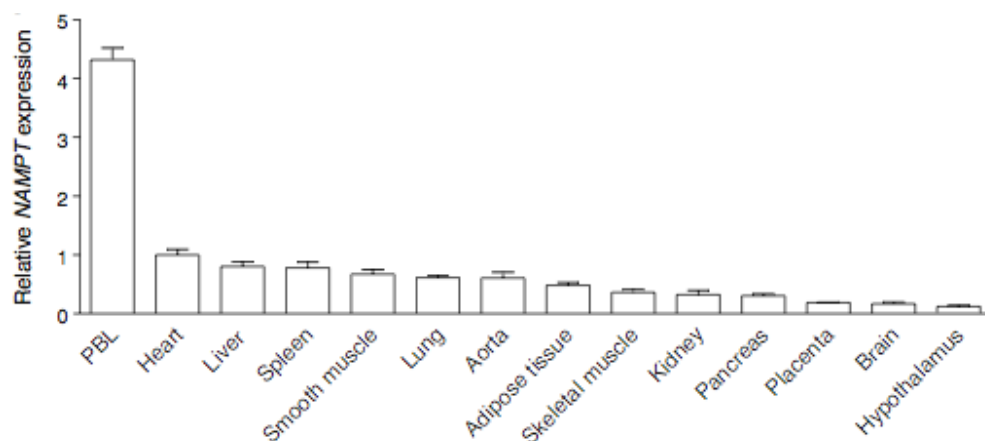


Abbildung 1) Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression in verschiedenen Zellen bzw. Geweben im Vergleich (Friebe et al. 2011, 1200-1211); PBL = peripheral blood leukocyte

Untersuchte Stimuli, die zu einer erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression führen, sind Hyperglykämie (Haider et al. 2006, 1909-1914; Adeghate 2008, 1851-1862), Hypoxie (Adeghate 2008, 1851-1862) und Inflammation (Adeghate 2008, 1851-1862). Kralisch et al. beschrieben eine erhöhte Expression bei Dexamethason (Kralisch et al. 2005, R1-8). Einen Visfatin/PBEF/NAMPT supprimierenden Einfluss haben Insulin, Somatostatin, TNF- α und GH (Haider et al. 2006, 1909-1914; Kralisch et al. 2005, R1-8). Ognjanovic et al. haben in ihren Versuchen an amniotischen Epithelzellen feststellen können, dass Lipopolysaccharide, IL-1 β , IL-6 und TNF- α signifikant die Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression erhöhen (Ognjanovic et al. 2001, 107-117).

In diesem Kapitel wird deutlich, dass Visfatin/PBEF/NAMPT als Protein nicht nur vom Fettgewebe exprimiert wird, sondern in vielen verschiedenen Geweben vorkommt. Nicht-Fettzellen des Fettgewebes, wie Leukozyten, nehmen bei der Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression einen besonderen Stellenwert ein.

8.3 Struktur

Das Protein Visfatin/PBEF/NAMPT setzt sich aus 491 Aminosäuren zusammen und besitzt ein molekulares Gewicht von 55 kDa. Die Sekundärstruktur besteht aus 19 β -Faltblatt- und 13 α -Helix-Strukturen, die zwei strukturelle Domänen entstehen lassen. Die Oberfläche beträgt insgesamt 3392 Å² (siehe Abb. 2) (Kim et al. 2006, 66-77).

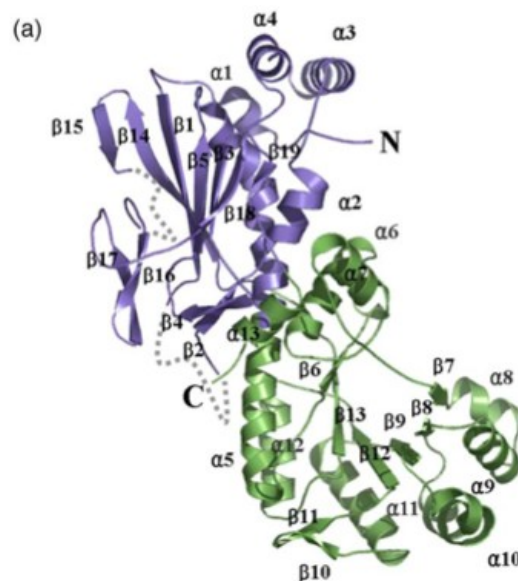


Abbildung 2) Kristallstruktur von Visfatin/PBEF/NAMPT als Monomer. Die Domänen sind in Violett und Grün dargestellt. (Kim et al. 2006, 66-77)

Die geschätzte Halbwertszeit beträgt 30 Minuten (Zhang, Heruth, and Ye 2011, 13-25). Funktionell bildet Visfatin/PBEF/NAMPT ein Homodimer, denn nur auf diese Weise kann sich die katalytische Funktion als Enzym der Klasse Phosphoribosyltransferase Typ II entwickeln. Dabei tragen beide Untereinheiten zum aktiven Zentrum bei (siehe Abb. 3) (Kim et al. 2006, 66-77; Wang et al. 2006, 661-662).

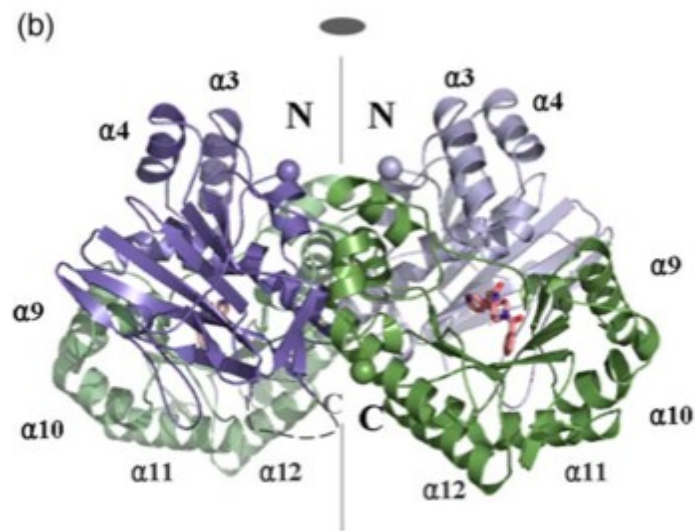


Abbildung 3) Kristallstruktur von Visfatin/PBEF/NAMPT als Dimer; die Domänen sind in Grün und Violett bzw. in verblasstem Grün und Violett für das jeweilige Monomer dargestellt. (Kim et al. 2006, 66-77);

Visfatin/PBEF/NAMPT katalysiert die Reaktion zwischen Nicotinamid (NAm) und Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP) zu Nicotinamidmononukleotid (NMN) (Kim et al. 2006, 66-77). Zwei Aminosäuren des aktiven Zentrums sind von besonderer Bedeutung. Aspartat 219 ist für die Definition der Substrat-Spezifität verantwortlich. Mutationen von Histidin 247 können die enzymatische Aktivität vermindern oder komplett aussetzen (Zhang, Heruth, and Ye 2011, 13-25).

Die Analyse der Struktur macht die enzymatische Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT deutlich.

8.4 Sekretion

Visfatin/PBEF/NAMPT wird über einen noch nicht bekannten Mechanismus sezerniert. Die Vermutung, dass die Visfatin/PBEF/NAMPT-Ausschüttung durch Zellyse oder -tod zustande kommt, konnte durch das Protein-Markierungsverfahrens FLAG-tag widerlegt werden (Revollo et al. 2007, 363-375). Die Sekretion der extrazellulären Form von Visfatin/PBEF/NAMPT wird als „nicht-

klassisch“ beschrieben, da die Inhibierung der klassischen Protein-Sekretion über den Golgi-Apparat durch Brefeldin und Monensin keinen Einfluss auf die Sekretion von Visfatin/PBEF/NAMPT hatte (Revollo et al. 2007, 363-375; Garten et al. 2009, 130-138). Die Transfektion einer anderen Zelllinie mit markiertem Visfatin/PBEF/NAMPT konnte das Ergebnis bestätigen (Revollo et al. 2007, 363-375). Kover et al. stellten in ihren Untersuchungen fest, dass für die Sekretion von Visfatin/PBEF/NAMPT Glukose und eine Membrandepolarisation notwendig sind. Der Einsatz von Diazoxid und Nifedipin als Blockade für spannungsabhängige Calcium-Kanäle führte zu einer Inhibition der Visfatin/PBEF/NAMPT-Sekretion. Somit scheint die Sekretion insulinähnlich zu sein, da auch Insulin eine Membrandepolarisation und einen Ca^{+} -Einstrom für die Exozytose benötigt (Kover et al. 2013, e58767).

8.5 Rezeptoren und Signalwege

Die Literatur weist verschiedene Theorien zum Thema Visfatin/PBEF/NAMPT-Rezeptoren und Signalwege auf. Bisher sind keine spezifischen Rezeptoren bekannt (Spinnler et al. 2013, e54106). Diskutiert werden eine Bindung an Insulin-Rezeptoren bis hin zur Signalübertragung durch den Cofaktor NAD, an dessen Biosynthese als Enzym Visfatin/PBEF/NAMPT beteiligt ist.

Die Aktivierung von Insulin-Rezeptor-Signalwegen wird kontrovers diskutiert. Initial haben Fukuhara et al. eine Bindung von Visfatin/PBEF/NAMPT an Insulin-Rezeptoren mit Insulin-ähnlicher Aktivierung des Insulin-Rezeptor-Substrats 1 und 2 (IRS-1/IRS-2) beschrieben (Fukuhara et al. 2005, 426-430). Xie et al. konnten die Bindung von Visfatin/PBEF/NAMPT an Insulin-Rezeptoren mit IRS1- und IRS2-Aktivierung in menschlichen Osteoblasten mit insulin-ähnlicher Wirkung bestätigen (Xie et al. 2007, 201-210). Revollo et al. konnten in ihrer Studie die Ergebnisse von Fukuhara et al nicht reproduzieren (Revollo et al. 2007, 363-375). Nachdem das „Committee for Research Integrity of Osaka University Graduate School of Medicine“ in ihrem Bericht Mängel bei der biochemischen Untersuchung der Visfatin/PBEF/NAMPT-Insulin-Rezeptor-Interaktion feststellte, zogen Fukuhara et al. ihre Studie zurück (Fukuhara et al. 2005, 426-430). Brown et al. hingegen

zeigten 2010 in ihrer Studie, dass Visfatin/PBEF/NAMPT den Insulin-Rezeptor und dessen Signalkaskade der MAP-Kinasen ERK1 und -2 aktiviert, nicht jedoch die MAP-Kinase p38. Im Versuch wurden von Brown et al. sehr hohe Visfatin/PBEF/NAMPT-Konzentrationen von 200 - 500 ng/ml verwendet (Brown et al. 2010, 171-178).

Neben der widersprüchlichen Diskussion über eine Bindung von Visfatin/PBEF/NAMPT an Insulinrezeptoren mit Insulin-Rezeptor-Substrat-Aktivierung oder eine alleinige Aktivierung der Insulin-Rezeptor-Signalkaskade gibt es andere Theorien. So vermuten Garten et al. einen noch unentdeckten Rezeptor oder eine durch die enzymatische Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT bedingte NAD-mediierte Signaltransduktion (siehe Kapitel 9.6.3) (Garten et al. 2009, 130-138).

Die bisherigen Ergebnisse zur Rezeptorbindung und Signalwege lassen keine eindeutige Aussage zur Signalübertragung von Visfatin/PBEF/NAMPT zu. Neue Theorien sind ein Resultat aus Erkenntnissen über die Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT, die im folgenden Kapitelabschnitt vorgestellt werden.

8.6 Funktion

Der Abgleich der Aminosäuresequenzen hat gezeigt, dass drei ursprünglich unabhängige Moleküle mit unterschiedlichen funktionellen Schwerpunkten ein- und dasselbe Protein sind. Das lückenhafte Wissen über die genauen Funktionsmechanismen bereitet Schwierigkeiten die Eigenschaften zu vereinen. Jedem Namen dieses Proteins kann eine funktionelle Eigenschaft zugeordnet werden. Visfatin hat einen Einfluss auf die Glukosehomöostase, PBEF ist an der Immunregulation beteiligt und NAMPT ist ein Enzym in der NAD-Synthese. Der Funktionsmechanismus von Visfatin/PBEF/NAMPT in Bezug auf Glukosehomöostase und Immunregulation ist noch unklar. Gute Erkenntnisse gibt es über die enzymatische Funktion in der NAD-Synthese. NAD ist ein essenzielles Molekül für viele zelluläre Stoffwechselprozesse. In der Literatur gibt es bereits Ansätze, die die Eigenschaften von Visfatin/PBEF/NAMPT über die enzymatische

Rolle in der NAD-Biosynthese erklären, das im Organismus als eine Art Universalsubstrat für eine Vielzahl zellulärer Prozesse dient.

Im weiteren Kapitelverlauf werden zunächst die Ergebnisse der Funktionsschwerpunkte Immunregulation, Glukosehomöostase und NAD-Synthese von Visfatin/PBEF/NAMPT getrennt vorgestellt, um eine Analyse zu ermöglichen.

8.6.1 Visfatin/PBEF/NAMPT und Immunregulation

Samal et al. haben 1994 den Pre-B-cell colony-enhancing Factor (PBEF) nach dessen Isolierung aus cDNA peripherer B-Lymphozyten als zytokinähnliches Molekül beschrieben (Samal et al. 1994, 1431-1437). Die Untersuchungen ergaben, dass Visfatin/PBEF/NAMPT in Anwesenheit der Faktoren IL-7 und SCF im Knochenmark zu einer 70%-igen Erhöhung der Prä-B-Lymphozytenanzahl führt (Samal et al. 1994, 1431-1437). Neben der hämatopoetischen Wirkung zeigte Visfatin/PBEF/NAMPT immunregulatorisch eine dosisabhängige Synthese der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-1Ra, IL-8, IL-10, TNF- α und insbesondere von IL-6 in Monozyten (Moschen et al. 2007, 1748-1758; Ognjanovic et al. 2001, 107-117; Sonoli et al. 2011, 9-14). Darüber hinaus induzierte es die Expression kostimulierender Oberflächenmoleküle bei Monozyten (CD40, CD80 sowie ICAM-1/CD54). Letzteres führt über die Bindung an LFA-1 zur T-Zell-Aktivierung (Moschen et al. 2007, 1748-1758). Chemotaktisch wirkt Visfatin/PBEF/NAMPT auf CD14⁺-Monozyten und CD19⁺-B-Zellen (Moschen et al. 2007, 1748-1758). Visfatin/PBEF/NAMPT hat besonders durch den apoptosehemmenden Effekt in neutrophilen Granulozyten einen Einfluss auf die Ausprägung und Persistenz von Entzündungsprozessen (Jia et al. 2004, 1318-1327). Ein spezifischer Rezeptor ist wie zuvor beschrieben nicht bekannt (siehe Kap. 9.5). Neuere Ergebnisse haben gezeigt, dass Visfatin/PBEF/NAMPT im Vergleich zu anderen Zellen und Gewebetypen zum größten Anteil von Leukozyten exprimiert wird (Friebe et al. 2011, 1200-1211), was eine funktionell immunregulatorische Verknüpfung unterstreicht.

Zusammenfassend wirkt Visfatin/PBEF/NAMPT durch die Aktivierung antigenpräsentierender Zellen (APC), die erhöhte Expression kostimulierender Oberflächenmoleküle und durch den verstärkenden Effekt auf die B-Lymphozytenproliferation immunregulierend (Moschen et al. 2007, 1748-1758; Samal et al. 1994, 1431-1437). Bisher gibt es keine Daten, die den grundlegenden Funktionsmechanismus von Visfatin/PBEF/NAMPT im Immunsystem erklären. Die bisher bekannten Ergebnisse gaben den Anlass Visfatin/PBEF/NAMPT im Zusammenhang mit akut und chronisch entzündlichen Erkrankungen wie zum Beispiel Sepsis, Acute Lung Injury, rheumatoider Arthritis generalisierte Psoriasis, Morbus Behçet, Lupus erythematoses und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zu untersuchen. Aber auch Adipositas, Diabetes mellitus, Atherosklerose und kardiovaskuläre Erkrankungen werden mit der immunmodulatorischen Eigenschaft von Visfatin/PBEF/NAMPT in Verbindung gebracht.

8.6.2 Visfatin/PBEF/NAMPT und Glukosehomöostase

Die Insulin-mimetische Wirkung von Visfatin/PBEF/NAMPT wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Die Studienergebnisse von Fukuhara et al. führten 2005 nicht nur zur Umbenennung des bereits beschriebenen Proteins PBEF in Visfatin, sondern stellten durch die in In-vitro- und In-vivo-Versuchen entdeckten Insulin-mimetischen Eigenschaften von Visfatin/PBEF/NAMPT einen neuen Ansatz für die Diabetes-Forschung in Aussicht. Es folgten zahlreiche Nachfolgestudien mit widersprüchlichen Ergebnissen.

Fukuhara et al. stellten in ihren Versuchen fest, dass die Applikation von rekombinantem Visfatin/PBEF/NAMPT in hoher Dosis bei Mäusen mit Insulin-Resistenz oder Insulin-Mangel zur Erniedrigung des Plasma-Glukose-Spiegels führt. Die Wirkung von Visfatin/PBEF/NAMPT wird durch die Bindung an Insulin-Rezeptoren von Leber- und Muskelzellen mit Insulin-ähnlicher Bindungsaffinität ausgelöst. Dabei unterschied sich der Mechanismus auf noch ungeklärte Weise von dem von Insulin (Fukuhara et al. 2005, 426-430).

Nachfolgestudien konnten die Expression von Visfatin/PBEF/NAMPT in viszerale Adipozyten bestätigen (Revollo et al. 2007, 363-375; Berndt et al. 2005, 2911-

2916). Hingegen werden die Insulin-Rezeptor-Interaktion sowie die Insulin-mimetische Eigenschaft von Visfatin/PBEF/NAMPT in der Literatur kontrovers diskutiert.

Revollo et al. haben die Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression in differenzierten Adipozyten des weißen Fettgewebes bestätigt. In vivo und in vitro konnte allerdings kein Einfluss von Visfatin/PBEF/NAMPT auf den Blutglukosespiegel, die Insulin-Rezeptorbindung, Glukoseaufnahme und Adipogenese nachgewiesen werden (Revollo et al. 2007, 363-375).

Wie im Kapitel 8.5 beschrieben kam es durch den Rat der „Faculty Council of Osaka University Medical School“ im Oktober 2007 zu einer Rücknahme der Studienergebnisse. Die Autoren stehen dennoch weiter zu ihren Ergebnissen (Fukuhara et al. 2005, 426-430). Unterstützend wirken zwei Studien, die Insulin-ähnliche Effekte von Visfatin/PBEF/NAMPT nachweisen konnten. Xi et al. beschrieben in ihren Ergebnissen eine Bindung von Visfatin/PBEF/NAMPT an Insulin-Rezeptoren von Osteoblasten mit Aktivierung von IRS1 und -2 beschrieben. Dabei kommt es zur Insulin-typischen Glukoseaufnahme, Proliferation und Kollagenproduktion vom Typ I (Xie et al. 2007, 201-210). Brown et al. haben eine Insulin-Rezeptor-Aktivierung an β -Zellen bei Visfatin/PBEF/NAMPT-Dosen zwischen 200-500 ng/ml beschrieben (Brown et al. 2010, 171-178).

Durch die Studie von Fukuhara et al. verstärkte sich die Aufmerksamkeit für Visfatin/PBEF/NAMPT. Die kontroversen Ergebnisse führten zu zahlreichen Publikationen mit neuen Ergebnissen. Revollo et al. konnten in ihrer Studie einen neuen Ansatz für die Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT im Glukosestoffwechsel entwickeln. Sie zeigten, dass Visfatin/PBEF/NAMPT über die enzymatische Eigenschaft im Nicotinamidadenindinukleotid-Stoffwechsel (NAD) als Nicotinamidphosphoribosyltransferase (NAMPT) möglicherweise indirekt einen Einfluss auf die Glukosehomöostase hat (Revollo et al. 2007, 363-375). Die enzymatische Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT wird im folgenden Kapitelabschnitt detailliert beschrieben.

Zusammenfassend haben die Studienergebnisse gezeigt, dass Visfatin/PBEF/NAMPT einen Einfluss auf die Glukosehomöostase haben könnte.

Ein Insulin-mimetischer Effekt ist nach aktueller Datenlage nicht belegbar. Eine neue Theorie über die Visfatin/PBEF/NAMPT indirekt durch die enzymatische Funktion im NAD-Stoffwechsel auf die Glukoshomöostase wirkt, ist vielversprechend und wird im folgenden Kapitel vorgestellt.

8.6.3 Visfatin/PBEF/NAMPT und NAD-Synthese

Die enzymatische Funktion von Visfatin/PBEF als Nicotinamidphosphoribosyltransferase (NAMPT) in der NAD-Biosynthese wurde genetisch, biochemisch und strukturell bestätigt (Martin, Shea, and Mulks 2001, 1168-1174; Rongvaux et al. 2002, 3225-3234; Revollo, Grimm, and Imai 2004, 50754-50763; Kim et al. 2006, 66-77; Wang et al. 2006, 661-662). Synonym werden in einigen anderen Publikationen die Abkürzungen NAPRT, NMPRTase oder NamPRTase verwendet.

Visfatin/PBEF/NAMPT ist eine dimerische Typ-II-Phosphoribosyltransferase und bei Säugetieren das Schlüsselenzym in der NAD-Biosynthese. In dieser Reaktion überträgt Visfatin/PBEF/NAMPT die Phosphoribosylgruppe von 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphat auf Nicotinsäureamid. Nicotinsäure-Mononukleotidadenylyltransferase (NMNAT) katalysiert anschließend unter Verbrauch von Adenosintriphosphat (ATP) die Reaktion von NMN zu NAD (siehe Abb. 4) (Revollo, Grimm, and Imai 2007, 164-170; Garten et al. 2009, 130-138).

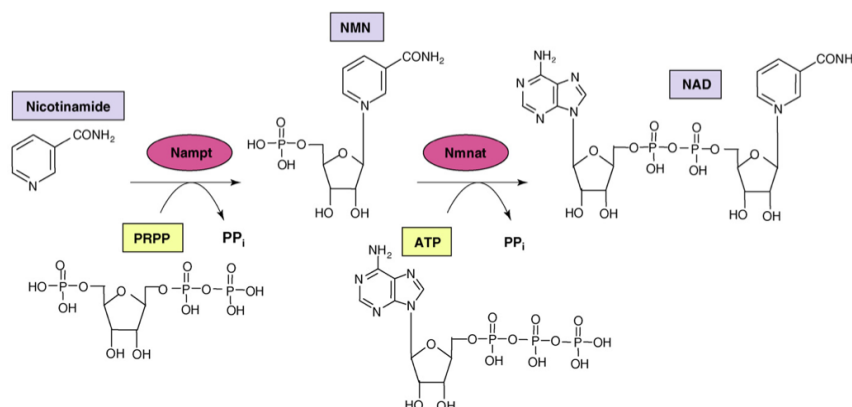


Abbildung 4) NAD-Biosynthese: (Visfatin/PBEF)/NAMPT im Nicotinamid-Stoffwechselweg (Garten et al. 2009, 130-138); NAMPT = Nicotinamidphosphoribosyltransferase; ATP = Adenosintriphosphat; PRPP = Phosphoribosylpyrophosphat; NMNAT = Mononukleotidadenylyltransferase; PP = Pyrophosphat; NMN = Nicotinamidmononukleotid; NAD = Nicotinamiddinukleotid

Die Reaktion von Visfatin/PBEF/NAMPT ist Teil des NAD-Stoffwechselweges, der hingegen bei niederen Eukaryonten wie Hefezellen und wirbellosen Tieren fehlt (siehe Abb. 5).

