

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV  
Klinik der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Martin Reincke

***Fibroblast Growth Factor 21 im Kontext von  
Glukosestoffwechsel und Metabolischem Syndrom in einer  
humanen Kohortenstudie***

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Anna Tina Joseph

aus

Wien

2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Andreas Lechner

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Susanna M. Hofmann  
Prof. Dr. Regina Ensenaer

Mitbetreuung durch die  
promovierte Mitarbeiterin: Dr. Christina Gar

Dekan: Prof. Dr. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 12.10.2023

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	4
1.1.	Typ 2 Diabetes: Pathogenese, Epidemiologie und Relevanz in der heutigen Zeit .....	4
1.2.	T2D: Lücken bei früher Prädiktion und pathophysiologischem Verständnis beim Menschen	5
1.3.	Gestationsdiabetes .....	5
1.4.	Ungenügende Risikoprädiktion von T2D nach GDM .....	6
1.5.	Fibroblast Growth Factor 21: Physiologische Grundlagen .....	6
1.6.	FGF-21 als möglicher Risikomarker für T2D, das Metabolische Syndrom und erhöhtes Leberfett beim Menschen .....	7
1.7.	Zielsetzung dieser Arbeit.....	8
2.	Methodik .....	9
2.1.	Rekrutierung .....	9
2.2.	Ablauf der Studien-Visite mit Biochemische Analysen .....	9
2.3.	Subkohorte mit MRT.....	11
2.4.	Berechnungen .....	11
2.5.	Statistik .....	12
3.	Ergebnisse.....	13
3.1.	FGF-21 und Glukosestoffwechsel.....	14
3.2.	FGF-21 und das Metabolische Syndrom .....	16
3.3.	FGF-21 und Leberfett.....	18
4.	Diskussion .....	19
4.1.	FGF-21 als Biomarker für Vorstufen des T2D .....	19
4.2.	FGF-21 im Rahmen des Metabolischen Syndroms.....	20
4.3.	FGF-21 als Biomarker für Leberfett .....	21
4.4.	Stärken und Schwächen der vorliegenden Arbeit.....	22
5.	Zusammenfassende Beurteilung und Ausblick .....	23
6.	Finanzierung.....	23
7.	Interessenskonflikt .....	23
8.	Abkürzungsverzeichnis.....	24
9.	Abbildungsverzeichnis .....	25
10.	Tabellenverzeichnis .....	25
11.	Referenzen .....	26
12.	Danksagung .....	31
13.	Affidavit .....	32

## 1. Einleitung

### 1.1. Typ 2 Diabetes: Pathogenese, Epidemiologie und Relevanz in der heutigen Zeit

Diabetes mellitus ist eine chronische metabolische Erkrankung, die durch eine Hyperglykämie gekennzeichnet ist. Sie umfasst verschiedene Formen, wobei der Diabetes mellitus Typ 2 (T2D) die häufigste Form darstellt: im Jahr 2015 wurde die Anzahl der Diabetiker auf 415 Millionen geschätzt, darunter 90% mit T2D (1).

Risikofaktoren für T2D sind unter anderem eine positive Familienanamnese, kardiovaskuläre Erkrankungen, arterielle Hypertonie, geringes HDL-Cholesterin, erhöhte Triglyzeride und erhöhtes ektopes Leberfett (2, 3). Letztere sind ebenfalls Kennzeichen des Metabolischen Syndroms, einer pathologischen Kombination aus Insulinresistenz, Hyperlipidämie, Hypertonie und abdomineller Adipositas (4). Der globale Anstieg von Übergewicht, körperlicher Inaktivität und hochkalorischer Nahrung tragen dazu bei, dass die Prävalenz des Metabolischen Syndroms steigt (5) und sich die Anzahl der Patienten mit T2D in den letzten drei Jahrzehnten weltweit verdoppelt hat (6, 7). Auch bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen werden immer häufiger T2D und Prädiabetes festgestellt (6).

T2D stellt nicht nur eine gesundheitliche, sondern auch eine wirtschaftliche Belastung für die gesamte Gesellschaft dar. Die Erkrankung bedingt hohe Kosten für Medikamente, medizinische Betreuung und die Behandlung von Komplikationen (8). Im Jahr 2014 betrugen die globalen Gesundheitskosten bedingt durch Diabetes zwischen 612-1099 Milliarden USD (8). Die zusätzliche, indirekte ökonomische Belastung ergibt sich durch eine verminderte Anzahl an Arbeitskräften, krankheitsbedingten Fehltagen und reduzierter Produktivität (9).