Insgesamt setzt sich die NAD-Biosynthese bei Säugetieren aus einer NAD-Neosynthese und einem NAD-regenerativem Stoffwechselweg zusammen. Gebildet wird NAD in der Neosynthese aus den Substraten Tryptophan, Nicotinsäure und über den von Visfatin/PBEF/NAMPT katalysierten Stoffwechselweg mit dem Substrat Nicotinsäureamid. Bei niederen Eukaryonten und wirbellosen Tieren fehlt Visfatin/PBEF/NAMPT und die NAD-Synthese verläuft ausschließlich über Nicotinsäure (siehe Abb. 5).

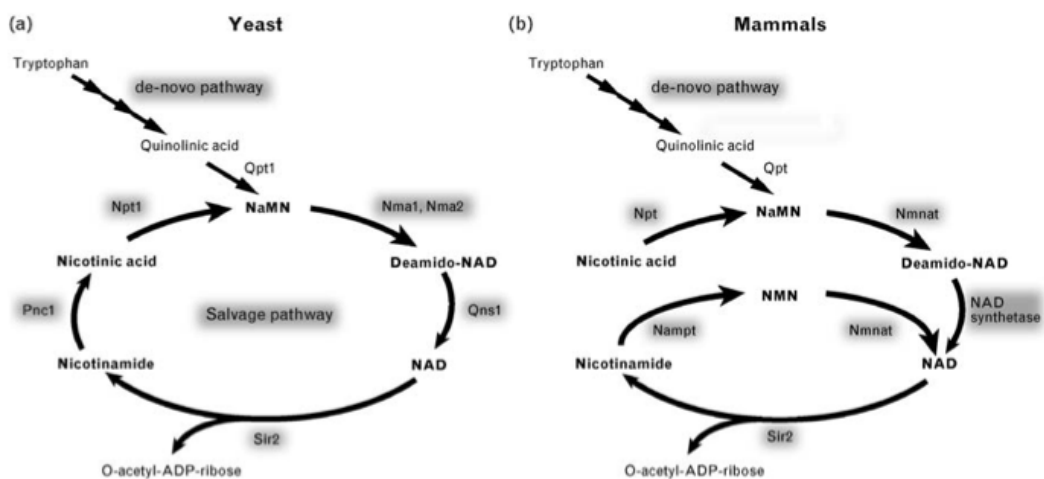


Abbildung 5) NAD-Biosynthese im Vergleich von (a) Hefe (engl. yeast) und (b) Säugetieren (engl. mammals)

(Revollo, Grimm, and Imai 2007, 164-170) Qpt = Quinolinic acid phosphoribosyltransferase; Npt = Nicotinsäurephosphoribosyltransferase; NaMN = Nicotinic acid mononucleotide; NMNAT = Nicotinic acid mononucleotide adenyltransferase; Sir2 = Silent information regulator 2; NMN = Nicotinamide mononucleotide; NAMPT = Nicotinamide phosphoribosyltransferase

De novo entsteht demnach bei Säugetieren NAD aus der essentiellen Aminosäure Tryptophan, die über Chinolinsäure durch Nicotinsäurephosphoribosyltransferase (NPT) mit Nicotinsäure (Syn.: Vitamin B₃) zu Nicotinsäuremononukleotid (engl. Nicotinic acid Mononucleotide = NaMN) reagiert und in den Stoffwechsel übergeht. NMNAT katalysiert im Stoffwechsel die Reaktion von NaMN zu NAD (s. Abb. 5).

Der Stoffwechsel beginnt nach der Spaltung von NAD in ADP-Ribose und Nicotinsäureamid durch NAD-verbrauchende Enzyme wie beispielsweise Sirtuine, PARPs oder CD38. ADP-Ribose wird durch Nicotinamid-Ribose-Kinase zu NaMN katalysiert und geht auf diese Weise wieder in den Stoffwechsel über. NAMPT ist

wie beschrieben an der Reaktion von Nicotinsäureamid zu NMN beteiligt, das anschließend durch NMNAT zu NAD adenyliert wird (siehe Abb. 4 und 5) (Revollo, Grimm, and Imai 2007, 164-170)

Den Beweis für die Schlüsselrolle von Visfatin/PBEF/NAMPT im NAD-Stoffwechsel lieferten 1972 Collins et al. In ihren Versuchen verwendeten sie radioaktiv markierte Nicotinsäure und Nicotinsäureamid. Das Ergebnis zeigte, dass NAD zum überwiegenden Anteil über den von Visfatin/PBEF/NAMPT katalysierten Stoffwechselweg synthetisiert wird (Collins and Chaykin 1972, 778-783).

Visfatin/PBEF/NAMPT ist somit als limitierender Faktor für das Substrat NAD indirekt an einer Vielzahl zellulärer Prozesse beteiligt. Denn NAD ist als essenzieller Cofaktor für wichtige intrazelluläre Reaktionen wie Energiestoffwechsel, Mitochondrienfunktion, Calciumhomöostase, Antioxidation, Genexpression, Immunfunktionen, Altern und Zelltod von Bedeutung (Ying 2008, 179-206).

Lange Zeit galt die NAD-Biosynthese als ein rein intrazellulärer Prozess, der im Zytoplasma, Nucleus und Mitochondrien abläuft. Seit der Entdeckung von Visfatin bzw. PBEF von Fukuhara sowie Samal et und ihren jeweiligen Kollegen ist neben der intrazellulären Form, iNAMPT(/Visfatin/PBEF), eine extrazellulär enzymatisch aktive Form, eNAMPT(/Visfatin/PBEF), bekannt. Die extrazelluläre Variante hat im Vergleich zur intrazellulären eine höhere enzymatische Aktivität (Revollo et al. 2007, 363-375).

Untersuchungen an genetisch modifizierten Mäusen mit Visfatin/PBEF/NAMPT-Mangel (NAMPT^{+/-}) und Visfatin/PBEF/NAMPT^{+/-}-Inselzellen des Pankreas zeigten eine gestörte Glukosetoleranz sowie erniedrigte Glukose-stimulierte Insulin-Sekretion (GSIS). Dieser pathophysiologische Zustand konnte durch NMN-Applikation korrigiert werden. Auch die artifizielle Inhibierung von Visfatin/PBEF/NAMPT in der NAD-Synthese durch FK866 konnte durch die Gabe von NMN durchbrochen werden. Im Blutplasma von Mäusen und kultivierten Muskelzellen konnte mithilfe des High-pressure liquid Chromatography (HPLC) Messverfahrens im Rahmen der Studie eine physiologische NMN-Konzentration gemessen werden (Revollo et al. 2007, 363-375).

Revollo et al. schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, dass ein extrazellulär synthetisierter NMN-Spiegel für die β -Zellfunktion von Bedeutung sein könnte. Aus diesen Erkenntnissen wurde die Theorie entwickelt, dass in verschiedenen Zelltypen unterschiedlich hohe intrazelluläre Visfatin/PBEF/NAMPT-Konzentrationen vorhanden sein könnten, sodass bei niedrigen intrazellulären Visfatin/PBEF/NAMPT-Konzentrationen bei Bedarf auf extrazellulär synthetisiertes NMN zugegriffen werden kann (Revollo et al. 2007, 363-375). Garten et al. haben diese Theorie in Form einer Abbildung dargestellt (siehe Abb. 6). Eine detaillierte Vorstellung der Studienergebnisse über die Rolle von Visfatin/PBEF/NAMPT für die β -Zellfunktion erfolgt im Kapitel 8.8.

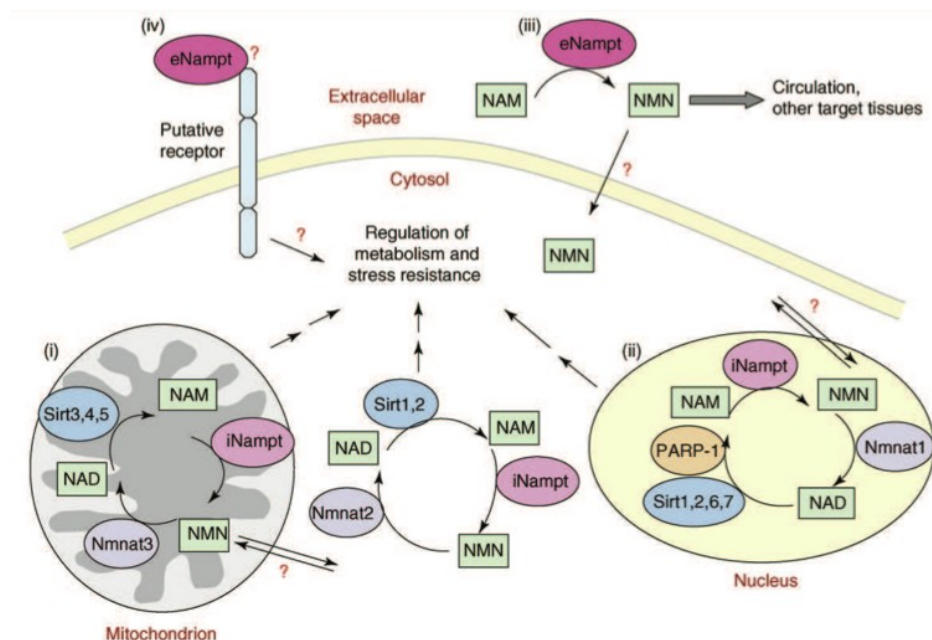


Abbildung 6) Hypothetisches Funktionsmodell für (Visfatin/PBEF)/NAMPT im Zellstoffwechsel; (Visfatin/PBEF)/NAMPT ist ein intra- (i) und extrazellulär (e) funktionstüchtiges Enzym in der NAD-Biosynthese. NAMPT katalysiert die Reaktion von Nicotinamidmononukleotid (NMN) aus Nicotinamid (NAM). NMN wird durch drei zellorganell-spezifische Isoformen von Nicotinamid-Mononukleotidadenylyltransferase (NMNAT 1-3) in NAD umgewandelt. iNAMPT ist in verschiedenen zellulären Kompartiments lokalisiert und synthetisiert NAD für die Aufrechterhaltung des Zellstoffwechsels und gegen oxidativen Stress. In diesen Funktionen spielen z. B. NAD-konsumierende Enzyme wie Sirtuine (Sirt 1-7) oder Poly(ADP-Ribose)Polymerase-1 (PARP-1) eine bedeutende Rolle. Der NAD-Stoffwechsel in (i) Mitochondrien und (ii) Zellkern wird möglicherweise durch den Austausch von NAD-Metaboliten mit dem Zytoplasma beeinflusst. (iii) eNAMPT synthetisiert NMN, das möglicherweise autokrin/parakrin wirkt und/oder zu anderen Zielgeweben transportiert wird, wo es z. B. an β -Zellen die GSIS stimuliert oder in andere biologische Vorgängen involviert ist. (iv) Möglich ist auch eine Funktion als Zytokin über die Bindung und Aktivierung eines bisher nicht identifizierten Rezeptors (Garten et al. 2009, 130-138).

Es besteht die Möglichkeit, dass die NAD-Synthese, insbesondere iNAMPT, mit zunehmendem Alter und damit einhergehendem erhöhtem oxidativen Stress

sowie durch Erkrankungen mit chronischer systemischer Entzündung gestört wird und als Kompensation auf extrazellulär synthetisiertes NMN zurückgegriffen werden muss (siehe Abb. 7) (Imai and Yoshino 2013, 26-33).

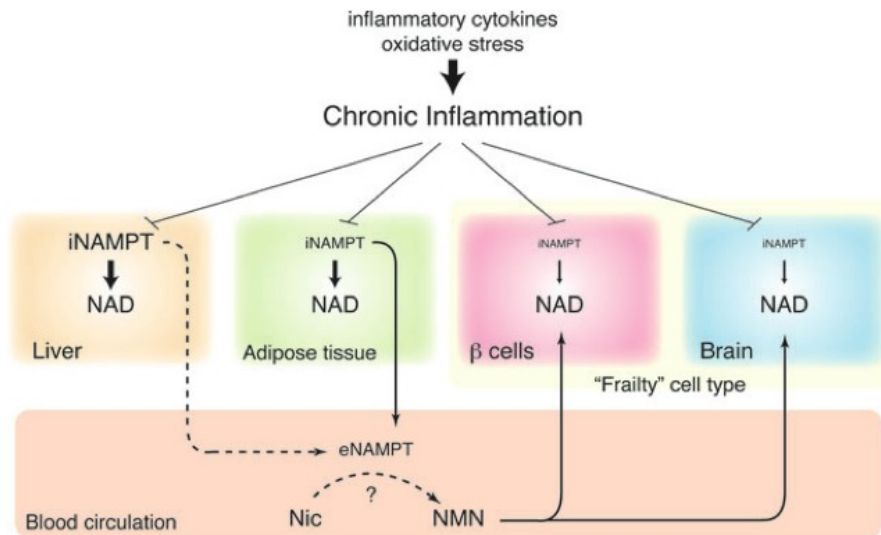


Abbildung 7) Konzept der "NAD-World" bei chronisch entzündlichen Prozessen; β -Zellen des Pankreas und Neurone des ZNS sind zwei bedeutende Schwachstellen in der NAD-World, weil beide Zelltypen geringe Konzentrationen von iNAMPT aufweisen. Beide Zelltypen sind auf extrazellulär synthetisiertes NMN angewiesen, das möglicherweise von eNAMPT synthetisiert wird, um einen optimalen intrazellulären NAD-Spiegel aufrechtzuerhalten. eNAMPT stammt aus einem Gewebe mit höherer NAMPT-Expression, wie z. B. Fettgewebe, und katalysiert die Reaktion von im Blutkreislauf befindlichem Nicotinamid (Nic) zu NMN. Chronische Entzündungsprozesse werden durch entzündliche Zytokine und oxidativen Stress verursacht, was möglicherweise zu einer Senkung der iNAMPT- und NAD-Spiegel führt und in weiterer Folge zur Entwicklung von mit dem Alter assoziierten metabolischen Komplikationen wie z. B. DM2 beitragen kann. Unklar ist weiterhin, ob chronische Entzündungsprozesse im Fettgewebe auch eine Senkung des eNAMPT-Spiegels herbeiführen und somit die Funktionen von Zelltypen mit schwach ausgeprägter NAMPT-Expression beeinflussen (Imai and Yoshino 2013, 26-33).

Die Theorie der „Visfatin/PBEF/NAMPT-medierten systemischen NAD-Biosynthese“ ist in der Literatur nicht unumstritten. Untersuchungen von Hara et al. konnten die Theorie nicht bestätigen, da sie keine NMN-Konzentration im Blutplasma von Mäusen messen konnten. Hara et al. verwendeten zu diesem Zweck mit der „highly specific and sensitive liquid Chromatography/Tandem mass Spectrometry“ ein anderes Messverfahren. Zudem führen sie drei Studienergebnisse gegen die Theorie auf. Erstens, Hara et al. stellten fest, dass ATP ein essenzieller Aktivator für die enzymatische Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT ist und ATP mit intrazellulär vergleichbaren Konzentrationen für die Aktivierung benötigt wird. Zweitens, im Blutplasma sind, trotz des Vorhandenseins des Substrats Nicotinsäureamid die wichtigen

Kosubstrate PRPP nicht und ATP nur in unzureichender Konzentration vorhanden. Drittens, das Hinzufügen von Visfatin/PBEF/NAMPT ins Blutplasma hat auch in unphysiologisch hohen Konzentrationen nicht zur Katalyse von NAM zu NMN geführt (Hara et al. 2011, e22781). Diese Ergebnisse wurden bis heute nicht bestätigt.

Der Funktionsmechanismus von Visfatin/PBEF/NAMPT als Enzym ist in der aktuellen Literatur am besten durch Ergebnisse belegt. Es lassen sich möglicherweise auch die zytokinähnliche Wirkung von Visfatin/PBEF/NAMPT und dessen Funktion in der Glukosehomöostase durch die Schlüsselrolle in der NAD-Synthese erklären.

Besondere Beachtung findet in der aktuellen Literatur die NAD-konsumierende Enzymgruppe der „Sirtuins“ / „Sir-2 like Proteins“ (engl. Silent Information Regulator -2) oder „Sirtuine“ (dt.), die über ihre Deacetylase-Aktivität an der Regulation zahlreicher intrazellulärer Stoffwechselfunktionen bei Säugetieren beteiligt sind. Insgesamt sind beim Menschen sieben verschiedene „silent mating type information regulation homologs“ (SIRT) 1-7 bekannt. SIRT-1 ist besonders aufgrund seiner Funktion im Energiestoffwechsel das meist beschriebene Sirtuin. SIRT-3, -4 und -5 sind in Mitochondrien aktiv (Abdellatif 2012, 642-656; Imai and Yoshino 2013, 26-33; Yu and Auwerx 2009, E10-9; Preyat and Leo 2013, 669-680). Über SIRT-2, -6 und -7 ist vergleichsweise wenig Literatur veröffentlicht. Visfatin/PBEF/NAMPT ist als Schlüsselenzym in der NAD-Biosynthese zusammen mit den NAD-verbrauchenden Sirtuinen, insbesondere SIRT-1, Bestandteil der sogenannten NAD-World. Der Begriff „NAD-World“ umfasst die komplexe Interaktion zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und NAD, SIRT-1 und dessen Auswirkung auf die Stoffwechselhomöostase (Imai 2009, 65-74). SIRT-1 wird mit einem GSIS steigernden Effekt und immunregulatorischen Eigenschaften in Verbindung gebracht (Preyat and Leo 2013, 669-680; Yu and Auwerx 2009, E10-9). Es handelt sich hierbei um ein vielversprechendes Modell, mit dessen Hilfe die funktionellen Eigenschaften von Visfatin/PBEF/NAMPT erklärt werden könnten.

Zusammenfassend sind die aktuellen Studienergebnisse in Bezug auf die enzymatische Funktion am besten belegt und liefern treffende Funktionsmodelle

für die Rolle von Visfatin/PBEF/NAMPT in Immunregulation und Glukosehomöostase. Visfatin/PBEF/NAMPT könnte als wichtigster NAD-Lieferant indirekt an einer Vielzahl von zellulären Stoffwechselprozessen beteiligt sein und durch eine Reaktionskaskade auch messbare Auswirkungen auf die Glukosehomöostase und Immunregulation haben. Die NAD-konsumierenden Sirtuine könnten eine Erklärung dafür sein. Die genauen Funktionsmechanismen müssen in weiteren Studien tiefergreifender untersucht werden. Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse von Visfatin/PBEF/NAMPT unter pathophysiologischen Gesichtspunkten vorgestellt.

8.7 Visfatin/PBEF/NAMPT unter pathophysiologischen Gesichtspunkten

Der aktuelle Kenntnisstand über die physiologische Funktion macht Visfatin/PBEF/NAMPT zu einem multifunktionellen Protein (siehe Kap. 8.6). Der mögliche Einfluss auf Glukosehomöostase, Immunregulation sowie die enzymatische Rolle in der NAD-Biosynthese eröffnet ein breites Forschungsspektrum in medizinisch bedeutenden Bereichen wie Adipositas, Diabetes mellitus, kardio- / cerebro-vaskuläre Erkrankungen, akut und chronisch entzündliche Erkrankungen und Krebs. Dieses Kapitel soll einen Überblick über die aktuellen Forschungsgebiete geben, in denen Visfatin/PBEF/NAMPT untersucht wird.

8.7.1 Visfatin/PBEF/NAMPT bei Stoffwechselkrankheiten

Visfatin/PBEF/NAMPT ist durch die Erkenntnis der Expressierung in viszeralen Adipozyten und Entzündungszellen (siehe Kap. 8.2) sowie durch die funktionelle Beteiligung an Glukosehomöostase und immunologischen Prozessen (siehe Kap. 8.6) in das Interesse der Wissenschaft gerückt, da es eine potenzielle Verbindung zwischen dem Risikofaktor viszerale Adipositas und deren Komplikationen Insulin-Resistenz, Diabetes mellitus, Dyslipidämie, endotheliale Dysfunktion,

Atherosklerose, Hypertension, metabolisches Syndrom und damit in Verbindung stehenden kardiovaskulären Ereignissen wie KHK, akutes Koronarsyndrom und Myokardinfarkt herstellt (Siegenthaler and Blum 2006, 200-205; Samara et al. 2008, 568-574; Romacho, Sanchez-Ferrer, and Peiro 2013, 946427). Weißes Fettgewebe, insbesondere weißes viszerales Fettgewebe, synthetisiert eine Reihe proinflammatorischer Zytokine, wie z. B. TNF- α und IL-6 (siehe Kap. 8.6.1), die bei Adipositas neben anderen Faktoren einen Status chronischer Entzündung herbeiführen (Samara et al. 2008, 568-574; Visser et al. 2001, E13; Fontana et al. 2007, 1010-1013). Adipositas und chronische Entzündungen gelten als Risikofaktoren für die Entwicklung der oben aufgeführten Komplikationen (Siegenthaler and Blum 2006, 200-205; Samara et al. 2008, 568-574), die in weiterer Folge für kardio- / cerebrovaskuläre Ereignisse prädisponieren (Franks 2006, 837-840; Siegenthaler and Blum 2006, 200-205; Wang, Vanhoutte, and Miao 2012, 1-9). Visfatin/PBEF/NAMPT wird bei Adipositas eine proinflammatorisch dominierte Wirkung zugesprochen (siehe Kap. 8.6.1). Auf welchen pathophysiologischen Mechanismen diese Wirkung beruht, ist Gegenstand aktueller Studien.

Ein Schwerpunkt mit einer hohen Publikationsdichte liegt auf Untersuchungen von Visfatin/PBEF/NAMPT im Zusammenhang mit Adipositas und Diabetes mellitus, insbesondere von Typ II. Ziel der Studien war es, die Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT bei Adipositas, einem Zustand chronischer Entzündung (Samara et al. 2008, 568-574), bei der Entwicklung von Insulin-Resistenz und schließlich die Rolle von Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM2 zu ergründen. Dazu wurden die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei adipösen Erwachsenen und später auch bei Studienpopulationen mit adipösen Kindern und Jugendlichen untersucht und mit Kontrollgruppen in Beziehung gesetzt. Die Ergebnisse waren widersprüchlich. Insbesondere bei Erwachsenen wurden signifikant erhöhte, aber auch signifikant erniedrigte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel beschrieben (Pagano et al. 2006, 3165-3170; Haider et al. 2006, 1578-1581). Im Gegensatz dazu stehen Studien, die die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Kindern und Jugendlichen gemessen haben. Darin ergaben sich zum Großteil höhere Spiegel als in den Kontrollgruppen (Haider et al. 2006, 548-549). Als Begründung wurde

ein geringeres Risiko einer Beeinflussung der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel durch bekannte oder unerkannte Nebenerkrankungen oder potenziell beeinflussende langwährende Therapieregime als Störfaktoren benannt (Friebe et al. 2011, 1200-1211). In Anbetracht des Risikofaktors Adipositas für DM2 lag ein besonderes Augenmerk auf potenziellen Korrelationen von Visfatin/PBEF/NAMPT mit Insulin-Resistenz und -Sensitivität sowie auf Zusammenhängen zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln und dem BMI. Die Literatur weist auch hier kontroverse Ergebnisse auf (Davutoglu et al. 2009, 22-27; Haider et al. 2006, 548-549; Jin et al. 2008, 412-418).

Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Messungen bei DM2 ergaben ebenfalls widersprüchliche Ergebnisse. Signifikant höhere Werte wurden als Kompensation der Hypoinsulinämie und Hyperglykämie bewertet (Zhu et al. 2008, 801-805). Li et al. begründeten die vergleichsweise niedrigeren Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel ihrer Studie im Vergleich zur Kontrollgruppe mit einer dysregulierten Biosynthese von Visfatin/PBEF/NAMPT durch Hyperglykämie und Hyperinsulinämie. Es wurde vermutet, dass chronische Hyperglykämie und Hyperinsulinämie zu einer erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Bindung an Insulin-Rezeptoren mit anschließender reaktiver Down-Regulation der Visfatin/PBEF/NAMPT-Konzentration führen (Li et al. 2006, 544-548).

Auch die Untersuchungen bei DM1 wiesen widersprüchliche Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel auf. Drei Vorläuferstudien haben signifikant höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel gemessen (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875; Haider et al. 2006, 4702-4704; Stadler et al. 2010, 763-769), zwei Studien im Vergleich zur Kontrollgruppe niedrigere Visfatin-Werte (Toruner et al. 2009, 33-37; Alexiadou et al. 2012, 444-450). Erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel wurden als kompensatorische Antwort auf den Funktionsverlust der β -Zellen mit resultierender Hypoinsulinämie und Hyperglykämie interpretiert (Haider et al. 2006, 4702-4704; Stadler et al. 2010, 763-769). Niedrigere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel wurden mit einer synergistischen Reaktion auf den Insulin-Mangel (Alexiadou et al. 2012, 444-450) oder durch differierende Studienpopulationen

erklärt (Toruner et al. 2009, 33-37). Die Studien zum Thema Visfatin/PBEF/NAMPT und DM1 werden im Kapitel 8.9 vorgestellt.

Gestationsdiabetes mellitus (GDM) ist durch eine erstmals in der Schwangerschaft aufgetretene pathologische Glukosetoleranz charakterisiert (Siegenthaler and Blum 2006, 622 + 702). Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Messungen ergaben kontroverse Ergebnisse. Krzyzanowska et al. haben signifikant höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Schwangeren mit GDM im Vergleich zu gesunden Schwangeren gemessen (Krzyzanowska et al. 2006, 605-609). Im Gegensatz dazu stellten Akturk et al. signifikant niedrigere Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Akturk et al. 2008, 610-613).

Die Suche nach Ursachen für die kontroversen Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Ergebnisse schloss auch die Untersuchung der Messverfahren ein, um in Zukunft ein einheitliches und das am besten geeignete Verfahren für Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Messungen verwenden zu können. Da es nicht nur im Zusammenhang mit Adipositas, sondern auch bei DM1 und 2 sowie bei Gestationsdiabetes zur Publikation kontroverser Ergebnisse gekommen ist, untersuchten Körner et al. 2007 in einer Studie folgende drei Immunoassays zur Messung von Visfatin/PBEF/NAMPT: Enzyme Immunoassay (EIA), Radioimmunoassay und Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Im Ergebnis zeigten sich qualitative und quantitative Diskrepanzen in der Messung der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel. Im Test schnitt der ELISA zur Messung von Visfatin/PBEF/NAMPT am besten ab, da im Bereich von 100 kDa die besten Messungen erzielt wurden. Genau in diesem Bereich liegt die enzymatisch aktive Form von Visfatin/PBEF/NAMPT als Dimer mit ca. 110 kDa vor (siehe Kap. 8.3) (Kim et al. 2006, 66-77). Die Ergebnisse unterstützen somit die Vermutung, dass Visfatin/PBEF/NAMPT in aktiver Form als Dimer zirkuliert. Es ist allerdings unklar, ob Visfatin/PBEF/NAMPT zu Multimerisation fähig ist oder sich an andere Makromoleküle bindet. Als Ergebnis präsentierten Körner et al. in ihrer Studie den ELISA als spezifischsten Test für die Messung von Visfatin/PBEF/NAMPT (Körner et al. 2007, 4783-4791).

Zusammenfassend haben Studien zu Visfatin/PBEF/NAMPT im Zusammenhang mit Stoffwechselkrankheiten im Vergleich zu anderen Bereichen in deren Zusammenhang Visfatin/PBEF/NAMPT untersucht wurde verhältnismäßig viele widersprüchliche Ergebnisse geliefert. Die Gründe für die divergierenden Ergebnisse sind unklar. Messverfahren wurden geprüft, um standardisierte und bestmögliche Messungen vornehmen zu können. Eine Studie über ein neues Visfatin/PBEF/NAMPT-Messverfahren wurde kürzlich publiziert (Park et al. 2012, 233-238). Dennoch sind eine Vielzahl potenzieller Störeinflüsse bei einem derart komplex wirkenden Protein denkbar, besonders wenn die heute messbaren Funktionen, z. B. Blutzuckersenkung oder Zytokinausschüttung, indirekt über NAD durch eine Kaskade von Folgereaktionen ausgelöst werden könnten. Dies könnte die Zahl der potenziellen Einflussfaktoren erhöhen. Um bessere Ergebnisse generieren zu können, müssen nicht nur die Messverfahren und die Auswahl der Studienpopulation optimiert werden, sondern Studien auch weitere Ergebnisse über die grundlegenden Funktionsmechanismen liefern.

8.7.2 Visfatin/PBEF/NAMPT und kardio- / cerebrovaskuläre Erkrankungen

Die Untersuchungen von Visfatin/PBEF/NAMPT bei kardio- und cerebrovaskulären Erkrankungen haben gezeigt, dass es in diesem Kontext negative und positive Effekte zu haben scheint. Negativ sind die proatherosklerotischen und plaquedestabilisierenden Wirkungen. Positiv wirkt sich Visfatin/PBEF/NAMPT auf die Infarktgröße bei akutem Myokardinfarkt aus.

Visfatin/PBEF/NAMPT wirkt proatherosklerotisch, da es einen direkten proliferativen Effekt auf die vaskuläre glatte Muskulatur hat sowie indirekt durch die VEGF-Synthese stimuliert (Wang et al. 2009, 370-380), proinflammatorisch durch die Ausschüttung von TNF- α , IL-8 wirkt (Dahl et al. 2007, 972-980) und Cell Adhesion Molecules“, wie z. B. ICAM-1, die zum Leukozyten-Recruitment führen, aktiviert (Kim et al. 2008, 886-895). Dabei handelt es sich um Schlüsselmechanismen in der Entwicklung von Atherosklerose (Siegenthaler and Blum 2006, 622 + 702). Erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Adipositas könnten auf diese Weise zur Entstehung von Atherosklerose beitragen. Mazaherioun et al. haben bei akutem Myokardinfarkt erhöhte

Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel gemessen und schlossen aus ihren Ergebnissen, dass Visfatin/PBEF/NAMPT neben dem Beitrag zur Entwicklung von Atherosklerose auch einen Plaque-destabilisierenden Einfluss hat (Mazaherioun et al. 2012, 688-692).

Andere Studienautoren wiesen im Gegensatz zur proatherosklerotischen Eigenschaft einen positiven Einfluss von Visfatin/PBEF/NAMPT bei Ischämie nach. Dabei wirkte sich Visfatin/PBEF/NAMPT im Maus-Modell nach i.v.-Applikation positiv auf die Ischämie-Reperfusion aus und zeigte einen kardioprotektiven Effekt (Lim et al. 2008, 1395-1403). Auch cerebral wirkt Visfatin/PBEF/NAMPT protektiv bei Ischämie. Dies zeigen Ergebnisse vom „zerebralen Ischämie-Maus-Modell“, in dem Visfatin/PBEF/NAMPT-Mangel-Mäuse, sog. Visfatin/PBEF/NAMPT^{+/-}-Mäuse, nach Photothrombose erhöhte neuronale Degeneration aufwiesen (Zhang et al. 2010, 1962-1971).

Genaue Funktionsmechanismen im kardio- und cerebrovaskulären Bereich sind Gegenstand aktueller Studien.

8.7.3 Visfatin/PBEF/NAMPT und chronisch entzündliche Erkrankungen

Ein weiterer Schwerpunkt ist die Untersuchung von Visfatin/PBEF/NAMPT im Rahmen seiner immunregulatorischen Funktion bei nicht-stoffwechselassoziierten akut und chronisch entzündlichen Erkrankungen.

Die Studien wurden im Zusammenhang mit Pneumonie (Hu et al. 2013, 8-12), Acute Lung Injury (Zhang et al. 2008, 1802-1808), Sepsis (Lee and Gong 2011, 382-390), chronisch entzündlicher Darmerkrankung (Moschen et al. 2007, 1748-1758), Psoriasis (Koczan et al. 2005, 251-257), rheumatoider Arthritis (Meier et al. 2012, 28378-28385), Lupus erythematodes (Chung et al. 2009, 799-806), M. Behçet (Sezen et al. 2012, 405-408), M. Hashimoto und M. Basedow (Ozkaya et al. 2009, 435-439) durchgeführt.

Dieses Kapitel soll einen Überblick auf die Vielfältigkeit der Untersuchungen, die im Zusammenhang mit Visfatin/PBEF/NAMPT stattfinden. Daher wird von einer detaillierten Vorstellung der Studienergebnisse Abstand genommen, um den Rahmen einer Diplomarbeit nicht zu sprengen.

8.7.4 Visfatin/PBEF/NAMPT und Krebs

Visfatin/PBEF/NAMPT steht im Interesse der Krebsforschung, da es das zellbiologisch essentielle Substrat, NAD, für intrazelluläre Prozesse liefert. Studien haben gezeigt, dass die Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression bei einigen Zelllinien von Kolorektal- (Hufton et al. 1999, 77-82), Brust- (Folgueira et al. 2005, 7434-7443), Magen- (Nakajima et al. 2009, 685-690), Pankreas- (Bauer et al. 2009, 97-107) und Prostatakrebs (Patel et al. 2010, 51-57) sowie bei malignen Astrozytomen (Reddy et al. 2008, 663-668) erhöht ist. Die Schlussfolgerung aus diesen Ergebnissen war, dass die erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel als Reaktion auf einen erhöhten NAD-Bedarf der metabolisch hochaktiven Krebszellen zustande kommen. Chemotherapeutika der NAD-Analoga haben zuvor klinisch enttäuscht, da sie den gesamten Zellstoffwechsel blockierten und generell zytotoxisch wirkten. Die Hemmung von Visfatin/PBEF/NAMPT und somit dem NAD-Stoffwechselweg führt zur Apoptose von Krebszellen. Dabei kam es nicht zur Intoxikation von NAD-abhängigen Redoxreaktionen und somit auch nicht zur Störung der Atmungskette. Zudem hat sich gezeigt, dass Krebszellen verletzlicher gegenüber der Visfatin/PBEF/NAMPT-Blockade sind, als gesunde Zellen. Den ersten Visfatin/PBEF/NAMPT-Inhibitor FK866/APO866 gibt es seit 2003. Mit CHS828/GMX1777 ist ein weiterer Inhibitor von Visfatin/PBEF/NAMPT auf den Markt gekommen (Bi and Che 2010, 119-125; Zhang, Heruth, and Ye 2011, 13-25).

Dieses Kapitel sollte die Vielseitigkeit der wissenschaftlichen Untersuchungen im Zusammenhang mit Visfatin/PBEF/NAMPT demonstrieren und für die großen Forschungsbereiche jeweils eine Zusammenfassung liefern. Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse des Einflusses von Visfatin/PBEF/NAMPT auf die β -Zellfunktion vorgestellt, um im Weiteren auf die Ergebnisse von Visfatin/PBEF/NAMPT und DM1 eingehen zu können.

8.8 Visfatin/PBEF/NAMPT und β -Zellfunktion

Die β -Zellfunktion ist durch die Synthese des Schlüsselhormons Insulin für die Glukosehomöostase von großer Bedeutung und spielt eine zentrale Rolle in der

Pathogenese von Diabetes mellitus. Studien haben zeigen können, dass Visfatin/PBEF/NAMPT einen Einfluss auf die Glukosehomöostase hat. Dieser scheint über eine Steigerung der GSIS aus β -Zellen zu stande zu kommen (Brown et al. 2010, 171-178). Im weiteren Kapitelverlauf werden die aktuellen Ergebnisse über Visfatin/PBEF/NAMPT im Zusammenhang mit der β -Zellfunktion vorgestellt.

Revollo et al. konnten in ihren Studienergebnissen zeigen, dass Visfatin/PBEF/NAMPT über die Schlüsselfunktion in der NAD-Synthese einen Einfluss auf β -Zellen und auf diese Weise auf die Glukosehomöostase hat (siehe Kapitel 8.6.3). So weisen weibliche Mäuse mit einem Visfatin/PBEF/NAMPT-Mangel (Visfatin/PBEF/NAMPT^{+/-}-Mäuse) eine gestörte Glukosetoleranz und signifikant reduzierte GSIS im OGTT auf. Bei männlichen NAMPT^{+/-}-Mäusen ist dies dagegen nicht der Fall. Die Ergebnisse konnten in vitro an isolierten Visfatin/PBEF/NAMPT^{+/-}-Inselzellen bestätigt werden. Eine intraperitoneale NMN-Applikation führte zu einer Besserung der gestörten GSIS. Auch nach Inhibierung der NAD-Biosynthese mit FK866 konnte die β -Zellfunktion nach NMN-Applikation wieder normalisiert werden. Somit wurde die Theorie aufgestellt, dass bei β -Zellen ein Bedarf von extrazellulär synthetisiertem NMN vorherrscht und ein gewisser Serum-NMN-Spiegel für β -Zellen funktionell von Bedeutung ist (siehe Abb. 8) (Revollo et al. 2007, 363-375).

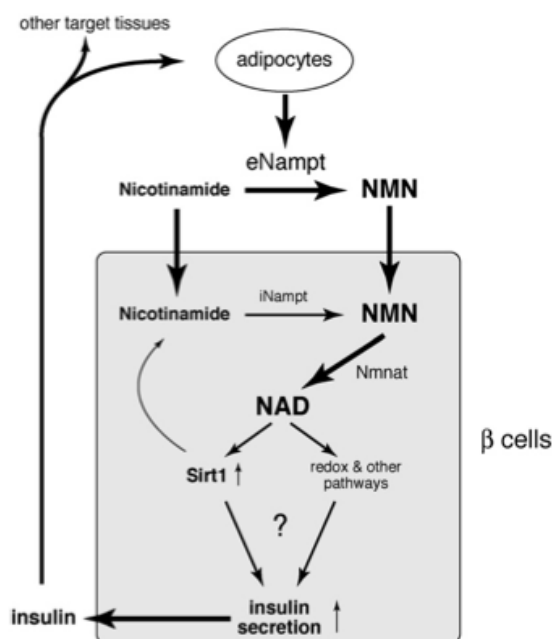


Abbildung 8) Regulationsmodell der Insulin-Sekretion bei Visfatin/PBEF/NAMPT-mediierter systemischer NAD-Biosynthese; In diesem Modell liefert extrazelluläres (e)NAMPT (=Visfatin/PBEF) Substrat in Form von NMN für die intrazelluläre NAD-Synthese. NAD dient als Substrat für Sirt1 und andere intrazelluläre Stoffwechselwege, die die Insulin-Sekretion erhöhen. Dabei ist der genaue Mechanismus noch nicht bekannt. Dieses Modell soll die geringere intrazelluläre (i) NAMPT-Konzentration im Vergleich zur eNAMPT (Visfatin/PBEF)-Konzentration verdeutlichen. eNAMPT/Visfatin/PBEF könnte wie in diesem Beispiel von Adipozyten stammen. (Revollo et al. 2007, 363-375)

Brown et al. konnten in ihrer Studie nachweisen, dass Visfatin/PBEF/NAMPT zu einer signifikant höheren GSIS führt. Der Effekt von NMN auf die GSIS war im Vergleich nicht signifikant (Brown et al. 2010, 171-178). Spinnler et al. konnten eine verbesserte GSIS durch Visfatin/PBEF/NAMPT und NMN nur bei hohen Glukosekonzentrationen feststellen. Bei niedrigen Glukosespiegeln und in einem diabetogenen Milieu mit chronischer Glukose- und Zytokintoxizität (Palmitat, IL-1 β , IFN- γ) konnten keine signifikanten GSIS-Änderungen gemessen werden. Ein antiapoptotischer Effekt von Visfatin/PBEF/NAMPT auf β -Zellen in einem artifiziellen diabetogenen Milieu konnte von Spinnler et al. nicht beobachtet werden. So zeigte Visfatin/PBEF/NAMPT oder NMN keine Wirkung auf die apoptotische Wirkung von Palmitat, IL-1 β und IFN- γ (Spinnler et al. 2013, e54106).

Zuvor hatten Cheng et al. einen antiapoptotischen Effekt von Visfatin/PBEF/NAMPT auf klonale Maus-Pankreas-Inselzellen (MIN6) feststellen können. Visfatin/PBEF/NAMPT schützte MIN6 vor Palmitat-induzierter Apoptose über ERK1/2- und PI3K/AKT-Signalwege. Dabei kam es zu signifikant erhöhten Bcl-2/Bax-Verhältnissen und einer Inhibierung von Cytochrom C und Caspase 3. Erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Adipositas wurden mit einem kompensatorischen Mechanismus zur β -Zell-Protektion durch Lipotoxizität interpretiert (Cheng et al. 2011, 13-21).

Kover et al. haben die Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression, -Sekretion und -Regulation bei isolierten menschlichen Inselzellen untersucht. Zuvor war nur der Einfluss von Visfatin/PBEF/NAMPT auf die β -Zellfunktion untersucht worden. Es stellte sich heraus, dass während der fetalen Entwicklung Visfatin/PBEF/NAMPT in exokrinen und endokrinen Zellen des Pankreas exprimiert wird. Nach der Geburt sinkt die Expression in exokrinen Zellen und bleibt konstant in endokrinen Zellen des Pankreas, dabei überwiegend in β -Zellen. Dieser Trend stabilisiert sich im Erwachsenenalter. Keinen Unterschied gab es in diesem Zusammenhang zwischen der Visfatin/PBEF/NAMPT-Genexpression und dem Alter. Es zeigte sich weiter, dass die Visfatin/PBEF/NAMPT-Sekretion glukose-sensitiv ist. Allerdings kam es nur bei hohen Glukosekonzentrationen zu einer erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Sekretion aus β -Zellen. Hohe Glukosekonzentrationen führten auch zur erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Genexpression, jedoch konnte keine signifikante Visfatin/PBEF/NAMPT Proteinexpression gemessen werden.

Für die Sekretion von Visfatin/PBEF/NAMPT ist, ähnlich wie bei Insulin, eine Membrandepolarisation mit Ca^{2+} -Einstrom für die Exozytose notwendig. Dies zeigte sich durch die verminderte Visfatin/PBEF/NAMPT-Sekretion bei Verwendung von Diazoxid und Nifedipin, die als Kaliumkanalöffner und Calciumkanal-Antagonist zu einer Inhibierung der β -Zell-Depolarisation führen. Die enzymatische Aktivität von Visfatin/PBEF/NAMPT konnte bestätigt werden. Untersuchungen zeigten keine Bindung an β -Zellen. Kover et al. schließen wie Revollo et al. aus ihren Ergebnissen, dass die Hauptrolle von Visfatin/PBEF/NAMPT in der extrazellulären Synthese von NMN liegt, um eine β -Zelldysfunktion auszugleichen und vor metabolischem und oxidativem Stress zu schützen (Kover et al. 2013, e58767; Revollo et al. 2007, 363-375).

Die GSIS-steigernde Wirkung von Visfatin/PBEF/NAMPT ist möglicherweise durch das NAD-abhängige Sirtuin SIRT-1 vermittelt. SIRT-1-Knockdown-Mäuse haben eine verminderte Insulin-Sekretion, wohingegen eine SIRT-1-Überexpression zu einer gesteigerten GSIS führt (Moynihan et al. 2005, 105-117; Bordone et al. 2006, e31).

Zusammenfassend können die aktuellen Studienergebnisse einen GSIS-steigernden Effekt von Visfatin/PBEF/NAMPT nachweisen. Visfatin/PBEF/NAMPT könnte diese Funktion indirekt als Enzym in der NAD-Biosynthese über das NAD-konsumierende SIRT-1 auslösen. Ein protektiver Effekt von Visfatin/PBEF/NAMPT im diabetogenen Milieu wird kontrovers diskutiert. Im folgenden Kapitel werden die Vergleichsstudien von Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 vorgestellt.

8.9 Visfatin/PBEF/NAMPT und Diabetes mellitus Typ I

Die Rolle von Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 wurde seit seiner Entdeckung in fünf Studien untersucht. In allen Untersuchungen wurden die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Erwachsenen mit DM1 gemessen. Dabei ergaben sich in Bezug auf die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel kontroverse Ergebnisse. Die genauen Daten werden im nächsten Abschnitt dieses Kapitels

detailliert erläutert. Einleitend soll eine Zusammenfassung der bisher durchgeführten Studien vorgestellt werden.

Unter der Hypothese, dass Visfatin/PBEF/NAMPT mit der Insulin-Sekretion assoziiert ist und damit mit der Funktionstüchtigkeit von β -Zellen im Zusammenhang steht, verglichen Lopez-Bermejo et al. 2006 in einer Querschnittsstudie die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel von 58 Typ I-Diabetikern, 65 Typ-II-Diabetikern und 118 Nicht-Diabetikern. Unter den Typ-I-Diabetikern waren nur Patienten mit langjähriger Krankheitsdauer (Durchschnitt 16 Jahre). In den beiden Diabetesgruppen waren die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Der Vergleich der Diabetesgruppen wies höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte in der DM1-Gruppe auf. Lopez-Bermejo et al. führten die erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte wie ursprünglich angenommen auf den Funktionsverlust der β -Zellen des Pankreas zurück (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875).