Neben einer verkürzten Lebenserwartung schränkt T2D die Lebensqualität der betroffenen Personen ein, da die bei T2D bestehende Hyperglykämie auf Dauer zu mikro- und makrovaskulären Schäden führt (10). Zu den mikrovaskulären Folgen zählen Niereninsuffizienz, Retinopathie und Amputationen (11). Herzinfarkte und Schlaganfälle bilden die Folgen der makrovaskulären Schäden ab (11). Diese Sekundärkomplikationen führen zu starken Einschränkungen im Alltag, senken die Lebensqualität und reduzieren die Lebenserwartung (12-15).

## 1.2. T2D: Lücken bei früher Prädiktion und pathophysiologischem Verständnis beim Menschen

T2D ist eine Erkrankung mit schleichender Pathogenese und bleibt daher lange unerkannt (16). Nach der Manifestation der Krankheit erreichen aber nur wenige Patienten eine Remission (17). Zudem ist die nachfolgende Therapie des T2D herausfordernd und komplex. Arzneimittel gegen die Hyperglykämie führen zu unerwünschten Nebenwirkungen wie einer weiteren Gewichtszunahme (18, 19) oder Hypoglykämien (20), welche die Mortalitätsrate zusätzlich ansteigen lassen (21). Eine frühzeitige Erkennung von Vorstufen des T2D, wie Prädiabetes oder einer bestehenden Insulinresistenz, sowie erhöhtem T2D-Risiko ermöglicht eine rechtzeitige Intervention. Dadurch können die Manifestation, die Progression und die Komplikationen von T2D reduziert werden (22). Hierfür fehlen jedoch nach wie vor optimale Biomarker und Messmethoden, insbesondere auch für Menschen mit nur geringem Übergewicht (23, 24). Ein oraler Glukosetoleranztest (oGTT) stellt die aktuell beste Möglichkeit dar, um Vorstufen des T2D zu erkennen. Hierbei ist insbesondere der Plasmaglukosewert 1 Stunde nach Einnahme der Glukose aussagekräftig bezüglich des zukünftigen Risikos eines T2D (25). Ein oGTT ist jedoch personal- und zeitintensiv, so dass er im Versorgungsalltag selten angewandt wird.

Neben ungenügenden Möglichkeiten zur frühen Risikovorhersage besteht als zweites Problem, dass das pathophysiologische Verständnis des T2D beim Menschen immer noch ungenügend ist. Der wesentliche Grund hierfür ist, dass sich Daten aus Tiermodellen nur eingeschränkt übertragen lassen und Humanstudien oft noch fehlen.

## 1.3. Gestationsdiabetes

Eine spezielle Form des Diabetes mellitus ist der Gestationsdiabetes (GDM). GDM ist eine Störung des Glukosestoffwechsels, die erstmalig während der Schwangerschaft auftritt (26). Sie betrifft ca. 5-10% der Schwangeren (27). Dabei kommt es zu vermehrten Risiken für Mutter und Kind. Unter anderem weisen beide ein erhöhtes Risiko für die spätere Entwicklung von T2D auf (28). Eine populationsbasierte Studie von Feig et al. konnte zeigen, dass die Rate, nach einem GDM T2D zu entwickeln, nach 9 Jahren ca. 20% beträgt (27). Damit stellen Frauen nach GDM eine Hochrisikogruppe für die spätere Entwicklung eines T2D dar.

## 1.4. Ungenügende Risikoprädiktion von T2D nach GDM

Die bisherige Risikoprädiktion von T2D nach GDM erfolgt vorrangig durch einen oGTT im ersten Jahr postpartum. Dieser ist jedoch, wie bereits beschrieben zeit-, kosten- und personalaufwendig. Er wird außerdem nur von einem geringen Teil der Frauen wahrgenommen (29). Als Alternative steht der HbA1c-Wert (Hämoglobin A1c, glykiertes Hämoglobin) zur Verfügung. Dieser erfasst jedoch nicht zuverlässig alle Fälle isolierter Glukosetoleranzstörungen (30). Vor allem mildere Glukosetoleranzstörungen bei Prädiabetes werden übersehen (31). Um eine frühe Diagnosestellung und damit eine frühe Intervention zu ermöglichen, wäre eine verbesserte zeit- und kostengünstige Risikoprädiktion wünschenswert. Dazu eignen sich Parameter, die einmalig (ggf. nüchtern) bestimmt werden.