Im gleichen Jahr zeigten Haider et al. in einer Studie, dass erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1 durch Ausdauertraining beeinflussbar sind. Die Grundidee stammte dabei aus dem positiven Effekt von Ausdauertraining auf andere Stoffwechselfparameter im Zusammenhang mit DM1. Der Einfluss von Ausdauertraining auf den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel war zuvor noch nicht untersucht worden. Dazu absolvierten die 18 Studienteilnehmer der Diabetesgruppe und 14 Studienteilnehmer der Kontrollgruppe ein viermonatiges Ausdauertrainingsprogramm auf Fahrrad-Ergometern. Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte konnten in der DM1-Gruppe effektiv gesenkt, allerdings im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht normalisiert werden (Haider et al. 2006, 4702-4704).

Stadler et al. konnten in ihrer Studie von 2010 zeigen, dass sich die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel nach erfolgreicher Pankreas-Nieren-Transplantation (PKTx) bei DM1 wieder normalisieren können. Sie stellten einen Zusammenhang zwischen der β -Zellfunktion und Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel her. Dazu untersuchten sie die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel von 10 Typ-I-Diabetikern nach erfolgreicher PKTx, 19 Typ-I-Diabetikern, 6 Nicht-Diabetikern st.p. Nierentransplantation (KTx) sowie 9 gesunden Probanden der Kontrollgruppe. In Bezug auf Visfatin/PBEF/NAMPT und DM1 wiesen die

Diabetiker die höchsten Werte auf. Eine erfolgreiche PKTx bei DM1 äußerte sich in einer Normalisierung der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel. Als Ursache für die erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Sekretion wurde der Status chronischer Hyperglykämie und Hypoinsulinämie bei DM1 in Form eines „Feedback-Mechanismus“ angenommen, der durch die erfolgreiche PKTx mit resultierender Normoglykämie und Insulin-Sekretion wieder ausglich wurde. Als ergebnisverzerrend wurde allerdings der posttransplantationelle Einsatz von Immunsuppressiva betrachtet, die einen expressionshemmenden Effekt auf Visfatin/PBEF/NAMPT haben (siehe auch Kap. 8.2), sowie der schlechte „adaption index“ als Maß für die β -Zellfunktion bei PKTx (Stadler et al. 2010, 763-769).

Gegenteilige Resultate publizierten Toruner et al. 2009 und Alexiadou et al. 2012. Beide Studien wiesen erniedrigte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Patienten mit DM1 nach.

Toruner et al. verglichen die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel von 48 Typ-I-Diabetikern mit 26 gesunden Studienteilnehmern. Im Ergebnis zeigten sich signifikant niedrigere Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte in der DM1-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Als weitere Studienziele wurden Zusammenhänge zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und Diabetesdauer, BMI, Blutzuckerkontrolle, Insulindosis und Lipidprofil untersucht (Toruner et al. 2009, 33-37).

In der Studie von Alexiadou et al. wurden neben den Serum-Apelin-Konzentrationen die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel von 100 Patienten mit DM1 und 52 gesunden Probanden gemessen. Ziel der Studie war es, die Nüchtern-Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte zwischen den Gruppen zu vergleichen, aber auch deren Konzentrationsänderungen nach oraler Glukoseeinnahme und subkutaner (s.c.) Insulin-Applikation bzw. für die Kontrollgruppe ein Placebo in Form von s.c. Wasserapplikation zu messen. Für den zweiten Teil wurden jeweils 9 Probanden aus den Gruppen mit passenden Kriterien ausgewählt. Insgesamt wurden die Serum-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel an drei verschiedenen Zeitpunkten gemessen: nüchtern (12 h) und für die kleine Studienpopulation in den Phasen A und B. Diese wurden in einem Abstand von einer Woche durchgeführt, und die Visfatin-Spiegel jeweils nach 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten gemessen. In Phase A: Messung der Serum-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel nach OGTT und Insulin s.c.

(1 IE Insulin-Lispro/10 g Glukose für DM1 oder gleiches Volumen Wasser als Placebo für die Kontrollgruppe); Phase B: OGTT ohne Insulin- bzw. Placebo-Applikation. Die Ergebnisse wiesen nicht-signifikant niedrigere Nüchtern-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in der Diabetesgruppe auf. Es gab ebenfalls keine signifikanten Änderungen der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Hyperglykämie nach OGTT mit und ohne Insulin-Sekretion bzw. -Applikation (Alexiadou et al. 2012, 444-450).

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der Visfatin/PBEF/NAMPT-Messungen aus den beschriebenen Studien detailliert wiedergegeben.

8.9.1 Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1

Die publizierten Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte bei DM1 unterscheiden und widersprechen sich im Vergleich mit den untersuchten Kontrollgruppen. Aber auch der Vergleich der DM1-Gruppen untereinander weist stark abweichende Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte auf. Tabelle 1 fasst die in den fünf Publikationen gemessenen Visfatin/PBEF/NAMPT-Konzentrationen zusammen.

Studie	DM1-Gruppe	Kontrollgruppe	p-Werte
Lopez-Bermejo et al. 2006	37 (34-40)	15 (13-18)	p<0,0001 (adjustiert)
Haider et al. 2006	64,1 ± 12,0	1,3 ± 0,0	p<0,01
Toruner et al. 2009	18,8 ± 1,7	20,2 ± 0,3	p<0,0001
Stadler et al. 2010	56 ± 4	40 ± 3	p<0,03
Alexiadou et al. 2012	17,26 ± 1,72	22,52 ± 3,30	p=0,06

Tabelle 1) Vergleichsstudien: Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1; (Werte in ng/ml)

Die Studien von Lopez-Bermejo, Haider und Stadler und ihren Kollegen weisen signifikant höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte für die DM1-Gruppen im Vergleich zu den Kontrollgruppen auf (siehe Tab. 1). Im Gegensatz dazu haben Toruner et al. und Alexiadou et al. niedrigere Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte bei DM1 im Vergleich zu den Kontrollgruppen gemessen. Signifikant niedrigere Ergebnisse in der DM1-Gruppe haben nur Toruner et al. beschrieben (p<0,0001). Werden die DM1-Gruppen verglichen, variieren die Werte zwischen dem Minimum 17,26 ± 1,72ng/ml (Alexiadou et al. 2012, 444-450) und dem Maximum

64,1 ± 12,0ng/ml (Haider et al. 2006, 1909-1914). Die Werte der Kontrollgruppen variieren zwischen 1,3 ± 0,0 ng/ml (Haider et al. 2006, 1909-1914) und 40 ± 3 ng/ml (Stadler et al. 2010, 763-769).

Die kontroversen Ergebnisse der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel führen Toruner et al auf Unterschiede in den Merkmalen der Studienpopulationen zurück (Toruner et al. 2009, 33-37). So war die DM1-Gruppe jünger, hatten einen kürzeren und komplikationsloseren Krankheitsverlauf bei höheren HbA_{1c}-Werten im Vergleich zu den beschriebenen Vorläuferstudien. Ein anderer Ansatz für eine Erklärung könnte die Anwendung verschiedener Messverfahren in den Studien sein (Korner et al. 2007, 4783-4791).

In allen genannten Studien wurde für die Messung der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel im Zusammenhang mit DM1 die ELISA-Messmethode verwendet, die Körner et al. in ihren Ergebnissen als bestes Messverfahren präsentierten (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875; Stadler et al. 2010, 763-769; Haider et al. 2006, 4702-4704; Toruner et al. 2009, 33-37; Alexiadou et al. 2012, 444-450; Korner et al. 2007, 772-777)

Abschließend bleiben die unterschiedlich zusammengesetzten Studienpopulationen mit den möglichen Einflussfaktoren: Alter, Geschlecht, BMI, Erkrankungsdauer, Komplikationen, Begleiterkrankungen und Therapien als mögliche Ursache für die Diskrepanzen der gemessenen Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel.

8.9.2 Visfatin/PBEF/NAMPT und demografische Parameter bei DM1

In der Literatur wurden die demografischen Parameter Alter, Geschlecht und BMI im Zusammenhang mit Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln in DM1-Patienten untersucht. Die einzelnen Charakteristika wurden nicht in allen fünf Studien untersucht. In diesem Kapitelabschnitt wird eine Zusammenfassung der Ergebnisse vorgestellt.

Lopez-Bermejo et al. stellten keinen signifikanten Unterschied der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel zwischen den weiblichen und männlichen Studienteilnehmern der DM1-Gruppe fest (Median: 35 ng/ml; 25-47 ng/ml vs. im Median 34 ng/ml 29-55 ng/ml) (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875). Dieses Ergebnis konnte durch Toruner et al. bestätigt werden ($p>0,05$) (Toruner et al. 2009, 33-37). Es wurden ebenfalls keine Korrelationen zwischen Alter und BMI durch Haider et al. und Toruner et al. festgestellt (Haider et al. 2006, 4702-4704; Toruner et al. 2009, 33-37). Genaue Daten wurden nicht aufgeführt. Lopez-Bermejo et al. konnten hingegen in der Regressionsanalyse Alter und BMI als Prädiktoren für Visfatin/PBEF/NAMPT beschreiben ($\beta=0,344$; $p=0,010$) (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875).

Die beschriebenen Ergebnisse zeigen, dass Alter und BMI als unabhängige Prädiktoren für Visfatin/PBEF/NAMPT dienen können. Es gibt allerdings keinen direkten Zusammenhang zwischen Alter, BMI und Geschlecht und dem Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1.

8.9.3 Visfatin/PBEF/NAMPT und Erkrankungsdauer bei DM1

Toruner et al. haben die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel von Typ-I-Diabetikern mit kurzer und langer Erkrankungsdauer (<10 Jahre vs. >10 Jahre) untersucht (Toruner et al. 2009, 33-37). Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln und der Diabetesdauer festgestellt werden (<10 Jahre: $18,9 \pm 1,7$ ng/ml vs. >10 Jahre: $18,2 \pm 2,0$ ng/ml) (Toruner et al. 2009, 33-37). In der Regressionsanalyse erwies sich die Diabetesdauer als signifikanter Prädiktor für Visfatin/PBEF/NAMPT ($\beta=-0,32$; $p=0,03$; $r^2=0,27$) (Toruner et al. 2009, 33-37). Ansonsten wurde die Diabetesdauer in keiner anderen Studie mit Visfatin/PBEF/NAMPT in Beziehung gesetzt.

8.9.4 Visfatin/PBEF/NAMPT und Blutzuckerkontrollparameter bei DM1

HbA_{1c} und Nüchternblutzuckerspiegel wurden als Blutzuckerkontrollparameter auf Korrelationen mit Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 untersucht.

In der Studie von Toruner et al. zeigte sich nach der Adjustierung bezüglich Alter, Geschlecht, BMI und Diabetesdauer eine signifikante Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HbA_{1c} ($r=-0,48$; $p=0,005$) (Toruner et al. 2009, 33-37). Stadler et al. konnten ebenfalls eine positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HbA_{1c} nachweisen ($r=0,43$; $p=0,04$) (Stadler et al. 2010, 763-769). In der Regressionsanalyse erwies sich HbA_{1c}, bezüglich Alter, Geschlecht, BMI und Diabetesdauer als signifikanter Prädiktor für Visfatin/PBEF/NAMPT ($\beta=-0,47$; $p=0,003$; $r^2=0,27$) (Toruner et al. 2009, 33-37). Lopez et al. konnten in der Regressionsanalyse HbA_{1c} als Prädiktor für Visfatin/PBEF/NAMPT bestätigen ($\beta=0,344$; $p=0,010$), aber keinen direkten Zusammenhang zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HbA_{1c} feststellen ($r=0,17$; $p=0,20$) (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875).

Nüchternblutzuckerwerte der DM1-Gruppe ($10,2 \pm 1,1$ mmol/l) und Visfatin/PBEF/NAMPT korrelierten signifikant in der Studie von Stadler et al. ($p<0,05$) (Stadler et al. 2010, 763-769). Toruner et al. konnte keine Korrelation feststellen; Nüchternblutzucker: $215,3 \pm 105,4$ mg/dl ($p>0,05$) (Toruner et al. 2009, 33-37).

8.9.5 Visfatin/PBEF/NAMPT und Insulin-Dosis bei DM1

Die Insulin-Dosis wurde nur in einer Studie in einen Bezug mit den Visfatin/PBEF/NAMPT-Werten gesetzt. Dabei konnte bei einer Insulin-Dosis von $0,9 \pm 0,3$ IE/kg/Tag keine Korrelation beschrieben werden ($p > 0,05$) (Toruner et al. 2009, 33-37).

8.9.6 Visfatin/PBEF/NAMPT und Lipidprofilparameter bei DM1

Alle genannten Studien haben bei ihren Probanden ein Lipidprofil erhoben, aber nur Toruner et al. und Stadler et al. untersuchten die Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte in Hinblick auf einen Bezug zu den Werten für Gesamtcholesterin, LDL, HDL und Triglyzeride (TG). Stadler et al. konnten insgesamt keine Korrelationen zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und Gesamtcholesterin ($5,35 \pm 0,18$ mmol/l), LDL ($3,1 \pm 0,16$ mmol/l), HDL ($2,12 \pm 0,13$ mmol/l) oder den Triglycerid-Werten ($0,93 \pm 0,16$) feststellen (Stadler et al. 2010, 763-769). Das Gleiche gilt für die Ergebnisse von Toruner et al., die keinen Zusammenhang zwischen den Werten des Lipidprofils und Visfatin/PBEF/NAMPT beschreiben konnten ($p > 0,05$ für alle Werte) (Gesamtcholesterin: $175,9 \pm 42,2$ mg/dl; LDL: $108,0 \pm 32,8$ mg/dl; HDL $48,8 \pm 11,8$ mg/dl, TG $101,2 \pm 84,6$ mg/dl) (Toruner et al. 2009, 33-37).

8.9.7 Interpretationen der Studienautoren

In diesem Abschnitt sollen die Schlussfolgerungen aus den Ergebnissen der beschriebenen Studien zusammengefasst werden.

Lopez-Bermejo et al. bestätigten ihre Hypothese, dass Visfatin/PBEF/NAMPT bei Menschen mit der Insulin-Sekretion in Verbindung steht und führten die erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel auf den pathophysiologischen Funktionsverlust der β -Zellen des Pankreas bei DM zurück. Die Studienpopulationen wurden bewusst nach der Funktionstüchtigkeit der β -Zellen ausgewählt: gesunde Kontrollgruppe mit intakten β -Zellen, Typ-II-Diabetiker mit eingeschränkter β -Zellfunktion und langjährige Typ-I-Diabetiker ohne β -Zellfunktion. Die gemessenen Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte bestätigten die Annahme, da bis zu den Typ-I-Diabetikern aufsteigend signifikant höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel gemessen wurden. Bestätigend wurden auch die Resultate der negativen Assoziation zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln und der Insulin-Sekretion sowie der negativen Korrelation von Visfatin/PBEF/NAMPT mit dem 30 Min. OGTT in der nicht-diabetischen Gruppe gewertet (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875).

Im Umkehrschluss untersuchten Stadler et al. in ihrer Studie, ob sich die veränderten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1 nach erfolgreicher PKTx, im Einklang mit einer Normalisierung des Glukosestoffwechsels und der endogenen Insulin- und C-Peptid-Sekretion, normalisieren würden. Die Hypothese konnte durch die Studie bestätigt werden. Die signifikant erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1 normalisierten sich auf das Visfatin/PBEF/NAMPT-Niveau der Nicht-Diabetiker. Die erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1 wurden mit einem Feedback-Mechanismus in Verbindung gebracht und als Antwort auf den Status chronischer Hyperglykämie und Hypoinsulinämie durch den Funktionsverlust der β -Zellen bei DM1 interpretiert. Die Proteine C-Peptid und Amylin wurden ebenso als potenzielle Einflussfaktoren auf Visfatin/PBEF/NAMPT in Betracht gezogen, da sich ihre Werte nach erfolgreicher PKTx normalisierten. Es konnte jedoch keine Korrelation zwischen C-Peptid und Visfatin/PBEF/NAMPT festgestellt werden. Allerdings ergab die Berechnung des Adaptation Index als Indikator für die Anpassungsmöglichkeit der β -Zellfunktion an vorherrschende Insulin-Sensitivität für die PKTx-Studienteilnehmer den schlechtesten Wert. Zusätzlich wurde als limitierender Faktor die expressionshemmende Wirkung durch die posttransplantationelle Behandlung mit Immunsuppressiva aufgeführt. (Stadler et al. 2010, 763-769)

Haider et al. konnten in ihrer Studie beweisen, dass erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel ebenso wie andere Stoffwechselparameter auf Ausdauertraining ansprechen und sich senken, aber nicht normalisieren lassen. Auch Haider et al. führten die erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Probanden mit DM1 als Reaktion auf den Status chronischer Hyperglykämie und Hypoinsulinämie bei DM1 auf eine Art Feedback-Mechanismus zurück (Haider et al. 2006, 4702-4704).

Toruner et al. erklärten die widersprüchlichen Ergebnisse der erniedrigten Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte bei DM1 im Vergleich zu den Vorläuferstudien mit Unterschieden in den Studienpopulationen. Die Typ-I-Diabetiker waren jünger, besaßen eine kürzere, komplikationslose Diabetesdauer und hatten höhere HbA_{1c}-Werte im Vergleich zu den Vorläuferstudien. Im Gegensatz zu den Begründungen der Vorläuferstudien bringen Toruner et al. die Ergebnisse der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel mit der Blutzuckerkontrolle in Verbindung, die sich in der Studie durch eine Assoziation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und den

vergleichsweise höheren HbA_{1c}-Werten äußert. Zum Beweis fehlen allerdings Ergebnisse von Typ-I-Diabetikern zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bzw. ohne Insulin-Therapie. Toruner et al. vermuteten ebenfalls zeitabhängige Veränderungen der Visfatin/PBEF/NAMPT-Konzentrationen sowie potenzielle Unterschiede der Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte im Vergleich von komplikationslosen und komplizierten Krankheitsverläufen bei Diabetikern, die Bestandteil weiterer Untersuchungen sein sollten (Toruner et al. 2009, 33-37).

Alexiadou et al. erklärten die im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant, aber dennoch niedrigeren Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte mit der Hypothese, dass bei DM1 ein Insulin-Mangel mit einem Visfatin/PBEF/NAMPT-Mangel einhergeht. Diese Begründung widerspricht den Vorläuferstudien, die einen Insulin-Mangel mit kompensatorisch erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln begründen (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875; Stadler et al. 2010, 763-769; Haider et al. 2006, 1909-1914). Der zweite Teil der Studie zeigte, dass Hyperglykämie und die Applikation von Insulin keinen Einfluss auf die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel haben. Auch dieses Ergebnis widerspricht einer Vorläuferstudie, in der gezeigt werden konnte, dass die Visfatin/PBEF/NAMPT-Sekretion in Abhängigkeit von der Glukose- und Insulin-Konzentration geschieht (Haider et al. 2006, 1909-1914).

Zusammenfassend haben insgesamt fünf Studien die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1 untersucht. Davon haben drei Studien signifikant höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel, zwei Studien signifikant und nicht-signifikant niedrigere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe gemessen. Der Vergleich der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Ergebnisse der Studien hat ebenfalls deutliche Unterschiede in den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Niveaus aufgezeigt. Die erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel wurden mit DM1-typischen pathophysiologischen Zuständen wie β -Zell-Funktionsverlust, Hyperglykämie und Hypoinsulinämie erklärt. Die erniedrigten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel wurden auf Unterschiede zwischen den untersuchten Studienpopulationen und die vom Blutglukose- und Insulin-Spiegel unabhängige Visfatin/PBEF/NAMPT-Sekretion zurückgeführt. Geschlecht, Alter und BMI korrelieren nicht direkt mit den Visfatin/PBEF/NAMPT-

Spiegeln. Allerdings können Alter, BMI und die Erkrankungsdauer als Prädiktoren dienen. Korrelationen mit Blutzuckerglukoseparametern werden in den Studien kontrovers diskutiert. Bezüglich einer Korrelation der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel mit den HbA_{1c}-Werten und Nüchtern glukosewerten gab es kontroverse Ergebnisse. HbA_{1c} kann als Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Prädiktor dienen. Kein Zusammenhang konnte zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln und der Insulin-Dosis sowie dem Lipidprofil beschrieben werden.

Trotz der plausiblen Interpretationen der Studienergebnisse weisen die kontroversen Resultate auf noch unbekannte Einflussfaktoren hin. Neue Erkenntnisse über die Funktionmechanismen von Visfatin/PBEF/NAMPT sind für Nachfolgestudien von Bedeutung.

9 Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 im Kindes- und Jugendalter

Die Studie „Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 im Kindes- und Jugendalter“ wurde in der Klinischen Abteilung für allgemeine Pädiatrie im Fachbereich Diabetes und Endokrinologie der Medizinischen Universität Graz durchgeführt. Dazu wurden Serum-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel von an DM1 erkrankten Kindern- und Jugendlichen mit den Werten einer in Abhängigkeit vom Alter und Geschlecht gematchten Kontrollgruppe verglichen (siehe Kap. 9.1.3).

Die Motivation dieser Studie waren vielversprechende Studienergebnisse der letzten Jahre von Visfatin/PBEF/NAMPT und dessen funktionellen Eigenschaften in der Glukosehomöostase und Immunregulation. DM1 ist durch eine Störung der Glukosehomöostase in Folge einer Immunreaktion gegen β -Zellen charakterisiert und verbindet somit die Funktionsbereiche von Visfatin/PBEF/NAMPT. Vorläuferstudien haben Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 bereits untersucht, allerdings bei Probanden im Erwachsenenalter und mit widersprüchlichen Resultaten. Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel wurden bei Kindern- und Jugendlichen mit DM1 bis zu diesem Zeitpunkt nicht untersucht.

Aus diesem Grund ist die hier beschriebene Studie von Bedeutung. Die vorliegende Studie soll erste Ergebnisse von Kindern und Jugendlichen mit DM1

liefern, die Resultate aus Vorläuferstudien bekräftigen bzw. widerlegen sowie zur Aufklärung einer potenziellen Rolle von Visfatin/PBEF/NAMPT in der Pathophysiologie von DM1 beitragen.

9.1 Material und Methoden

Im folgenden Kapitel werden die Details zum Studienaufbau und der Auswertung vorgestellt.

9.1.1 Fragestellungen

Primäre Fragestellung:

Nullhypothese (H0): Der Serumspiegel von Visfatin/PBEF/NAMPT unterscheidet sich zwischen der DM1-Gruppe und der Kontrollgruppe nicht.

Alternativhypothese (H1): Die beiden Gruppen unterscheiden sich im Serumspiegel von Visfatin/PBEF/NAMPT.

Sekundäre Fragestellung:

Hier sollen die Serum-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der DM1-Gruppe auf einen Zusammenhang mit Krankheitsdauer, Blutzuckerkontrolle, durchschnittlicher täglicher Insulin-Dosis, BMI und Lipidprofilen untersucht werden.

9.1.2 Zielgrößen

Primäre Zielgröße: Visfatin/PBEF/NAMPT-Serumspiegel (ng/ml)

Sekundäre Zielgrößen sind das Alter in Jahren, Geschlecht, Pubertätsstatus (präpubertär = Tanner Stadium 1; postpubertär= Tanner Stadium 2 - 4), Körpergewicht in kg, Körpergröße in cm, BMI in kg/m^2 .

Zusätzliche sekundäre Zielgrößen der DM1-Gruppe sind die Diabetesdauer in Jahren (kurze Diabetesdauer < 10 Jahre; lange Diabetesdauer > 10 Jahre), HbA1c in mmol/mol, Nüchtern glukosewert des Abnahmetages in mg/dl, Gesamtinsulin-Dosis in IE/Tag, Insulin-Dosis pro kg/KG in IE/kg/Tag, durchschnittliche Insulin-Dosis pro Tag (errechnet anhand der letzten 3 Wochen vor dem Abnahmetag), Lipidprofil (Cholesterol, LDL, HDL, Triglyceride) in jeweils mg/dl.

9.1.3 Fallzahlplanung

Die Fallzahlplanung basiert auf den Ergebnissen aus der Studie von Tournier et al. (Tournier et al. 2009, 33-37). Ausgehend von einem klinisch relevanten Unterschied im Serumspiegel von Visfatin/PBEF/NAMPT zwischen den beiden Gruppen von 1 ng/ml (Mittelwert Diabetesgruppe = 19 ng/ml, Mittelwert Kontrollgruppe = 20 ng/ml) und einer Standardabweichung von 1,7 ng/ml werden unter Verwendung eines T-Tests für unabhängige Stichproben ($\alpha = 5\%$, 2-seitig), 62 Kinder pro Gruppe benötigt, um eine Power von 90 % zu erreichen. Mit einer drop out Rate von 5 % ergibt dies 65 Kinder pro Gruppe.

9.1.4 Ausschlusskriterien

Hepatische und renale Dysfunktion, akut oder chronische Infektionen, Hypertension, kardiovaskuläre Erkrankungen, Medikamenteneinnahme mit Ausnahme von Insulin bei DM1, Nephropathie und Retinopathie.

9.1.5 Studienteilnehmer

In der Studie wurden von insgesamt 127 Kindern- und Jugendlichen im Alter von 4 bis 20 Jahren die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel gemessen. Drei Studienteilnehmer konnten aufgrund der Ausschlusskriterien nicht in die Auswertung einbezogen werden, sodass DM1- und Kontrollgruppe aus jeweils 62

im *Nearest Neighbor Matching* dem Alter angeglichenen Probanden bestehen. Die in der Studie angestrebte Power von 90% konnte erhalten werden.

9.1.6 **Durchführung**

Die Nüchternblutproben (12h fasten übernacht) wurden durch routinemäßige Untersuchungen herangezogen, d. h. für die DM1-Gruppe im Rahmen der Jahresuntersuchung, bei der Leber- und Nierenwerte, aktueller sowie Langzeitblutzuckerwert, Lipidstoffwechselwerte (Gesamtcholesterin, LDL-C, HDL, TG) gemessen wurden. Zu dieser Untersuchung gehörten auch eine Nierenfunktionsprüfung und die Untersuchung des Augenhintergrunds. Die Probanden der Kontrollgruppe stammten aus dem Patientenkontext der Hauptambulanz und aus dem stationären Bereich der Klinischen Abteilung für allgemeine Pädiatrie. Eine Einverständniserklärung musste nach einem positivem Votum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz im Vorfeld von den Erziehungsberechtigten eingeholt werden.

Anschließend wurden die Proben sofort im hauseigenen Labor zentrifugiert, gekühlt ins Labor der Abteilung für Nuklearmedizin der Universitätsklinik für Radiologie der medizinischen Universität Graz gebracht und daraufhin bei -70 Grad Celsius tiefgefroren. Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelbestimmung wurde mittels des Visfatin/PBEF/NAMPT C-Terminal Human Enzyme Immunoassay-Kit der Firma Phoenix Peptides (Karlsruhe, Deutschland) durchgeführt. Die Sensitivität der Methode liegt bei 2,38 - 43 ng/ml, Inter- und intra-assay Variation <15% und <10%.

HbA1c wurde mit dem DCA 2000 Analyzer von Bayer Diagnostics (Leverkusen, Deutschland) gemessen.

Gesamt-Cholesterin- und Triglycerid-Serumspiegel wurden mit zertifizierten Labor-Standardmethoden ermittelt.

9.1.7 **Datensammlung**

Die Daten wurden mithilfe von Microsoft Excel erfasst. Zunächst wurden die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel für die gewünschten Patienten der DM1- und Kontrollgruppe ermittelt und in die Tabelle eingetragen. Im Anschluss wurden die sekundären Zielgrößen für die DM1-Gruppe über die Diabetesambulanz der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde aus den Patientenakten zusammengetragen. Die sekundären Zielgrößen der Kontrollgruppe wurden über das Krankenhausdokumentationssystem „Medocs“ gesammelt.

9.1.8 **Datenauswertung**

Die Datenauswertung erfolgte durch das Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation der Medizinischen Universität Graz (Frau Dipl. Ing. Regina Riedel).

Unterschiede zwischen den Gruppen wurden für kontinuierliche Variablen mittels T-Test für unabhängige Stichproben bzw. Mann-Whitney-U-Test überprüft. DM1- und Kontrollgruppe wurden nach der Methode des *Nearest Neighbor Matching* dem Faktor Alter angeglichen. Der Vergleich der Gruppen in den kategorialen Variablen erfolgte mittels Chi-Quadrat-Test (siehe Kap. 9.2.1).

Die Analyse der Zusammenhänge von Visfatin/PBEF/NAMPT mit der Krankheitsdauer, Stoffwechselkontrolle, durchschnittlicher Insulindosis, BMI und Lipidprofilen innerhalb der DM1-Gruppe erfolgte mittels Rangkorrelationen nach Spearman. Des Weiteren wurden Zusammenhänge zwischen demographischen Parametern Pubertätsstatus, Geschlecht und BMI mit den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln bei DM1 und in der Kontrollgruppe überprüft (siehe Kap. 9.2.2).

9.2 Studienergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Serum-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelmessungen der untersuchten Kinder und Jugendlichen mit DM1 im Vergleich zur Kontrollgruppe präsentiert.

Tabelle 2 gibt einleitend eine Übersicht auf die erhobenen klinischen und laborchemischen Parameter der DM1- und Kontrollgruppe. Das Hauptergebnis der Studie weist signifikant höhere Serum-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in der DM1-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (17,5 vs. 12,5 ng/ml; $p = 0,0001$) nach. Beide Studiengruppen wurden nach dem *Nearest Neighbor Matching* dem Faktor Alter angeglichen und weisen auch im Bezug auf die Geschlechterverteilung, Pubertätsstatus und Größe/Gewicht/BMI keine signifikanten Unterschiede auf.

In Tabelle 2 werden ebenfalls die Sekundärzielgrößen (Diabetesdauer, Nüchternblutglukose, HbA_{1c}, Insulindosis, Lipidprofilparameter) der DM1-Gruppe präsentiert.

		DM1-Gruppe n=62	Kontrollgruppe n=62	p-Wert
Geschlecht, n (%)	männlich	31 (50%)	30 (48%)	0,86
	weiblich	31 (50%)	32 (52%)	
Pubertätsstatus, n (%)	präpubertär	12 (19%)	16 (26%)	0,39
	postpubertär	50 (81%)	46 (74%)	
Alter, Jahre		13,7 ± 3,7	13,5 ± 3,7	0,69
BMI		20,2 ± 3,2	20,6 ± 4,6	0,61
Diabetesdauer, Jahre		5,9 ± 3,5		
HbA _{1c} , % (mmol/mol)		64 (40 – 113)		
Glucose, mg/dl		179,5 (78 – 423)		
IE/kg/Tag		0,9 ± 0,3		
Cholesterin, mg/dl		172,4 ± 29,5		
HDL, mg/dl		65,1 ± 14,1		
LDL, mg/dl		93,5 ± 24,2		
Triglyceride, mg/dl		59 (27 – 198)		
Visfatin/PBEF/NAMPT, ng/ml		17,5 (10,6 – 104,5)	12,5 (4,6 – 68,6)	<0,0001

Tabelle 2) Ergebnisübersicht: Klinische und laborchemische Parameter der DM1- und Kontrollgruppe; Normalverteilte Variablen werden als Mittelwert ± Standardabweichung und nicht-normalverteilte Variablen als Median mit Ergebnisintervall dargestellt.

9.2.1 Deskriptive Statistik

Vergleich DM1- und Kontrollgruppe

Die endgültige Studienteilnehmerzahl ($n = 124$) war mit jeweils 62 Studienteilnehmern in beiden Gruppen ausgeglichen und die angestrebte Studienpower von 90% konnte gewahrt werden. Im folgenden werden die demographischen Parameter Alter, Geschlecht, Pubertätsstatus und BMI im Gruppenvergleich erläutert.

Geschlechterverteilung in der DM1- und Kontrollgruppe

Tabelle 3 zeigt die absolute und relative Häufigkeit weiblicher und männlicher Probanden in der DM1- und Kontrollgruppe.

Die Studiengruppen weisen keinen signifikanten Unterschied in der Geschlechterverteilung auf ($p = 0,86$). Insgesamt wurden 63 (50,8 %) weibliche und 61 (49,2 %) männliche Studienteilnehmer untersucht. Innerhalb der Studiengruppen ist das Verhältnis ausgeglichen. In der DM1-Gruppe haben jeweils 31 weibliche und männliche Probanden teilgenommen. Im Vergleich dazu sind in der Kontrollgruppe 32 (51,6 %) weibliche und 30 (48,4 %) männliche Studienteilnehmer (siehe Tab. 3).

			DM1-Gruppe	Kontrollgruppe	Gesamt
Geschlecht	männlich	Anzahl	31	30	61
		% innerhalb von Geschlecht	50,8 %	49,2 %	100,0 %
		% innerhalb von Gruppe	50,0 %	48,4 %	49,2 %
	weiblich	Anzahl	31	32	63
		% innerhalb von Geschlecht	49,2 %	50,8 %	100,0 %
		% innerhalb von Gruppe	50,0 %	51,6 %	50,8 %
Gesamt		Anzahl	62	62	124
		% innerhalb von Geschlecht	50,0 %	50,0 %	100,0 %
		% innerhalb von Gruppe	100,0 %	100,0 %	100,0 %

Tabelle 3) Geschlechterverteilung in den Studiengruppe

Pubertätsstatus in der DM1- und Kontrollgruppe

Die Verteilung der Probanden in den Pubertätsstadien ist in den Studiengruppen ausgeglichen und weist keinen signifikanten Unterschied im Gruppenvergleich auf ($p = 0,39$). In der DM1-Gruppe waren 12 (19 %) der Studienteilnehmer präpubertär im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 16 (26 %) Studienteilnehmern. Somit befanden sich 50 (81 %) der Probanden in der DM1-Gruppe und 46 (74 %) in der Kontrollgruppe postpubertären Stadium (siehe Tab. 4).

			DM1-Gruppe	Kontrollgruppe	Gesamt
Pubertätsstatus	präpubertär	Anzahl	12	16	28
		% innerhalb von Pubertätsstatus	42,9 %	57,1 %	100,0 %
		% innerhalb von Gruppe	19,4 %	25,8 %	22,6 %
	postpubertär	Anzahl	50	46	96
		% innerhalb von Pubertätsstatus	52,1 %	47,9 %	100,0 %
		% innerhalb von Gruppe	80,6 %	74,2 %	77,4 %
Gesamt		Anzahl	62	62	124
		% innerhalb von Pubertätsstatus	50,0 %	50,0 %	100,0 %
		% innerhalb von Gruppe	100,0 %	100,0 %	100,0 %

Tabelle 4) Prozentualer Anteil der Pubertätsstadien prä- und postpubertär in den Studiengruppen

Alter und BMI in der DM1- und Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe wurde statistisch mithilfe des *Nearest Neighbor Matching* dem Altersprofil der DM1-Gruppe angeglichen, sodass es keine signifikanten Altersunterschiede zwischen den Gruppen gab ($p = 0,69$). Das Alter in der DM1-Gruppe liegt bei $13,7 \pm 3,7$ und in der Kontrollgruppe bei $13,5 \pm 3,7$ (siehe Tab. 5 auch Tab. 2).

Es gab ebenfalls keinen signifikanten Unterschied der Studiengruppen hinsichtlich des BMI ($p = 0,61$).

		n	Mittelwert	Standard-abweichung	Median	Min.	Max.
Alter	DM1-Gruppe	62	13,7	3,7	14	4	20
	Kontrollgruppe	62	13,5	3,7	14	4	20
BMI	DM1-Gruppe	62	20,2	3,2	20	14	27
	Kontrollgruppe	62	20,6	4,6	21	12	35

Tabelle 5) Alter und BMI in der DM1- und Kontrollgruppe

Analyse der Sekundärzielgrößen in der DM1-Gruppe

Zusätzlich zu den Sekundärzielgrößen für beide Studiengruppen wurden bei der DM1-Gruppe folgende Parameter zusätzlich untersucht: Diabetesdauer (Jahre), Blutzuckerkontrolle (Nüchternblutzucker in mg/dl, HbA_{1c} in mmol/mol, Insulindosis (IE / kg / Tag) und Lipidprofil (Cholesterin, LDL, HDL, TG in mg / dl).

Die durchschnittliche Erkrankungsdauer betrug $5,9 \pm 3,5$ Jahre, die Nüchternblutzuckerwerte lagen bei 202 ± 93 mg/dl, die HbA_{1c}-Werte betrugen im Median 64 mmol/mol (40 – 113 mmol/mol) und die Insulindosis lag in Abhängigkeit zum Körpergewicht bei $0,9 \pm 0,3$ IE/kg/Tag.

Die Gesamt-Cholesterin-Werte betrugen $172,4 \pm 29,5$ mg/dl, die LDL-Werte lagen zwischen bei $93,5 \pm 24,2$ mg/dl, die HDL-Werte zwischen bei $65,1 \pm 14,1$ mg/dl und die Triglycerid-Werte bei 59 mg/dl (27 – 198 mg/dl) (siehe Tab. 6).

	n	Mittelwert	Standard- abweichung	Perzentil 25	Median	Perzentil 75	Min.	Max.
Diabetesdauer (Jahre)	62	5,9	3,5	3,0	5,0	8,0	1,0	17,0
HbA1c (mmol/mol)	62	66	10,4	59	64	69	40	113
Glucose (mg/dl)	62	202,0	93,1	126,0	179,5	274,0	78,0	423,0
IE/kg/Tag	62	0,9	0,3	0,7	0,8	1,0	0,3	1,9
Cholesterin (mg / dl)	62	172,4	29,5	151,0	170,0	192,0	113,0	230,0
HDL (mg/dl)	62	65,1	14,1	56,0	62,5	73,0	28,0	105,0
LDL (mg/dl)	62	93,5	24,4	76,0	94,0	106,0	38,0	152,0
Triglyzeride (mg/dl)	62	68,9	35,4	46,0	59,0	78,0	27,0	198,0

Tabelle 6) Ergebnisübersicht auf die Sekundärzielgrößen der DM1-Gruppe: Diabetesdauer, Blutzuckerkontrollparameter, Insulindosis, Lipidprofil

9.2.2 Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel im Gruppenvergleich

Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Serumspiegel waren in der DM1-Gruppe signifikant höher ($p = 0,0001$). Der Serumspiegel betrug in der DM1-Gruppe $20,7 \pm 15,1$ ng/ml im Vergleich zur Kontrollgruppe $13,1 \pm 8,9$ ng/ml (siehe Tab. 7 und Abb. 9).

		n	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum
Visfatin/PBEF/ NAMPT	DM1-Gruppe	62	20,7	15,1	17,5	10,6	104,5
	Kontrollgruppe	62	13,1	8,9	12,5	4,6	68,6

Tabelle 7) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der DM1- und Kontrollgruppe (ng/ml)

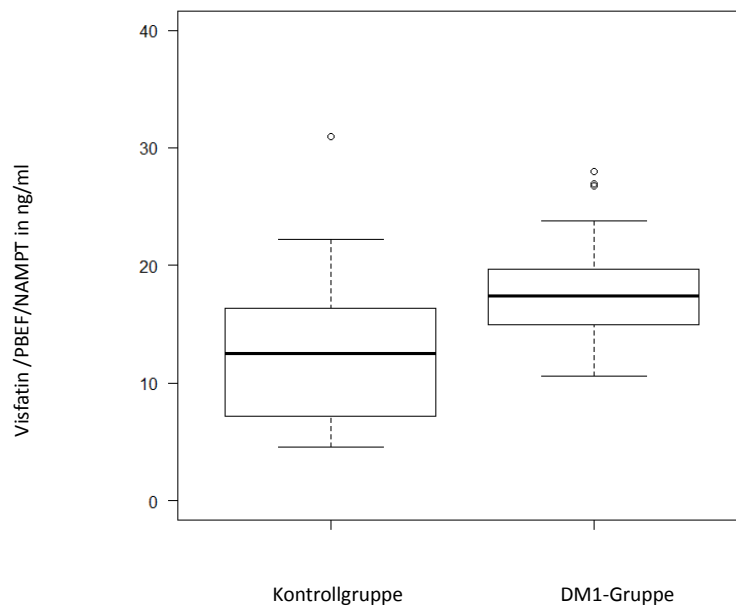


Abbildung 9) Whisker-Box-Plot: Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der DM1- und Kontrollgruppe

9.2.3 Einfluss demografischer Parameter auf Visfatin/PBEF/NAMPT

In diesem Kapitel wird der Einfluss demografischer Parameter: Alter, Geschlecht, BMI und Pubertätsstatus auf die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Studiengruppen erläutert.

Visfatin/PBEF/NAMPT und Geschlecht

In beiden Studiengruppen konnte in der Auswertung der Ergebnisse kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln und dem Geschlecht in der Kontrollgruppe ($p = 0,36$) und DM1-Gruppe ($p = 0,89$) festgestellt werden.

In der Kontrollgruppe wurden bei den weiblichen Studienteilnehmern Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte von $11,6 \pm 3$ ng/ml gemessen, im Vergleich zu $14,8 \pm 5$ ng/ml bei den männlichen Studienteilnehmern. Es fällt bei den männlichen Studienteilnehmern ein größeres Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelintervall 5 – 68,6 ng/ml im Vergleich zu den Ergebnissen der weiblichen Studienteilnehmer 4,6 – 22,2 ng/ml auf (siehe Tab. 8), dass allerdings nicht signifikant ist.

		n	Mittelwert	Standardabweichung	Perzentil 25	Median	Perzentil 75	Min.	Max.
Visfatin/PBEF/NAMPT	männlich	30	14,82	11,52	9,6	13,35	16,4	5	68,6
	weiblich	32	11,56	4,98	7,05	9,9	16,3	4,6	22,20

Tabelle 8) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Kontrollgruppe in Abhängigkeit vom Geschlecht (ng/ml)

Auch in der DM1-Gruppe wiesen die männlichen Studienteilnehmer mit Werten zwischen 10,6 - 104,5 ng/ml ein größeres Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelintervall als die weibliche Studienpopulation auf. Drei Probanden hatten Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte >40 ng/ml (43,3; 85,6; 104,5 ng/ml). Die Werte lagen bei $23,2 \pm 20,3$ ng/ml. Bei den weiblichen Studienteilnehmern der DM1-Gruppe wurden Werte von $18,4 \pm 6,0$ ng/ml gemessen (siehe Tab. 9). Eine Probandin wies einen Visfatin/PBEF/NAMPT-Wert >40 ng/ml auf (46,0 ng/ml). Insgesamt wurden auch in der DM1-Gruppe bei 4 Studienteilnehmer/-innen Werte >40 ng/ml gemessen.

		n	Mittelwert	Standardabweichung	Perzentil 25	Median	Perzentil 75	Min.	Max.
Visfatin/PBEF/NAMPT	männlich	31	23,22	20,32	14,80	17,20	20,10	10,60	104,50
	weiblich	31	18,35	6,03	15,00	17,90	19,70	11,40	46,00

Tabelle 9) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der DM1-Gruppe in Abhängigkeit vom Geschlecht (ng/ml)

Visfatin/PBEF/NAMPT und Pubertätsstatus

In der Kontrollgruppe bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln im Pubertätsstadium prä- und postpubertär ($p = 0,003$). So wiesen die Studienteilnehmer präpubertär ($n = 16$) signifikant höhere Werte auf als Probanden nach der Pubertät ($n = 46$). Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte im Stadium präpubertär lagen bei $19 \pm 14,4$ ng/ml, postpubertär im Bereich $11,1 \pm 4,5$ ng/ml (siehe Tab. 10)

		n	Mittelwert	Standardabweichung	Perzentil 25	Median	Perzentil 75	Min.	Max.
Visfatin/PBEF/NAMPT	präpubertär	16	18,99	14,42	13,45	16,7	18,4	5	68,6
	postpubertär	46	11,1	4,53	6,9	10,2	14,6	4,6	22,2

Tabelle 10) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Kontrollgruppe in Abhängigkeit vom Pubertätsstatus (ng/ml)

In der DM1-Gruppe zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und dem Pubertätsstatus ($p = 0,89$). Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte im präpubertären Stadium lagen bei $24,4 \pm 21,3$ ng/ml im Vergleich zu $19,9 \pm 13,3$ ng/ml postpubertär (siehe Tab. 11).

		n	Mittelwert	Standardabweichung	Perzentil 25	Median	Perzentil 75	Min.	Max.
Visfatin/PBEF/NAMPT	präpubertär	12	24,38	21,26	14,10	17,35	19,75	12,40	85,60
	postpubertär	50	19,93	13,31	15,00	17,45	19,70	10,60	104,50

Tabelle 11) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in der DM1-Gruppe in Abhängigkeit zum Pubertätsstatus (ng/ml)

Visfatin/PBEF/NAMPT und die Faktoren Alter, BMI

In der Kontrollgruppe konnte keine Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und dem Alter der Probanden festgestellt werden ($p = 0,015$).

Es bestand allerdings eine signifikante Korrelation zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln und dem BMI ($p < 0,003$) (Tab. 12 und Abb. 10).