## 1.5. Fibroblast Growth Factor 21: Physiologische Grundlagen

Fibroblast Growth Factor 21 (FGF-21) ist ein Hormon, das vorrangig von der Leber produziert wird und im Tiermodell positive Effekte auf den Glukose- und Lipidstoffwechsel aufweist (32). In zahlreichen Tierstudien konnte bereits gezeigt werden, dass FGF-21 den Glukose- und Triglyzeridspiegel senkt (32). FGF-21 fördert die Glukoseabsorption und senkt die Glukoneogenese in der Leber (33). Eine therapeutische Administration von FGF-21 reduzierte in einer Studie an Mäusen die Glukose- und Triglyzeridwerte (34). Somit könnte es vor Übergewicht und den damit assoziierten Erkrankungen wie Diabetes mellitus schützen (32).

Im Jahr 2000 wurde FGF-21 erstmals beschrieben (35). Innerhalb der FGF-Familie reichen die Mitglieder von FGF-1 bis FGF-23. Sie werden in drei Gruppen unterteilt: die erste Gruppe, welche FGF-11 bis FGF-14 beinhaltet, wirkt intrazellulär. FGF-19, FGF-21 und FGF-23 wirken systemisch. Andere Vertreter der FGF-Familie wirken autokrin bzw. parakrin (36).

In der Maus erfolgt die FGF-21-Produktion in Leber, Thymus, Pankreas, Gastrointestinaltrakt, Skelettmuskel, in spezifischen Regionen des Gehirns, in weißem Fettgewebe und braunen Fettgewebe (35, 37, 38). Beim Menschen hingegen findet dies vorrangig in der Leber, und nur teilweise im Gehirn und im Pankreas statt (38, 39).

FGF-21 bindet an den FGF-Rezeptor (FGFR), welcher ein Tyrosinkinase-Rezeptor ist (40). In Säugetieren wurden bisher sieben FGFR-Isoformen (1b, 1c, 2b, 2c, 3b, 3c, 4) identifiziert (40). Dabei wurde eine Bindungspräferenz von FGF-21 gegenüber FGFR1c und FGFR3c festgestellt (41, 42).

Damit FGF-21 binden kann, benötigt er außerdem seinen Kofaktor beta-Klotho (KLB) (43). Die Expression von KLB ist auf bestimmtes Gewebe begrenzt. In der Maus wird KLB in der Leber, dem

Pankreas und dem Fettgewebe exprimiert (38, 44). Im Menschen ist KLB vor allem in Leber und Fettgewebe, aber auch in der Brust und im Knochenmark vorzufinden (44). FGFR1 und FGFR3 sind sowohl im Menschen als auch in der Maus nahezu ubiquitär exprimiert (32). Daher ist die Bindung von FGF-21 hauptsächlich von der Gewebeexpression des KLBs und nicht von der Expression des Rezeptors abhängig.

Die Produktionsorte sowohl von FGF-21 als auch von KLB unterscheiden sich zwischen Maus und Mensch. Humanes FGF-21 ist nur zu 79% ident mit dem der Mäuse (35). Dies führt zu physiologischen Unterschieden zwischen Maus und Mensch. Daher ist zu prüfen, ob die oben angeführten Ergebnisse aus Tierstudien auf den Menschen übertragbar sind.

### 1.6. FGF-21 als möglicher Risikomarker für T2D, das Metabolische Syndrom und erhöhtes Leberfett beim Menschen

Wie beschrieben, zeigt Fibroblast-growth-factor-21 in Tiermodell positive Effekte auf den Glukose- und Lipidstoffwechsel (32). Jedoch weisen gerade Personen mit Hyperglykämie und Hypertriglyzeridämie hohe FGF-21 Spiegel auf (45-48). Dieser Zustand wird einer „FGF-21 Resistenz“ zugeschrieben (49, 50). Eine Resistenz gegenüber FGF-21 erklärt auch, warum selbst in Tierstudien, trotz der metabolisch günstigen Effekte von FGF-21, ein positiver Zusammenhang zwischen hohen FGF-21-Spiegeln im Blut und Krankheitsbildern wie T2D und dem Metabolischen Syndrom besteht (32, 51, 52). Ob FGF-21 beim Menschen als Biomarker für das Metabolische Syndrom im Allgemeinen oder auch für eine isolierte Hyperglykämie im Speziellen dienen kann, bleibt bisher unklar.

Für den Menschen konnte ferner gezeigt werden, dass FGF-21 im Blut positiv mit dem Leberfettgehalt korreliert (53, 54). Im Rahmen des Metabolischen Syndroms findet man vermehrt ektope Fettablagerungen, darunter auch Fettablagerungen in der Leber (55). Diese wiederum sind ein eigenständiger Risikofaktor für die Entwicklung von T2D (3).