		Visfatin/PBEF/NAMPT	Alter	BMI
Visfatin/ PBEF/ NAMPT	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,30789	-0,37084
	Sig. (2-seitig)	.	0,0149	0,003
	n	62	62	62

Tabelle 12) Korrelationskoeffizient nach Spearman: Visfatin/PBEF/NAMPT in Bezug zum Alter und BMI in der Kontrollgruppe

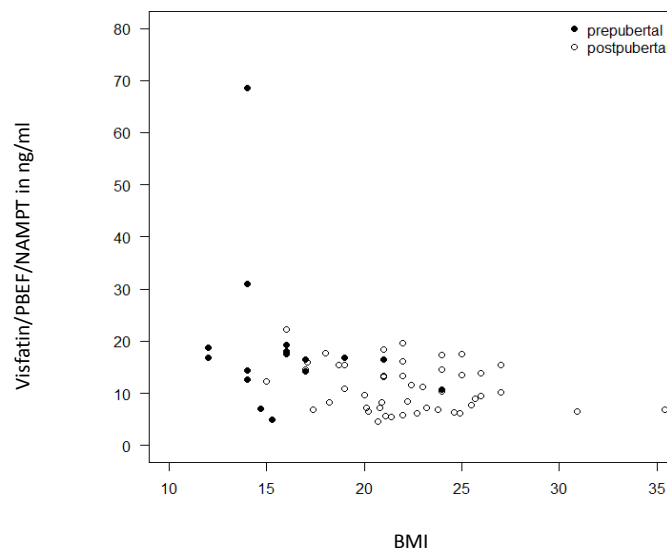


Abbildung 10) Punktdiagramm: Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und BMI in der Kontrollgruppe

Die Signifikanz der Korrelation zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln und dem BMI in der Kontrollgruppe hebt sich nach Stratifizierung (präpubertär $p = 0,28$; postpubertär $p = 0,28$) sowie Adjustierung nach dem Pubertätsstatus auf ($p = 0,16$) (siehe Tab. 13, 14 und 15).

	Alter	BMI
Visfatin/PBEF/NAMPT	0,5696	-0,2897
	0,0213	0,2765

Tabelle 13) Stratifizierung nach Pubertätsstatus: Spearman'sche Korrelationskoeffizienten der Studienteilnehmer in der Kontrollgruppe im Stadium präpubertär, $n = 16$

	Alter	BMI
Visfatin/PBEF/NAMPT	-0,0637	-0,1639
	0,6743	0,2764

Tabelle 14) Stratifizierung Pubertätsstatus: Spearman'sche Korrelationskoeffizienten der Studienteilnehmer in der Kontrollgruppe im Stadium postpubertär, $n = 46$

	Alter	BMI
Visfatin/PBEF/NAMPT	-0,0254	-0,18316
	0,8462	0,1577

Tabelle 15) Adjustierung nach Pubertätsstatus: Partielle Korrelationskoeffizienten nach Spearman; n = 62

Die Ergebnissauswertung hat auch gezeigt, dass es keinen Zusammenhang zwischen einem BMI >25 mit den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln in der Kontrollgruppe gibt ($p = 0,49$). Die Subgruppe mit einem BMI >25 ($n = 10$) wiesen Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel von $11,0 \pm 3,8$ ng/ml im Vergleich zu Studienteilnehmern mit einem BMI <25 ($n = 52$) $13,5 \pm 9,5$ ng/ml auf (Tab. 16).

BMI-Subgruppe	n	Mittelwert	Standardabweichung	Perzentil 25	Median	Perzentil 75	Min.	Max.
<25	52	13,54	9,49	7,20	12,90	16,70	4,60	68,60
>25	10	11,02	3,83	7,70	9,80	13,90	6,60	17,60

Tabelle 16) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel (ng/ml) in Bezug zum BMI >25 und <25 in der Kontrollgruppe

Im Vergleich zur Kontrollgruppe gab es in der DM1-Gruppe keine Korrelation zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln und dem BMI. Dies gilt auch für das Alter und Visfatin/PBEF/NAMPT in der DM1-Gruppe (siehe Tab. 17).

		Visfatin/PBEF/NAMPT	Alter	BMI
Visfatin/ PBEF/ NAMPT	Korrelationskoeffizient	1,000	-,110	-,088
	Sig. (2-seitig)	.	,397	,494
	n	62	62	62

Tabelle 17) Korrelationskoeffizienten nach Spearman: Visfatin/PBEF/NAMPT in Bezug zum Alter und BMI in der DM1-Gruppe

9.2.4 Ergebnisse der Sekundärfragestellung

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte im Zusammenhang mit Blutzuckerkontrollparametern (Nüchternglukosespiegel, HbA_{1c}-Wert), Insulin-Dosis, Lipidprofil (Gesamtcholesterin, HDL, LDL, TG) und Diabetesdauer vorgestellt.

Visfatin/PBEF/NAMPT im Zusammenhang mit Blutzuckerkontrollparametern, Insulin-Dosis und Lipidprofil

Die erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte der DM1-Gruppe wurden unadjustiert auf Korrelationen mit Blutzuckerkontrollparametern (Nüchternglukosespiegel, HbA_{1c}-Wert), Insulin-Dosis (IE/Tag, IE/kg/Tag) und Lipidprofil (Cholesterin, HDL, LDL, TG) untersucht. Es zeigte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL ($r_s = 0,39$, $p = 0,002$) (Tab. 18 und Abb. 11).

		Visfatin/ PBEF/ NAMPT	HbA _{1c}	Glukose	IE/Tag	IE/kg/Tag	Cholesterin	HDL	LDL	TG
Visfatin/	Spearman	1,000	0,058	0,017	-0,032	-0,049	0,112	0,390	0,010	-0,077
PBEF/	Sig. (2-seitig)	.	0,654	0,898	0,806	0,706	0,384	0,002	0,938	0,550
NAMPT	n	62	62	62	62	62	62	62	62	62

Tabelle 18) Korrelationskoeffizient nach Spearman: Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der DM1-Gruppe und HbA_{1c}, Blutzuckerspiegel, Insulindosis, Lipidprofil

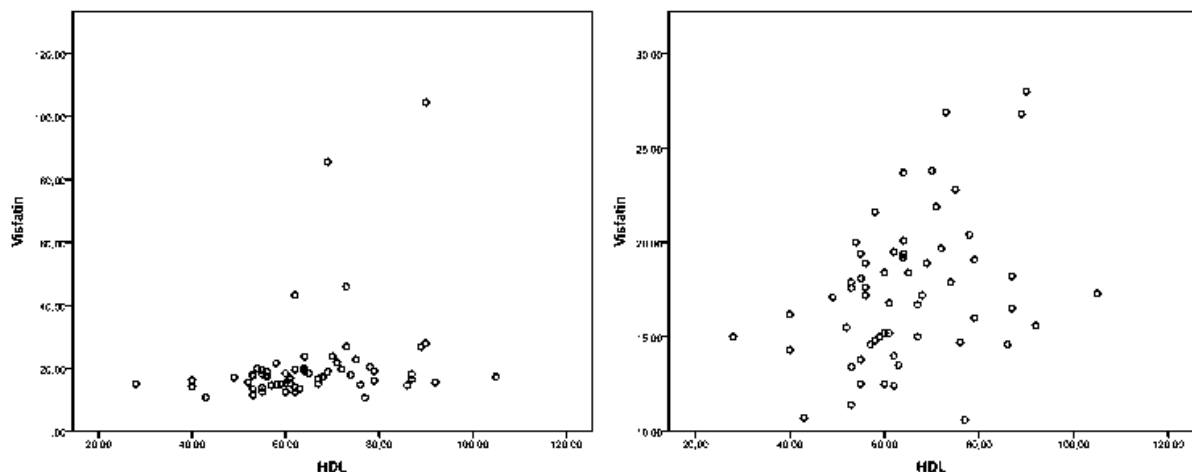


Abbildung 11) Punktdiagramme: Positive Korrelation von Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL in der DM1-Gruppe

Die signifikant positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL blieb adjustiert nach BMI, Pubertätsstatus und Geschlecht bestehen ($r_s = 0,38$; $p = 0,003$) (siehe Tab. 19).

	unadjustiert		adjustiert	
	r	p-Wert	r	p-Wert
BMI	-0.09	0.49		
HbA1c	0.06	0.65	0.05	0.69
Glucose	0.02	0.90	0.02	0.84
IE/Tag	-0.03	0.81	-0.02	0.91
IE/kg/Tag	-0.05	0.71	-0.07	0.62
Cholesterin, mg/dl	0.11	0.38	0.13	0.35
HDL, mg/dl	0.39	0.002	0.38	0.003
LDL, mg/dl	0.01	0.94	0.02	0.86
Triglyceride, mg/dl	-0.08	0.55	-0.07	0.60
Diabetesdauer, Jahre	-0.15	0.24	-0.14	0.28

Tabelle 19) Partielle Korrelationskoeffizienten nach Spearman der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel und HbA_{1c}, Glucose, Insulindosis, Lipidprofilparameter und Diabetesdauer unadjustiert und adjustiert nach BMI, Pubertätsstatus, Geschlecht in der DM1-Gruppe

Korrelation von Visfatin/PBEF/NAMPT und Diabetesdauer

Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelwerte wurden auf einen Zusammenhang mit der Erkrankungsdauer untersucht. Die DM1-Gruppe wurde dazu in zwei Untergruppen aufgeteilt: <10 Jahre und ≥10 Jahre Erkrankungsdauer. Mithilfe des Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten konnte keine signifikante Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und der Erkrankungsdauer an DM1 festgestellt werden ($p = 0,24$) (siehe Tab. 20).

Korrelationen		Visfatin/PBEF/NAMPT	Diabetesdauer (Jahre)
Visfatin/PBEF/NAMPT	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,15
	Sig. (2-seitig)	.	0,24
	n	62	62

Tabelle 20) Korrelationskoeffizienten nach Spearman: Visfatin/PBEF/NAMPT und Erkrankungsdauer

Bei einer Erkrankungsdauer <10 Jahren lagen die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei $21,5 \pm 16,3$ ng/ml, und bei einer Erkrankungsdauer von ≥ 10 Jahren lagen die Werte bei $17,3 \pm 3,1$ ng/ml (siehe Tab. 21). Zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der beiden Subgruppen bestand kein signifikanter Unterschied ($p = 0,13$) (siehe Tab. 22).

Diabetesdauer		n	Mittelwert	Standard-abweichung	Perzentil 25	Median	Perzentil 75	Min.	Max.
Visfatin/PBEF/NAMPT	<10 Jahre	52	21,45	16,34	15,00	17,75	19,85	10,60	104,50
	≥ 10 Jahre	10	17,33	3,11	14,70	17,20	19,20	13,80	22,80

Tabelle 21) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in Abhängigkeit von der Erkrankungsdauer <10 und ≥ 10 Jahre

	Visfatin/PBEF/NAMPT
Mann-Whitney-U	7,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,13

Tabelle 22) Mann-Whitney-U test: Visfatin/PBEF/NAMPT und Diabetesdauer <10 und ≥ 10 Jahre

9.2.5 Zusammenfassung

In dieser Studie wurden zum ersten Mal Visfatin/PBEF/NAMPT-Serumspiegel von Kindern und Jugendlichen mit DM1 erhoben.

Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelmessungen wiesen signifikant höhere Werte bei Kindern und Jugendlichen mit DM1 im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Die demografischen Parameter Alter, Geschlecht, Pubertätsstus, BMI zeigten keinen signifikanten Einfluss auf die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel in der DM1-Gruppe. In der Kontrollgruppe bestand bei Probanden im präpubertären Stadium und BMI zunächst eine signifikante Korrelation mit Visfatin/PBEF/NAMPT, die sich nach Stratifizierung und Adjustierung des Pubertätsstatus aufhob. Die Analyse der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Studienteilnehmer der Kontrollgruppe mit Präadipositas zeigte keinen signifikanten Unterschied zu den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Probanden mit einem BMI <25. In der DM1-Gruppe konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen BMI und

Visfatin/PBEF/NAMPT festgestellt werden. Die Untersuchung der Sekundärzielgrößen ergab eine positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT- und HDL-Spiegeln der DM1-Gruppe.

Die Ergebnisse werden in der Diskussion weiter analysiert und mit Ergebnissen der Vergleichsstudien in Bezug gesetzt.

10 Diskussion

Die Interpretation der Funktion des Fettgewebes hat einen Paradigmenwechsel vollzogen. Es gilt nun nicht mehr als passiver Energiespeicher, sondern als aktiv interagierendes Organ. Es zeigt sich, dass die Kommunikation und Interaktion im Organismus komplexer ist als bisher angenommen. Deutlich wird dies an der großen Anzahl von bereits bekannten Adipokinen und an neuen Ergebnissen über bioaktive Signalmoleküle wie den „Adokines“. Auch andere Organe, wie z.B. die Skelettmuskulatur durch die sog. „Myokines“, machen aktuell einen Paradigmenwechsel durch (Pedersen 2011, 337-346). So überrascht es im Nachhinein nicht, dass das größte Energiespeicherorgan auch aktiv an der Stoffwechselregulierung und anderen Prozessen beteiligt ist.

Das Adipokin Visfatin/PBEF/NAMPT ist durch seine funktionellen Eigenschaften für die Diabetesforschung interessant. Unter der Beachtung, dass sich die Pathogenese grundsätzlich unterscheidet, sind DM1 und 2 durch eine gestörte Glukosehomöostase im Rahmen einer Immunreaktion charakterisiert. Besonders die Pathogenese von DM1 und der pathogenetisch immun-medierten Zerstörung von β -Zellen des Pankreas mit resultierendem Insulinmangel und gestörter Glukosehomöostase macht es interessant, Visfatin/PBEF/NAMPT in diesem Kontext zu untersuchen. Visfatin/PBEF/NAMPT ist als limitierender Faktor in der NAD-Biosynthese indirekt an einer Vielzahl intrazellulärer Stoffwechselprozesse beteiligt. Dies könnte sich bei β -Zellen in Form einer GSIS-Steigerung (siehe Kap. 8.8), oder bei immunkompetenten Zellen in Form von Entzündungsfaktoren

zeigen (siehe Kap. 8.6.1). Über den Mechanismus ist bei letzterem nur wenig bekannt. Die „NAD-konsumierenden“ Sirtuine sind Gegenstand aktueller Untersuchungen, da sie an der Regulation von verschiedenen zellulären Schlüsselfunktionen beteiligt sind. Insbesondere SIRT-1 hat eine GSIS-aktivierende Funktion in β -Zellen sowie immunregulierende Eigenschaften (Yu and Auwerx 2009, E10-9; Preyat and Leo 2013, 669-680). SIRT-1 könnte somit ein Bindeglied in der Kaskade zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT, NAD und der GSIS sowie Immunreaktion sein. Visfatin/PBEF/NAMPT stellt dabei als wichtigster Substratlieferant das Fundament der sogenannten NAD-World dar.

Es bleibt zu diskutieren, ob Visfatin/PBEF/NAMPT in seiner Funktion als Enzym in der NAD-Biosynthese, das im Organismus allgegenwärtig ist, als Adipokin definiert werden kann. Denn die Recherche über die Expression hat gezeigt, dass Visfatin/PBEF/NAMPT in unterschiedlicher Ausprägung in fast allen untersuchten Geweben messbar ist und Fettgewebe im Vergleich nicht die höchste Expressionsrate aufwies. Visfatin/PBEF/NAMPT ist möglicherweise ein Enzym in der Schlüsselfunktion einer für unseren Organismus überlebenswichtigen Reaktion, dessen intra- und extrazelluläre Konzentration von der Stoffwechselaktivität einzelner Organe und Zellverbünde abhängig ist.

Diese Erkenntnisse werden im Verlauf der Diskussion wieder aufgenommen. Zunächst werden die Studienergebnisse dieser Arbeit in Hinblick auf die Vergleichsstudien ausgewertet. Anschließend sollen auf Basis dieser Daten im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Literaturrecherche Interpretationsansätze und Hypothesen über die Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 aufgestellt werden.

Es handelt sich um die erste Studie, die Visfatin/PBEF/NAMPT bei Kindern und Jugendlichen mit DM1 untersucht hat. Insgesamt gibt es bis heute fünf Vergleichsstudien, die allerdings die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei erwachsenen Probanden mit DM1 gemessen haben.

Die Auswertung der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Messungen haben gezeigt, dass Kinder und Jugendliche mit DM1 signifikant höhere Serumspiegel haben als Kinder und Jugendliche aus der Vergleichsgruppe ($p = 0,0001$). Dieses Ergebnis

geht mit drei von fünf zu diesem Zeitpunkt bekannten Publikationen mit Untersuchungen von Visfatin/PBEF/NAMPT bei DM1 konform. In diesen Studien wiesen erwachsene Probanden mit DM1 ebenfalls signifikant höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel als die Kontrollgruppen auf (siehe Kap. 8.9.1) (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875; Haider et al. 2006, 4702-4704; Stadler et al. 2010, 763-769). Die signifikant höheren Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel wurden in den Studien als eine kompensatorische Antwort auf die chronische oder intermittierende Hyperglykämie bei bestehender Insulinopenie durch die Funktionsstörung bzw. -verlust der β -Zellen interpretiert. Lopez-Bermejo et al. haben die Verknüpfung der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel mit der β -Zellfunktion über die Auswahl der Studienpopulationen aus gesunden Probanden, Typ-II-Diabetikern mit eingeschränkter β -Zellfunktion und langfristig an DM1 erkrankten Studienteilnehmern ohne β -Zellfunktion deutlich gemacht. Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel sind in der DM1-Gruppe signifikant am höchsten. Die Werte der Kontrollgruppe sind am niedrigsten und die Werte der Patienten mit DM2 lagen dazwischen (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875). Stadler et al. konnten beweisen, dass sich die signifikant erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel durch eine erfolgreiche PKTx verbessern, aber nicht normalisieren lassen (Stadler et al. 2010, 763-769). Haider et al. wiesen eine Senkung der signifikant erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Probanden mit DM1 durch Sport nach (Haider et al. 2006, 4702-4704).

Die vergleichsweise niedrigeren Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei Probanden mit DM1 wurden von Alexiadou et al. mit einem synergistischen Effekt zur Insulinopenie erklärt (Alexiadou et al. 2012, 444-450). Toruner et al. haben die signifikant niedrigeren Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel mit Unterschieden in den Zusammensetzungen der eigenen Studienpopulationen im Vergleich zu den Vorläuferstudien erklärt (Toruner et al. 2009, 33-37). Die Studienteilnehmer mit DM1 waren jünger und hatten komplikationslosere Erkrankungsverläufe bei höheren HbA_{1c}-Werten. Toruner et al. schlossen daraus, dass Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei schlechter Blutzuckerkontrolle niedriger sind und vermuten zeitabhängige Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeländerungen sowie unterschiedliche Visfatin/PBEF/NAMPT-Werte bei komplikationslosen im Vergleich zu komplikationsreichen Erkrankungsverläufen (Toruner et al. 2009, 33-37).

Kontroverse Ergebnisse bei der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelmessung wurden in der Literatur in anderen Forschungsbereichen beschrieben. Deutlich wird dies insbesondere an der höheren Publikationsdichte im Zusammenhang mit Adipositas, Diabetes mellitus Typ II und dem metabolischen Syndrom (siehe Kap. 8.7.1). Ein wichtiger Faktor ist das Messverfahren. Nüsken et al. haben 2007 auf die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel beeinflussenden Faktoren bei der Präanalyse, Lagerung und Verwendung verschiedener Additiva im EIA hingewiesen und die Notwendigkeit der Dokumentation zur besseren Vergleichbarkeit der Studien unterstrichen (Nusken et al. 2007, 154-156). Körner et al haben kurz darauf einzelne Messverfahren untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass der ELISA für Visfatin/PBEF/NAMPT-Messungen am besten geeignet ist (Korner et al. 2007, 4783-4791). Die DM1-Vorläuferstudien und die Studie dieser Arbeit haben einheitlich ELISA verwendet und weisen trotzdem widersprüchliche Ergebnisse auf (siehe Tab. 21). Seit 2012 gibt es mit dem ssDNA-Aptamer basierten Biosensor für Visfatin/PBEF/NAMPT ein neues Messverfahren, das genauere Messungen ermöglichen soll (Park et al. 2012, 233-238). Auffallend sind im Studienvergleich deutlich unterschiedliche Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel-Niveaus. Tabelle 23 gibt diesbezüglich einen Überblick über die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1 und den Kontrollgruppen.

Studie	DM1-Gruppe	Kontrollgruppe	p-Werte
Lopez-Bermejo et al. 2006	37 (34-40)	15 (13-18)	P<0,0001
Haider et al. 2006	64,1 ± 12,0	1,3 ± 0,0	P<0,01
Toruner et al. 2009	18,8 ± 1,7	20,2 ± 0,3	P<0,0001
Stadler et al. 2010	56 ± 4	40 ± 3	p<0,03
Alexiadou et al. 2012	17,26 ± 1,72	22,52 ± 3,30	p=0,06
Studie	17,5 (10,6 – 104,5)	12,5 (4,6 - 68,6)	p=0,0001

Tabelle 23) Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelvergleich zwischen DM1- und Kontrollgruppen der Vergleichsstudien und den aktuellen Messergebnissen (ng/ml)

Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelmessungen von Haider et al. weisen im Studienvergleich bei DM1 die höchsten Werte auf (64,1 ± 12,0 ng/ml) und die größte Differenz zur Kontrollgruppe (1,3 ± 0,0 ng/ml). Stadler et al. haben vergleichsweise hohe Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelniveaus in beiden Gruppen (56 ± 4 vs. 40 ± 3 ng/ml). Die Ergebnisse dieser Studie liegen im Bereich der Ergebnisse von Toruner et al. und Alexiadou et al. Die Ausnahme ist, dass diese

Studie signifikant höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe aufweist. Visfatin/PBEF/NAMPT ist insbesondere durch die enzymatische Funktion in der NAD-Biosynthese an einer Vielzahl intrazellulärer und wahrscheinlich extrazellulärer Prozesse unterschiedlicher Funktionsbereiche beteiligt (siehe Kap. 8.6). Es klingt demnach plausibel, dass sich die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der Studienpopulationen vor einer PKTx von den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln einer Studienpopulation mit Kindern und Jugendlichen unterscheiden. Die Teilnehmer beider Studien befinden sich trotz der Erkrankung DM1, aufgrund des komplikationsreicheren Krankheitsverlaufs, der zur PKTx geführt haben könnte, in unterschiedlicher pathophysiologischer Verfassung. Die Synthese des „Universalsubstrats“ NAD und damit verbunden das breite Funktionsspektrum macht die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelmessungen äußerst sensibel. Es bedarf demnach einer bedachten Auswahl der Studienteilnehmer, um Ergebnisse nicht zu verfälschen. Im weiteren Verlauf werden mögliche demografische Einflussfaktoren verglichen.

In Hinblick auf die untersuchten demografischen Parameter Alter und Geschlecht konnten keine signifikanten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelunterschiede in der DM1- und Kontrollgruppe gemessen werden. Diese Ergebnisse gehen mit den Vergleichsstudien konform (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875; Toruner et al. 2009, 33-37; Haider et al. 2006, 4702-4704).

In der Kontrollgruppe zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel zwischen den Stadien prä- und postpubertär. Dieser Unterschied konnte in der DM1-Gruppe nicht festgestellt werden. Widersprüchliche Ergebnisse gibt es im Rahmen von Untersuchungen von Visfatin/PBEF/NAMPT bei Kindern und Jugendlichen mit Adipositas, die aufgrund unterschiedlicher Pubertätsklassifikationsverfahren häufig nicht vergleichbar sind (Davutoglu et al. 2009, 22-27; Krzystek-Korpacka et al. 2011, 1284-1291). Denkbar sind allerdings Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeländerungen im Zusammenhang mit hormonellen Veränderungen in der Pubertät. Dieser Effekt könnte bei den Probanden mit DM1 durch pathophysiologische Prozesse überlagert sein.

Die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel haben in der Kontrollgruppe signifikant mit dem BMI korreliert ($p = 0,003$). Stratifiziert nach dem Pubertätsstatus konnte der signifikante Zusammenhang von Visfatin/PBEF/NAMPT und dem BMI in der

Kontrollgruppe nicht bestätigt werden. In der DM1-Gruppe konnte dagegen keine Korrelation zum BMI festgestellt werden. Die DM1-Vergleichsstudien fanden in beiden Gruppen keine Korrelation (Lopez-Bermejo et al. 2006, 2871-2875; Toruner et al. 2009, 33-37; Haider et al. 2006, 4702-4704). Es gibt eine Vielzahl an kontroversen Ergebnissen zur Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und dem BMI. Davutoglu et al. haben eine positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und dem BMI bei adipösen Kindern und Jugendlichen festgestellt (Davutoglu et al. 2009, 22-27). In anderen Studien fand sich keine oder eine negative Korrelation bei adipösen Kindern und Jugendlichen (Haider et al. 2006, 548-549; Jin et al. 2008, 412-418). Die Expression in viszeralem Fettgewebe lässt im Grunde genommen auf eine positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und BMI schließen (siehe Kap. 8.2). Die widersprüchlichen Daten könnten allerdings auch diesem Zusammenhang auf potenziell unbekannte Einflussfaktoren hinweisen.

In der DM1-Gruppe wurde untersucht, welche Zusammenhänge zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und Glukose- sowie Lipidstoffwechsel bestehen. Dazu werden die Parameter Nüchternglukosespiegel, HbA_{1c}-Wert und Insulin-Dosis herangezogen, sowie die Lipidprofilparameter Gesamtcholesterin, LDL, HDL und TG. Im Ergebnis dieser Studie zeigte sich von allen untersuchten Parametern eine positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL. DM1-Vorläuferstudien konnten keine Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und den Lipidparametern Gesamtcholesterin, LDL, HDL und TG feststellen (Stadler et al. 2010, 763-769; Toruner et al. 2009, 33-37). Im Rahmen anderer Untersuchungen wird eine positive Assoziation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL beschrieben, diese können die Ergebnissen dieser Arbeit somit bestätigen. Wang et al. stellten eine positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL bei genetisch für Adipositas prädisponierten Studienteilnehmern und der Kontrollgruppe fest. Daraus schlossen sie, dass Visfatin/PBEF/NAMPT ein Indikator für ein vorteilhaftes Lipidprofil bei kaukasischen Nicht-Diabetikern sein könnte (Wang et al. 2007, 971-976). Smith et al. wiesen eine positive Korrelation zwischen den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln von immigrierten Indern und HDL nach (Smith et al. 2006, 667-672). Eine weitere Studie konnte zeigen, dass die Supplementierung von Nicotinsäureamid, Substrat von Visfatin/PBEF/NAMPT, ebenfalls zu einer positiven Veränderung des

Lipidprofils mit höheren HDL-Spiegeln führt. Takahashi et al. stellten fest, dass sich die erfolgreiche Behandlung von Hyperphosphatämie bei Langzeitdialysepatienten mit Nicotinsäureamid ebenfalls als positive Veränderung des Lipidprofils in Form einer Erhöhung der HDL-Werte und einer Erniedrigung der LDL-Werte widerspiegelte (Takahashi et al. 2004, 1099-1104). Nüsken et al. beschrieben als Ausnahme eine negative Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HDL bei Hämodialysepatienten (Nusken et al. 2009, 2832-2838). Wie Visfatin/PBEF/NAMPT auf Lipoproteine, insbesondere HDL, wirkt, ist unklar.

In DM1-Vorläuferstudien konnte eine positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HbA_{1c} festgestellt werden (Toruner et al. 2009, 33-37; Haider et al. 2006, 4702-4704; Stadler et al. 2010, 763-769). Toruner et al. haben eine signifikant positive Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und HbA_{1c} beschrieben und konnten den HbA_{1c}-Wert als einen Prädiktor für Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel erklären. Zu diesem Ergebnis kamen auch Stadler et al. und Lopez-Bermejio et al. Erhöhte HbA_{1c}-Werte spiegeln eine schlechte Blutzuckerkontrolle wider (Pschyrembel online) und könnten theoretisch mit den pathophysiologischen Vorgängen bei langfristig erhöhten Blutglukosekonzentrationen erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bzw. -Aktivität vorhersagen. Diese Theorie kann durch Haider et al. belegt werden, die eine Stimulierung der Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression durch Hyperglykämie beschrieben haben (siehe Kap. 8.2) (Haider et al. 2006, 1909-1914).

Kontroverse Ergebnisse wurden bei der Untersuchung von Visfatin/PBEF/NAMPT und Nüchternglukosespiegelwerten gefunden. Die Ergebnisse von Toruner et al. konnten ebenso wie die Ergebnisse dieser Arbeit keine Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und Nüchternglukosespiegel aufzeigen (Toruner et al. 2009, 33-37). Stadler et al. hingegen wiesen einen signifikant positiven Zusammenhang zwischen Nüchternglukosespiegel und Visfatin/PBEF/NAMPT nach (Stadler et al. 2010, 763-769). Auch in diesem Fall könnten die erhöhten Blutglukosekonzentrationen die Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression stimulieren (siehe Kap. 8.2) (Haider et al. 2006, 1909-1914).

Toruner et al. konnten die Daten dieser Studie bestätigen und stellten keine Korrelation zwischen Visfatin/PBEF/NAMPT und der Insulin-Dosis fest (Toruner et al. 2009, 33-37). Eine negative Korrelation mit den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel

wäre durch die Visfatin/PBEF/NAMPT-expressionssupprimierende Wirkung theoretisch möglich gewesen (siehe Kap. 8.2) (Haider et al. 2006, 1909-1914).

Die Dauer der Erkrankung spielt nach aktuellen Ergebnissen bei DM1 keine Rolle. Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Diabetesdauer unter und über zehn Jahren mit Visfatin/PBEF/NAMPT festgestellt werden (siehe Kap. 10.5.2). Toruner et al. haben 2009 ebenfalls keine Korrelation aufzeigen können (Toruner et al. 2009, 33-37). Andere Daten stehen zu diesem Zeitpunkt in der Literatur nicht zur Verfügung.

In der Zukunft müssen Vergleichsergebnisse von Kindern- und Jugendlichen mit DM1 gesammelt werden. Die Studienpopulation muss sorgsam ausgewählt werden. Die Untersuchung von Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln bei Kindern und Jugendlichen mit DM1 sind vielversprechend, da sich die Erkrankung in dieser Altersgruppe manifestiert (International Diabetes Federation 2013). Visfatin/PBEF/NAMPT verbindet durch den Einfluss auf die β -Zellfunktion und immunregulatorische Eigenschaften (siehe Kap. 8.6) charakteristische Komponenten der Pathophysiologie von DM1 (Siegenthaler and Blum 2006, 78-85). Doch erschwert diese Kombination auch eine Interpretation.

In Bezug auf die Ergebnisse der Literaturrecherche sind erhöhte Serum-Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1 plausibel. DM1 ist durch eine immunmedierte Zerstörung von β -Zellen charakterisiert (Siegenthaler and Blum 2006, 78-85). Die immunbedingte β -Zellfunktionsstörung führt zu Insulinmangel und Hyperglykämie, was zu einer erhöhten Expression und auch Sekretion von Visfatin/PBEF/NAMPT führen könnte. Aktuelle Publikationen bestätigen das (Haider et al. 2006, 1909-1914; Adeghate 2008, 1851-1862). Insulin und Somatostatin hingegen haben einen senkenden Einfluss auf den Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel gezeigt (Haider et al. 2006, 1909-1914). Es fehlen Ergebnisse, die ein Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelprofil unter laufender Insulin-Therapie zeigen. Ognjanovic et al. konnten nachweisen, dass es insbesondere im Rahmen von Entzündungsprozessen durch IL-1 β , TNF- α und IL-6 zur signifikant höheren Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression kommt (siehe Kap. 8.2) (Ognjanovic et al. 2001, 107-117). Kover et al. beschreiben einen Insulin-ähnlichen Sekretionsmechanismus, der von der Glukosekonzentration und einer Membrandepolarisation abhängig ist (siehe Kap. 8.4) (Kover et al. 2013, e58767).

Der expressionshemmende Effekt von Insulin und die expressionssteigernden Effekte von Glukose sowie der Zytokine IL-1 β , TNF- α und IL-6, die eine bedeutende Rolle in der Pathogenese von DM1 spielen, lassen bereits theoretisch auf höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei DM1 schließen. Doch welche physiologische oder auch pathophysiologische Funktion könnten erhöhte Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel haben?

Eine blutzuckersenkende Wirkung von Visfatin/PBEF/NAMPT wurde in der Literatur mehrfach belegt (Fukuhara et al. 2005, 426-430; Revollo et al. 2007, 363-375). Dass die Wirkung Insulin-mimetisch über die Bindung an Insulin-Rezeptoren reguliert werde, wird kontrovers diskutiert (siehe Kap. 8.6.2) (Fukuhara et al. 2005, 426-430; Revollo et al. 2007, 363-375; Xie et al. 2007, 201-210; Brown et al. 2010, 171-178). Aktuelle Studien beschreiben, dass Visfatin/PBEF/NAMPT die GSIS steigert und auf diese Weise an der Regulation der Glukosehomöostase beteiligt ist (Revollo et al. 2007, 363-375; Brown et al. 2010, 171-178; Spinnler et al. 2013, e54106). Eine vielversprechende Erklärung für den Funktionsmechanismus bot die Theorie der „Visfatin/PBEF/NAMPT-medierten systemischen NAD-Synthese“ (siehe Kap. 8.6.3) (Imai and Yoshino 2013, 26-33; Revollo et al. 2007, 363-375). Dieser Theorie zufolge liefert Visfatin/PBEF/NAMPT als Schlüsselenzym der NAD-Synthese in seiner extrazellulären Variante, eNAMPT, Substrat für überlebenswichtige intrazelluläre Stoffwechselprozesse. Intrazelluläres Visfatin/PBEF/NAMPT, iNAMPT, ist in einigen spezialisierten Zellarten schwach ausgeprägt, wie z. B. in β -Zellen, was einen extrazellulären Bedarf an eNAMPT oder NMN für die intrazelluläre Synthese von NAD notwendig macht (Revollo, Grimm, and Imai 2007, 164-170; Revollo et al. 2007, 363-375). Potenzielle Funktionsstörungen von iNAMPT durch den Alterungsprozess und insbesondere durch Erkrankungen stimulieren weiteren Bedarf (siehe Kap. 8.6.3) (Imai and Yoshino 2013, 26-33). Hypothetisch ist nach dieser Theorie eine Störung von iNAMPT durch die autoaggressive Immunreaktion in den β -Zellen möglich, was durch die gestörte NAD-Synthese zu einem NAD-Mangel führt. Möglich ist auch ein erhöhter NAD-Konsum von hierarchisch höher angeordneten Faktoren, der kompensiert werden muss. Ein Beispiel sind Sirtuine, insbesondere SIRT-1, das neben einem steigernden Effekt auf GSIS auch pro- und antiinflammatorische Wirkungen hat (Preyat and Leo 2013, 669-680).

Bekannt ist, dass die Zytokine IL-1 β , TNF- α und IFN- γ zu einer Hemmung der Insulin-Sekretion und Induktion der β -Zell-Apoptose führen (Wang, Guan, and Yang 2010, 515136; Kawasaki, Abiru, and Eguchi 2004, S27-32). Diese Zytokine sind charakteristisch bei der Manifestation von DM1 und entsprechen nach dem „TH1/TH2-Modell“ der zytotoxisch durch T-Helfer-1-(TH1-)-Zellen dominierten Immunreaktion (Siegenthaler and Blum 2006, 78-85). Bei dieser Reaktion kommt es zu einer destruktiven Insulitis. In der Entzündungsreaktion wurden in Untersuchungen bis zu 15 verschiedene Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren gemessen, von denen der überwiegende Anteil proinflammatorisch wirkt (Yeung et al. 2012, 1500-1508). Dabei gibt es Belege, dass die charakteristischen Zytokine der TH1-Immunreaktion, IFN- γ , TNF- α und IL-1 β , einen direkten Einfluss auf die β -Zell-Apoptose haben (Kawasaki, Abiru, and Eguchi 2004, S27-32). Eine protektive Wirkung von Visfatin/PBEF/NAMPT auf β -Zellen unter diabetogenen Bedingungen, insbesondere unter dem Einfluss der Faktoren IFN- γ , TNF- α und IL-1 β wird kontrovers diskutiert (Spinnler et al. 2013, e54106; Cheng et al. 2011, 13-21). Der „destruktiven“, TH1-gewichteten Insulitis kann über Jahre eine „benigne“, von TH2-Zellen dominierte Insulitis vorweggehen, die sich in ihrem Zytokin-Spektrum unterscheidet (Siegenthaler and Blum 2006, 78-85). Es wäre somit interessant Visfatin/PBEF/NAMPT im prädiabetischen Stadium zu messen oder zu verschiedenen Zeitpunkten im Krankheitsverlauf von DM1.

Was könnten die Folgen von einem NAD-Mangel sein? NAD ist im weitesten Sinne in seinen Formen NAD⁺/NADH als Coenzym für die Substratoxidation, und NADP⁺/NADPH zur Substratreduktion für wichtige intrazelluläre Reaktionen im Energiestoffwechsel sowie Mitochondrienfunktion, Calcium-Homöostase, Antioxidation, Genexpression, Immunfunktionen, Alterung und Zelltod essenziell (Ying 2008, 179-206). Die störungsfreie Funktion und Interaktion von Energiestoffwechsel, Mitochondrienfunktion und Calcium-Homöostase in β -Zellen sind für die Insulin-Sekretion von Bedeutung.

Eine zentrale Rolle für die Insulin-Sekretion spielt die intrazelluläre Calcium-Konzentration (Klinke, Pape, and Silbernagl Stefan 2005, 551-558). In der Literatur werden mehrere Mechanismen von NAD⁺ und NADH beschrieben, die die Calcium-Homöostase beeinflussen (Ying 2008, 179-206). Vereinfacht dargestellt, kommt es unter physiologischen Bedingungen bei der GSIS durch

einen Anstieg der Glukoseplasmakonzentration zum vermehrten carriervermittelten Transport über GLUT-2 von Glukose in β -Zellen. In der Glykolyse wird durch die Oxidation von Glukose vermehrt ATP gebildet. Die gesteigerte ATP-Bildung bewirkt eine Verschiebung des ATP/ADP-Verhältnisses und den Verschluss ATP-abhängiger K-Kanäle mit anschließender Membrandepolarisation. Extrazelluläres Ca^{2+} kann durch die spannungsabhängigen Ca-Kanäle einströmen und aktiviert die Exozytose von Insulin (Klinke, Pape, and Silbernagl Stefan 2005, 551-558).

Untersuchungsergebnisse haben gezeigt, dass NAD in Form von NAD^+ als Coenzym an der Regulierung der intrazellulären Ca^{2+} -Homöostase durch die Generierung von ADP-Ribose über die Enzyme NAD-Glycohydrolase oder PARPs/Poly(ADP-ribose) Glycohydrolase (PARG), sowie durch die Bildung von zyklischer ADP-Ribose über ADP-Ribose-Cyclase und O-Acetyl-ADP-Ribose über Sirtuine und durch Mono-ADP-Ribosylation von P2X_7 -Rezeptoren beteiligt ist. ADP-Ribose und O-Acetyl-ADP-Ribose bewirken die Aktivierung von „transient receptor potential melastatin-related channel 2“ (TRPM2) und induzieren auf diese Weise einen Ca^{2+} -Einstrom. Bisher gibt es nur konkrete Ergebnisse von TRPM2 in β -Zellen im Zusammenhang mit einer K^+ -Kanal-unabhängigen Ca^{2+} -induzierten, jedoch temperaturabhängigen Insulin-Sekretion (Togashi et al. 2006, 1804-1815). Mediert wird der Mechanismus über zyklische ADP-Ribose oder über einen SIRT-1-medierten Weg (Lange et al. 2009, ra23). Es ist unklar, welche physiologische Bedeutung dieser Mechanismus hat, pathophysiologisch vermuten Togashi et al. einen Zusammenhang mit Diabetes (Togashi et al. 2006, 1804-1815).

Ein weiterer Ansatz ist die enge Verknüpfung von intrazellulärer Energiegewinnung in Form von ATP und Insulin-Sekretion in β -Zellen. Erst die Verschiebung des ATP/ADP-Verhältnisses durch die Verwertung von Glukose im intrazellulären Energiestoffwechsel führt zum Calcium-Influx und damit zur Insulin-Sekretion. Initial ist dafür die Generierung von ATP im Zytosol über die Glykolyse von Bedeutung (Klinke, Pape, and Silbernagl Stefan 2005, 551-558). Aber auch die mitochondriale ATP-Synthese über den Citrat-Zyklus, aber insbesondere der Atmungskette ist von Bedeutung. NAD ist als Cofaktor oder Elektronenüberträger nicht nur essenziell für alle Systeme des intrazellulären Energiestoffwechsels. Es ist über die Aktivierung von SIRT-1 funktionell auch für GSIS von Bedeutung. Aktiviert, hemmt SIRT-1 die Bildung von „uncoupling protein 2“ (UCP-2), einem

Protonentransporter in Mitochondrien von β -Zellen. Erst dann kann es zu einer Pro-GSIS Verschiebung des ATP/ADP-Quotienten kommen und somit zur Insulin-Sekretion (Bordone et al. 2006, e31; Brand et al. 2010, 134-140).

Zusammenfassend könnten die erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel durch den expressionsauslösenden Faktor Hyperglykämie und durch den Wegfall des supprimierenden Faktors Insulin erklärt werden. Unter den pathophysiologischen Bedingungen von DM1, charakterisiert durch eine Insulitis und einer gestörten β -Zellfunktion, könnten höhere extrazelluläre Visfatin/PBEF/NAMPT-Konzentrationen ein Mehrangebot des Substrats NAD für die Aufrechterhaltung der β -Zellfunktion unter zellulärem Stress und somit auch für die Insulin-Sekretion schaffen. In der Studie dieser Arbeit wurden Kinder und Jugendliche mit einer relativ kurzen Erkrankungsdauer untersucht. Es ist anzunehmen, dass bei ihnen noch eine Restfunktion der β -Zellen vorhanden ist. Für Nachfolgestudien wäre es interessant die Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel an mehreren Zeitpunkten zu messen, um mögliche Konzentrationsschwankungen zu detektieren, die mit der β -Zell-Funktion oder der Immunreaktion in einem Zusammenhang stehen könnten. Ein potenzieller Bedarf an NAD durch Visfatin/PBEF/NAMPT könnte in der Ca^{2+} -Homöostase und im Energiestoffwechsel liegen, die für die Insulin-Sekretion von großer Bedeutung sind. Die gesteigerte NAD-Syntheseleistung durch extrazelluläres Visfatin/PBEF/NAMPT könnte durch die entzündungsbedingte Funktionsstörung hypothetisch auf Dauer nicht ausreichen. Es bleibt ein erhöhter Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel bei zerstörten β -Zellen. Besonders vielversprechend ist die Erklärung der GSIS-Steigerung durch die Aktivierung von SIRT-1. Dies unterstreicht die enge Verknüpfung von Visfatin/PBEF/NAMPT und SIRT-1. Ein antipoptotischer und β -Zell-protectiver Einfluss von Visfatin/PBEF/NAMPT unter diabetogenen Bedingungen könnte zu einer Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegelerhöhung führen. Dies wird kontrovers diskutiert (siehe Kap. 8.8). Denkbar ist durch die immunregulatorische Funktion von Visfatin/PBEF/NAMPT, die möglicherweise auch NAD-vermittelt abläuft, eine pathophysiologische Beteiligung an der Immunreaktion im Krankheitsverlauf von DM1. Auf diese Weise würde es auf der einen Seite aufgrund des erhöhten NAD-Bedarfs der Immunreaktion und auf der anderen Seite durch die gestörte β -Zell-Funktion zu einer Erhöhung der extrazellulären Visfatin/PBEF/NAMPT-Konzentration kommen, um eine Versorgung beider Seiten mit dem

Universalsubstrat NAD zu gewährleisten. Vielversprechendes Bindeglied in diesem Vorgang sind Sirtuine, aber auch andere noch unentdeckte Moleküle sind in diesem komplexen pathophysiologischen Mechanismus denkbar.

10.1 Schlussfolgerung

Diese Arbeit liefert erste Ergebnisse über Visfatin/PBEF/NAMPT-Serumspiegel bei Kindern und Jugendlichen mit DM1. Charakteristisch für die Studie sind signifikant höhere Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel der DM1-Gruppe, die positiv mit den HDL-Werten korrelieren. Im Vergleich der Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel mit Vorläuferstudien ergeben sich Widersprüche. Der Vergleich ist insgesamt mit Vorsicht zu betrachten, da es sich bei den Studienpopulationen der Vergleichsstudien teilweise um Probanden mit komplikationsreicheren und längeren Erkrankungsverläufen handelt. In der Zukunft sind weitere Studien gefragt, die Visfatin/PBEF/NAMPT an ausgewählten Probanden im Kindes- und Jugendalter mit DM1 untersuchen und geeignete Vergleichsergebnisse präsentieren.

Die Ergebnisse der Literaturrecherche sprechen dafür, dass die Multifunktionalität von Visfatin/PBEF/NAMPT über die Schlüsselfunktion in der NAD-Biosynthese zustande kommt. NAD als Universalsubstrat für bedeutende intrazelluläre Prozesse ist zu einem großen Anteil von Visfatin/PBEF/NAMPT abhängig. In diesem Zusammenhang spielen Sirtuine, insbesondere SIRT-1, als NAD konsumierende Enzyme durch ihr breites Funktionsspektrum eine vielversprechende Rolle, um die messbaren Eigenschaften von Visfatin/PBEF/NAMPT erklären zu können. Auf diesem Weg könnte der initial blutzuckersenkende oder GSIS-steigernde Effekt mit folgender Kaskade beschrieben werden: Hyperglykämie oder Insulinopenie führen zu einer erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Expression und -Konzentration was in weiterer Folge eine erhöhte NAD-Synthese ermöglicht. Das größere NAD-Angebot aktiviert vermehrt SIRT-1, welches die mitochondriale UCP-2 in β -Zellen hemmt (siehe S. 81). Die Hemmung des Protonentransporters UCP-2 äußert sich in einer erhöhten ATP-

Synthese, die durch eine Verschiebung des zytosolischen ATP/ADP-Quotienten eine Membrandepolarisation mit anschließendem Ca^{2+} -Influx auslöst. Die Voraussetzungen für eine Insulin-Sekretion sind nun gegeben und ein blutzuckersenkender Effekt oder GSIS-steigernder Effekt von Visfatin/PBEF/NAMPT wird messbar. Dieser Vorgang könnte parallel zur bisher bekannten physiologischen Insulin-Sekretion ablaufen und den GSIS-steigernden Einfluss von Visfatin/PBEF/NAMPT oder NMN erklären (siehe S. 79 - 80 und Kap. 8.8).