Zur Risikobestimmung ist die Messung des Leberfetts im klinischen Alltag jedoch unpraktikabel. Die Sonografie ist zwar eine schnelle, nicht-invasive und kostengünstige Untersuchungsmethode, aber relevante Hinweise auf erhöhtes Leberfett können erst im fortgeschrittenen Stadium festgestellt werden (56). Auch die Computertomographie (CT) ist aufgrund der Strahlenbelastung und der schlechten Detektion von milder Steatosis ungünstig (57). Die Leberbiopsie hingegen kann exaktere Werte liefern (58), was jedoch stark abhängig von der Entnahmestelle ist (59). Zudem ist sie invasiv und kann schwere Komplikationen nach sich ziehen (60). Eine Magnetresonanztomographie (MRT) stellt als nicht-invasive und sensitive Methode den Goldstandard dar (61). Dennoch ist sie zeitaufwendig, kostspielig und benötigt speziell geschultes Personal. In der Praxis wäre ein kosten- und

zeitsparender Biomarker für Leberfett wünschenswert, um eine frühzeitige Diagnose stellen zu können und dementsprechend das Auftreten von Komplikationen und Komorbiditäten zu verhindern.

Unklar bleibt, in welchem Ausmaß FGF-21 von den einzelnen Komponenten des Metabolischen Syndroms beeinflusst wird. Ob FGF-21 als Biomarker für Hyperglykämie dienen kann oder ob es lediglich das Ausmaß des Metabolischen Syndroms widerspiegelt, ist noch abzuklären.

### 1.7. Zielsetzung dieser Arbeit

Wie bereits dargelegt, besteht bezüglich der frühen Risikoprädiktion von T2D und des pathophysiologischen Verständnisses der Erkrankung beim Menschen noch Forschungs- und Entwicklungsbedarf. FGF-21 ist in diesem Zusammenhang ein vielversprechendes Hormon, welches beim Menschen jedoch noch nicht ausreichend untersucht ist. In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb FGF-21 als möglicher Biomarker für Vorstufen von T2D (eingeschränkte Glukosetoleranz, Insulinresistenz und Betazell dysfunction) untersucht werden. Zudem sollte geklärt werden, in welchem pathophysiologischen Kontext erhöhte Spiegel des Hormons beim Menschen auftreten. Hierbei lag der Fokus auf den einzelnen Komponenten des Metabolischen Syndroms und auf der ektopen Fetteinlagerung in der Leber.

Die Analysen wurden anhand einer ausführlich phänotypisierten Kohorte junger Frauen durchgeführt, die teilweise eine Vorgeschichte eines GDM hatten. So wurde das Potential des GDM genutzt, um einen zukünftigen T2D früh vorherzusagen. Teilnehmerinnen mit hohem T2D-Risiko und Vorstufen dieser Erkrankung wurden so innerhalb der Studienkohorte angereichert.

Die spezifischen Fragestellungen dieser Arbeit waren:

1. Korreliert der nüchtern gemessene Serumspiegel von FGF-21 mit wesentlichen Kenngrößen des Glukosestoffwechsels, dem 1-Stunden Glukosewert im oGTT, dem Insulinsensitivitätsindex oder dem Disposition Index? Kann die Messung von FGF-21 somit genutzt werden, um die Diagnose von Vorstufen des T2D zu vereinfachen?
2. Korreliert der nüchtern gemessene Serumspiegel von FGF-21 mit den einzelnen Komponenten des Metabolischen Syndroms (Taillenumfang, Triglyceride, HDL-Cholesterin, Insulinempfindlichkeit und Blutdruck) und lassen sich dadurch Erkenntnisse für die pathophysiologische Einordnung des Hormons gewinnen?
3. Korreliert der nüchtern gemessene Serumspiegel von FGF-21 mit dem Leberfettgehalt, wie dies in früheren Publikationen beschrieben wurde?

## 2. Methodik

### 2.1. Rekrutierung

Im Rahmen der prospektiven Beobachtungsstudie „*Prädiktion, Prävention und Subklassifikation von Typ 2 Diabetes mellitus*“ (PPSDiab) wurden in den Jahren 2011-2016 304 Frauen nach einer vorangegangenen Schwangerschaft mit und ohne GDM eingeschlossen. Das Verhältnis zwischen Frauen mit und ohne GDM betrug 2:1.

Rekrutiert wurden die Probandinnen aus der Diabetologie der *Medizinischen Klinik und Poliklinik IV* und der *Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe* der Universität München. Teilnehmende Probandinnen waren prämenopausal. Die Einschlussvisite fand 3-16 Monate postpartal statt. Eingeschlossen wurden Frauen nach einer Lebendgeburt (Einling (n=295) oder Zwillinge (n=9)).