In der Zusammenschau der derzeit vorliegenden Literatur könnte Visfatin/PBEF/NAMPT bei allen physiologischen und pathophysiologischen Ereignissen als NAD-Lieferant dienen. Die extrazelluläre Form könnte als Unterstützung für Zellen oder Organe bei einem Mehrbedarf an NAD fungieren. So ist es denkbar, dass es wie im Rahmen dieser Studie zu erhöhten Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegeln bei DM1 kommt, um die beeinträchtigte Funktionalität der β -Zellen zu unterstützen. Gleichzeitig aber könnte Visfatin/PBEF/NAMPT auch als Substratlieferant für die autoaggressive Immunreaktion im pathophysiologischen Prozess von DM1 wirken. Diese Hypothesen gilt es in Folgestudien zu prüfen. Dazu sind insbesondere Studien notwendig, die die grundlegenden Eigenschaften von Visfatin/PBEF/NAMPT als intra- und extrazelluläres Protein untersuchen. Dabei fehlt es besonders an Studien, die das Verhalten von Visfatin/PBEF/NAMPT in Immunreaktionen analysieren. Ein besseres Verständnis über die grundlegenden Funktionsmechanismen und Interaktionswege von Visfatin/PBEF/NAMPT und NAD könnten zu einem besseren Wissen über potenzielle Einflussfaktoren verhelfen. Wichtig ist es nun Vergleichsergebnisse für die in dieser Arbeit beschriebene Studie über Visfatin/PBEF/NAMPT-Spiegel von Kindern- und Jugendlichen mit DM1 zu liefern.

11 Literaturverzeichnis

- Abdellatif, M. 2012. Sirtuins and pyridine nucleotides. *Circulation research* 111, no. 5:642-656.
- Adamczak, M., and A. Wiecek. 2013. The adipose tissue as an endocrine organ. *Seminars in nephrology* 33, no. 1:2-13.
- Adeghate, E. 2008. Visfatin: structure, function and relation to diabetes mellitus and other dysfunctions. *Current medicinal chemistry* 15, no. 18:1851-1862.
- Ahima, R. S. 2006. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 14 Suppl 5, 242S-249S.
- Akturk, M., et al. 2008. Visfatin concentration is decreased in women with gestational diabetes mellitus in the third trimester. *Journal of endocrinological investigation* 31, no. 7:610-613.
- Alexiadou, K., et al. 2012. Differences in plasma apelin and visfatin levels between patients with type 1 diabetes mellitus and healthy subjects and response after acute hyperglycemia and insulin administration. *Hormones (Athens, Greece)* 11, no. 4:444-450.
- Bauer, L., et al. 2009. Nicotinamide phosphoribosyltransferase and prostaglandin H2 synthase 2 are up-regulated in human pancreatic adenocarcinoma cells after stimulation with interleukin-1. *International journal of oncology* 35, no. 1:97-107.
- Berndt, J., et al. 2005. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes* 54, no. 10:2911-2916.
- Bi, T. Q., and X. M. Che. 2010. Nampt/PBEF/visfatin and cancer. *Cancer biology & therapy* 10, no. 2:119-125.
- Blakemore, A. I., et al. 2009. A rare variant in the visfatin gene (NAMPT/PBEF1) is associated with protection from obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 17, no. 8:1549-1553.
- Bordone, L., et al. 2006. Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. *PLoS biology* 4, no. 2:e31.
- Bottcher, Y., et al. 2006. Genetic variation in the visfatin gene (PBEF1) and its relation to glucose metabolism and fat-depot-specific messenger ribonucleic acid expression in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 91, no. 7:2725-2731.
- Brand, M. D., et al. 2010. Mitochondrial uncoupling protein 2 in pancreatic beta-cells. *Diabetes, obesity & metabolism* 12 Suppl 2, 134-140.
- Brown, J. E., et al. 2010. Visfatin regulates insulin secretion, insulin receptor signalling and mRNA expression of diabetes-related genes in mouse pancreatic beta-cells. *Journal of Molecular Endocrinology* 44, no. 3:171-178.
- Cheng, Q., et al. 2011. Visfatin inhibits apoptosis of pancreatic beta-cell line, MIN6, via the mitogen-activated protein kinase/phosphoinositide 3-kinase pathway. *Journal of Molecular Endocrinology* 47, no. 1:13-21.

- Chung, C. P., et al. 2009. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. *Lupus* 18, no. 9:799-806.
- Collins, P. B., and S. Chaykin. 1972. The management of nicotinamide and nicotinic acid in the mouse. *The Journal of biological chemistry* 247, no. 3:778-783.
- Dahl, T. B., et al. 2007. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation* 115, no. 8:972-980.
- Davutoglu, M., et al. 2009. Plasma visfatin concentrations in childhood obesity: relationships with insulin resistance and anthropometric indices. *Swiss medical weekly* 139, no. 1-2:22-27.
- Fain, J. N., et al. 2004. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 145, no. 5:2273-2282.
- Fischer-Posovszky, P., M. Wabitsch, and Z. Hochberg. 2007. Endocrinology of adipose tissue - an update. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme* 39, no. 5:314-321.
- Folgueira, M. A., et al. 2005. Gene expression profile associated with response to doxorubicin-based therapy in breast cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 11, no. 20:7434-7443.
- Fontana, L., et al. 2007. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes* 56, no. 4:1010-1013.
- Franks, P. W. 2006. Obesity, inflammatory markers and cardiovascular disease: distinguishing causality from confounding. *Journal of human hypertension* 20, no. 11:837-840.
- Friebe, D., et al. 2011. Leucocytes are a major source of circulating nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT)/pre-B cell colony (PBEF)/visfatin linking obesity and inflammation in humans. *Diabetologia* 54, no. 5:1200-1211.
- Fukuhara, A., et al. 2005. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science (New York, N.Y.)* 307, no. 5708:426-430.
- Galic, S., J. S. Oakhill, and G. R. Steinberg. 2010. Adipose tissue as an endocrine organ. *Molecular and cellular endocrinology* 316, no. 2:129-139.
- Garten, A., et al. 2009. Nampt: linking NAD biology, metabolism and cancer. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 20, no. 3:130-138.
- Geloën, A., P. E. Roy, and L. J. Bukowiecki. 1989. Regression of white adipose tissue in diabetic rats. *The American Journal of Physiology* 257, no. 4 Pt 1:E547-53.
- Gelsinger, C., A. Tschoner, S. Kaser, and C. F. Ebenbichler. 2010. Adipokine update - new molecules, new functions. *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)* 160, no. 15-16:377-390.
- Giralt, M., and F. Villarroya. 2013. White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions? *Endocrinology* 154, no. 9:2992-3000.

- Gunawardana, S. C., and D. W. Piston. 2012. Reversal of type 1 diabetes in mice by brown adipose tissue transplant. *Diabetes* 61, no. 3:674-682.
- Haider, D. G., et al. 2006. The adipokine visfatin is markedly elevated in obese children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 43, no. 4:548-549.
- Haider, D. G., et al. 2006. Exercise training lowers plasma visfatin concentrations in patients with type 1 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 91, no. 11:4702-4704.
- Haider, D. G., et al. 2006. The release of the adipocytokine visfatin is regulated by glucose and insulin. *Diabetologia* 49, no. 8:1909-1914.
- Haider, D. G., et al. 2006. Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 91, no. 4:1578-1581.
- Hara, N., et al. 2011. Nicotinamide phosphoribosyltransferase/visfatin does not catalyze nicotinamide mononucleotide formation in blood plasma. *PloS one* 6, no. 8:e22781.
- HERVEY, G. R. 1959. The effects of lesions in the hypothalamus in parabiotic rats. *The Journal of physiology* 145, no. 2:336-352.
- Hu, W., et al. 2013. Elevated plasma visfatin concentrations in patients with community-acquired pneumonia. *Peptides* 43, 8-12.
- Hufton, S. E., et al. 1999. A profile of differentially expressed genes in primary colorectal cancer using suppression subtractive hybridization. *FEBS letters* 463, no. 1-2:77-82.
- Imai, S. 2009. The NAD World: a new systemic regulatory network for metabolism and aging--Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance. *Cell biochemistry and biophysics* 53, no. 2:65-74.
- Imai, S. 2009. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt): a link between NAD biology, metabolism, and diseases. *Current pharmaceutical design* 15, no. 1:20-28.
- Imai, S., and J. Yoshino. 2013. The importance of NAMPT/NAD/SIRT1 in the systemic regulation of metabolism and ageing. *Diabetes, obesity & metabolism* 15 Suppl 3, 26-33.
- International Diabetes Federation. 2013. *IDF - Diabetes Atlas*. <http://www.idf.org/un-resolution-diabetes> ed. Vol. 6.
- Jia, S. H., et al. 2004. Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. *The Journal of clinical investigation* 113, no. 9:1318-1327.
- Jin, H., et al. 2008. Serum visfatin concentrations in obese adolescents and its correlation with age and high-density lipoprotein cholesterol. *Diabetes research and clinical practice* 79, no. 3:412-418.
- Kawasaki, E., N. Abiru, and K. Eguchi. 2004. Prevention of type 1 diabetes: from the view point of beta cell damage. *Diabetes research and clinical practice* 66 Suppl 1, S27-32.

- KENNEDY, G. C. 1953. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing papers of a Biological character. Royal Society (Great Britain)* 140, no. 901:578-596.
- Kim, M. K., et al. 2006. Crystal structure of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor 1/nicotinamide phosphoribosyltransferase, free and in complex with the anti-cancer agent FK-866. *Journal of Molecular Biology* 362, no. 1:66-77.
- Kim, S. R., et al. 2008. Visfatin enhances ICAM-1 and VCAM-1 expression through ROS-dependent NF-kappaB activation in endothelial cells. *Biochimica et biophysica acta* 1783, no. 5:886-895.
- Klinke, Rainer, Pape, Hans-Christian, and Silbernagl Stefan. 2005. Der Inselapparat des Pankreas: Insulin und Glucagon. In *Physiologie*, edited by Rainer Klinke, Hans-Christian Pape and Silbernagl Stefan. Stuttgart: Thieme.
- Koczan, D., et al. 2005. Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear leukocytes from psoriasis patients identifies new immune regulatory molecules. *European journal of dermatology : EJD* 15, no. 4:251-257.
- Korner, A., et al. 2007. Effects of genetic variation in the visfatin gene (PBEF1) on obesity, glucose metabolism, and blood pressure in children. *Metabolism: clinical and experimental* 56, no. 6:772-777.
- Korner, A., et al. 2007. Molecular characteristics of serum visfatin and differential detection by immunoassays. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 92, no. 12:4783-4791.
- Korner, A., et al. 2007. Molecular characteristics of serum visfatin and differential detection by immunoassays. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 92, no. 12:4783-4791.
- Kover, K., et al. 2013. Expression and regulation of nampt in human islets. *PloS one* 8, no. 3:e58767.
- Kralisch, S., et al. 2005. Hormonal regulation of the novel adipocytokine visfatin in 3T3-L1 adipocytes. *The Journal of endocrinology* 185, no. 3:R1-8.
- Krzystek-Korpacka, M., et al. 2011. Visfatin in juvenile obesity - the effect of obesity intervention and sex. *European journal of clinical investigation* 41, no. 12:1284-1291.
- Krzyzanowska, K., et al. 2006. Increased visfatin concentrations in women with gestational diabetes mellitus. *Clinical science (London, England : 1979)* 110, no. 5:605-609.
- Lange, I., et al. 2009. TRPM2 functions as a lysosomal Ca²⁺-release channel in beta cells. *Science signaling* 2, no. 71:ra23.
- Lee, K. A., and M. N. Gong. 2011. Pre-B-cell colony-enhancing factor and its clinical correlates with acute lung injury and sepsis. *Chest* 140, no. 2:382-390.
- Li, L., et al. 2006. Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association* 114, no. 10:544-548.

- Lim, S. Y., et al. 2008. The novel adipocytokine visfatin exerts direct cardioprotective effects. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 12, no. 4:1395-1403.
- Lopez-Bermejo, A., et al. 2006. Serum visfatin increases with progressive beta-cell deterioration. *Diabetes* 55, no. 10:2871-2875.
- Lüllmann-Rauch, Renate. 2012. 8.2. Fettgewebe. In *Histologie*. Stuttgart: Thieme-Verlag.
- Maeda, K., et al. 1997. Analysis of an expression profile of genes in the human adipose tissue. *Gene* 190, no. 2:227-235.
- Mariman, E. C., and P. Wang. 2010. Adipocyte extracellular matrix composition, dynamics and role in obesity. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 67, no. 8:1277-1292.
- Martin, P. R., R. J. Shea, and M. H. Mulks. 2001. Identification of a plasmid-encoded gene from *Haemophilus ducreyi* which confers NAD independence. *Journal of Bacteriology* 183, no. 4:1168-1174.
- Mazaherioun, M., et al. 2012. Elevated serum visfatin levels in patients with acute myocardial infarction. *Archives of Iranian medicine* 15, no. 11:688-692.
- Meier, F. M., et al. 2012. Visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor (PBEF), a proinflammatory and cell motility-changing factor in rheumatoid arthritis. *The Journal of biological chemistry* 287, no. 34:28378-28385.
- Moschen, A. R., et al. 2007. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 178, no. 3:1748-1758.
- Moynihan, K. A., et al. 2005. Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic beta cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell metabolism* 2, no. 2:105-117.
- Nakajima, T. E., et al. 2009. Adipocytokine levels in gastric cancer patients: resistin and visfatin as biomarkers of gastric cancer. *Journal of gastroenterology* 44, no. 7:685-690.
- Nusken, K. D., et al. 2007. Preanalytical influences on the measurement of visfatin by enzyme immuno assay. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 382, no. 1-2:154-156.
- Nusken, K. D., et al. 2009. Active visfatin is elevated in serum of maintenance haemodialysis patients and correlates inversely with circulating HDL cholesterol. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 24, no. 9:2832-2838.
- Ognjanovic, S., et al. 2001. Genomic organization of the gene coding for human pre-B-cell colony enhancing factor and expression in human fetal membranes. *Journal of Molecular Endocrinology* 26, no. 2:107-117.
- Ozkaya, M., et al. 2009. Visfatin plasma concentrations in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism before and after control of thyroid function. *Journal of endocrinological investigation* 32, no. 5:435-439.

- Pagano, C., et al. 2006. Reduced plasma visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obesity is not related to insulin resistance in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 91, no. 8:3165-3170.
- Park, J. W., et al. 2012. Rapid and sensitive detection of Nampt (PBEF/visfatin) in human serum using an ssDNA aptamer-based capacitive biosensor. *Biosensors & bioelectronics* 38, no. 1:233-238.
- Patel, S. T., et al. 2010. A novel role for the adipokine visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor 1 in prostate carcinogenesis. *Peptides* 31, no. 1:51-57.
- Pedersen, B. K. 2011. Muscles and their myokines. *The Journal of experimental biology* 214, no. Pt 2:337-346.
- Poulos, S. P., D. B. Hausman, and G. J. Hausman. 2010. The development and endocrine functions of adipose tissue. *Molecular and cellular endocrinology* 323, no. 1:20-34.
- Preyat, N., and O. Leo. 2013. Sirtuin deacylases: a molecular link between metabolism and immunity. *Journal of leukocyte biology* 93, no. 5:669-680.
- Pschyrembel online. Adipokine. [cited 08/2012 2012].
- Pschyrembel online. HbA1c. [cited 03/2014 2014].
- Reddy, P. S., et al. 2008. PBEF1/NAmPRTase/Visfatin: a potential malignant astrocytoma/glioblastoma serum marker with prognostic value. *Cancer biology & therapy* 7, no. 5:663-668.
- Revollo, J. R., A. A. Grimm, and S. Imai. 2007. The regulation of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis by Nampt/PBEF/visfatin in mammals. *Current opinion in gastroenterology* 23, no. 2:164-170.
- Revollo, J. R., A. A. Grimm, and S. Imai. 2004. The NAD biosynthesis pathway mediated by nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells. *The Journal of biological chemistry* 279, no. 49:50754-50763.
- Revollo, J. R., et al. 2007. Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell metabolism* 6, no. 5:363-375.
- Romacho, T., C. F. Sanchez-Ferrer, and C. Peiro. 2013. Visfatin/Nampt: an adipokine with cardiovascular impact. *Mediators of inflammation* 2013, 946427.
- Rongvaux, A., et al. 2002. Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *European journal of immunology* 32, no. 11:3225-3234.
- Ronti, T., G. Lupattelli, and E. Mannarino. 2006. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clinical endocrinology* 64, no. 4:355-365.
- Samal, B., et al. 1994. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Molecular and cellular biology* 14, no. 2:1431-1437.

- Samara, A., M. Pfister, B. Marie, and S. Visvikis-Siest. 2008. Visfatin, low-grade inflammation and body mass index (BMI). *Clinical endocrinology* 69, no. 4:568-574.
- Scherer, P. E. 2006. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes* 55, no. 6:1537-1545.
- Sezen, H., et al. 2012. Visfatin levels in Behcet's disease. *Inflammation* 35, no. 2:405-408.
- Siegenthaler, Walter, and Blum, Hubert E. 2006. Ernährung - Spezielle Pathophysiologie: Folgen von Überernährung. In *Klinische Pathophysiologie*, edited by Walter Siegenthaler and Hubert E. Blum. Stuttgart: Thieme.
- Siegenthaler, Walter, and Blum, Hubert E. 2006. Spezielle Pathophysiologie des arteriellen Systems - Atherosklerose. In *Klinische Pathophysiologie*, edited by Walter Siegenthaler and Hubert E. Blum. Stuttgart: Thieme.
- Siegenthaler, Walter, and Blum, Hubert E. 2006. Spezielle Pathophysiologie: Diabetes mellitus - Typ-1-Diabetes. In *Klinische Pathophysiologie*, edited by Walter Siegenthaler and Hubert E. Blum. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Smith, J., M. Al-Amri, A. Sniderman, and K. Cianflone. 2006. Visfatin concentration in Asian Indians is correlated with high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A1. *Clinical endocrinology* 65, no. 5:667-672.
- SNP Database.
SNP Database . [cited 07/2013 2013]. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>.
- Sonoli, S. S., et al. 2011. Visfatin--a review. *European review for medical and pharmacological sciences* 15, no. 1:9-14.
- Spinnler, R., et al. 2013. The adipocytokine Nampt and its product NMN have no effect on beta-cell survival but potentiate glucose stimulated insulin secretion. *PloS one* 8, no. 1:e54106.
- Stadler, M., et al. 2010. Adipokines in type 1 diabetes after successful pancreas transplantation: normal visfatin and retinol-binding-protein-4, but increased total adiponectin fasting concentrations. *Clinical endocrinology* 72, no. 6:763-769.
- Takahashi, Y., et al. 2004. Nicotinamide suppresses hyperphosphatemia in hemodialysis patients. *Kidney international* 65, no. 3:1099-1104.
- Togashi, K., et al. 2006. TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion. *The EMBO journal* 25, no. 9:1804-1815.
- Toruner, F., et al. 2009. Plasma visfatin concentrations in subjects with type 1 diabetes mellitus. *Hormone research* 72, no. 1:33-37.
- Trayhurn, P., and J. H. Beattie. 2001. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *The Proceedings of the Nutrition Society* 60, no. 3:329-339.
- van den Berg, Frans. 2001. Testverfahren am Bewegungsapparat. In *Angewandte Physiologie*, edited by Frans van den Berg. Stuttgart: Thieme.

- Vazquez-Vela, M. E., N. Torres, and A. R. Tovar. 2008. White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. *Archives of Medical Research* 39, no. 8:715-728.
- Visser, M., et al. 2001. Low-grade systemic inflammation in overweight children. *Pediatrics* 107, no. 1:E13.
- Wang, C., Y. Guan, and J. Yang. 2010. Cytokines in the Progression of Pancreatic beta-Cell Dysfunction. *International journal of endocrinology* 2010, 515136.
- Wang, P., et al. 2007. The circulating PBEF/NAMPT/visfatin level is associated with a beneficial blood lipid profile. *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 454, no. 6:971-976.
- Wang, P., P. M. Vanhoutte, and C. Y. Miao. 2012. Visfatin and cardio-cerebro-vascular disease. *Journal of cardiovascular pharmacology* 59, no. 1:1-9.
- Wang, P., et al. 2009. Perivascular adipose tissue-derived visfatin is a vascular smooth muscle cell growth factor: role of nicotinamide mononucleotide. *Cardiovascular research* 81, no. 2:370-380.
- Wang, T., et al. 2006. Structure of Nampt/PBEF/visfatin, a mammalian NAD⁺ biosynthetic enzyme. *Nature structural & molecular biology* 13, no. 7:661-662.
- WHO. WHO - Obesity and overweight. 2013 [cited 28.06.2013 2013]. Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
- Wozniak, S. E., L. L. Gee, M. S. Wachtel, and E. E. Frezza. 2009. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Digestive diseases and sciences* 54, no. 9:1847-1856.
- Wozniak, S. E., L. L. Gee, M. S. Wachtel, and E. E. Frezza. 2009. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Digestive diseases and sciences* 54, no. 9:1847-1856.
- Wu, J., P. Cohen, and B. M. Spiegelman. 2013. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes & development* 27, no. 3:234-250.
- Xie, H., et al. 2007. Insulin-like effects of visfatin on human osteoblasts. *Calcified tissue international* 80, no. 3:201-210.
- Yeung, W. C., et al. 2012. Children with islet autoimmunity and enterovirus infection demonstrate a distinct cytokine profile. *Diabetes* 61, no. 6:1500-1508.
- Ying, W. 2008. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxidants & redox signaling* 10, no. 2:179-206.
- Yu, J., and J. Auwerx. 2009. The role of sirtuins in the control of metabolic homeostasis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1173 Suppl 1, E10-9.
- Zhang, L. Q., et al. 2008. Interactions between PBEF and oxidative stress proteins--a potential new mechanism underlying PBEF in the pathogenesis of acute lung injury. *FEBS letters* 582, no. 13:1802-1808.
- Zhang, L. Q., D. P. Heruth, and S. Q. Ye. 2011. Nicotinamide Phosphoribosyltransferase in Human Diseases. *Journal of bioanalysis & biomedicine* 3, 13-25.

- Zhang, W., et al. 2010. Neuronal protective role of PBEF in a mouse model of cerebral ischemia. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 30, no. 12:1962-1971.
- Zhu, J., et al. 2008. Intensive glycemic control lowers plasma visfatin levels in patients with type 2 diabetes. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme* 40, no. 11:801-805.