Die Diagnose eines GDM wurde basierend auf einem oGTT nach der 23. Gestationswoche gestellt. Die Grenzwerte richteten sich nach der Empfehlung der International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) und betrugen 92 mg/dl (nüchtern), 180 mg/dl (1h) und 153 mg/dl (2h) Plasmaglukose (62).

Ausschlusskriterien waren Alkohol- oder Drogenabusus, bestehender Diabetes bereits vor der Schwangerschaft und chronische Erkrankungen, welche eine kontinuierliche Medikation notwendig machten. Eine Ausnahme hiervon waren Hypothyreose (n=52), Asthma bronchiale (n=8), milde Hypertension (n=4), gastroösophagealer Reflux (n=2) und die prophylaktische Einnahme von Rivaroxaban nach Lungenembolie (n=1).

Eine schriftliche Einverständniserklärung liegt von allen Probandinnen vor. Das Protokoll wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität genehmigt (Studien-ID 300-11).

### 2.2. Ablauf der Studien-Visite mit Biochemische Analysen

Für die vorliegende Arbeit wurden ausschließlich Daten der Baseline-Visite der PPSDiab-Studie verwendet. Im Rahmen dieser Visite wurde bei allen Probandinnen nach nächtlichem Fasten Blut abgenommen. Dabei wurden, unter anderem, Serum HDL-Cholesterin (enzymatisch, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland), und Serum Triglyzeride (enzymatisch, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) bestimmt. Plasma Glukose (Natrium-Fluorid-Plasma; Hexokinase-Methode; Glucose HK Gen.3, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland), HbA1c (EDTA-Plasma; VARIANT™ II TURBO HbA1c Kit - 2.0, Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) und Serum Insulin (CLIA, DiaSorin LIAISON systems, Saluggia, Italien) wurden ebenfalls im Labor des Universitätsklinikums gemessen. Für die

spätere Messung von FGF-21 wurden Serumproben nach einer Gerinnungsdauer von 30 Minuten zentrifugiert (Zentrifugation für 10 min, 2000 rcf, Raumtemperatur), aliquotiert, auf Trockeneis eingefroren und bis zur Analyse bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert. FGF-21 wurde mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (quantitative human sandwich FGF-21 ELISA; R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA) aus Nüchternserum gemäß Herstellangaben bestimmt.

Im Anschluss an die Nüchternblutentnahme erfolgte ein 5-Punkt-oGTT (75g Glukose), mit Bestimmung von Plasma-Glukose und Serum-Insulin bei 0 (entspricht der Nüchternblutentnahme), 30, 60, 90 und 120 Minuten.

Von allen Teilnehmern wurde ein systolischer und diastolischer Blutdruck (BP) bestimmt. Dies erfolgte in sitzender Position. Der Blutdruck wurde zunächst an beiden Armen bestimmt. Auf der Seite mit dem höheren systolischen Wert wurde nach mindestens 15 Minuten erneut gemessen und der Mittelwert aus den beiden Werten des höheren Arms für die Analysen verwendet.

Anthropometrische Parameter wie Taillenumfang (waist circumference, WC), Körpergewicht und Größe wurden bestimmt. Der WC wurde an der stehenden Probandin in Unterwäsche in der Mitte zwischen Beckenkamm und Rippenbogen gemessen. Dies entsprach der tiefsten Stelle an den Flanken bei normaler Atmung. Mittels Bioimpedanzanalyse (Tanita BC-418; Tanita Corporation, Tokyo, Japan) wurde das Körpergewicht und der Körperfettanteil erhoben. Dabei hatten die Probandinnen kurz zuvor ihre Harnblase entleert. Die Körpergröße wurde ohne Schuhe mittels visueller Skala bestimmt. Der body mass index (BMI) wurde anschließend berechnet aus Körpergewicht (kg) durch das Quadrat der Körpergröße ( $\text{m}^2$ ).

Das Vorhandensein des Metabolischen Syndroms wurde anhand der NCEP ATP-III-Kriterien definiert (4). Demnach sind die Kriterien bei Frauen ein Taillenumfang  $\geq 88$  cm, Nüchterntriglyzeride  $\geq 150$  mg/dl, HDL-Cholesterin  $< 50$  mg/dl, Blutdruck  $\geq 130/85$  mmHg und Nüchternglukose  $\geq 100$  mg/dl. Aus der Summe der Anzahl der erfüllten Kriterien wurde der Score für das Metabolische Syndrom errechnet. Ab einem Score von 3 wird von einem Metabolischen Syndrom ausgegangen.

### 2.3. Subkohorte mit MRT

Zusätzlich zu den genannten Untersuchungen wurde, auf freiwilliger Basis, bei 157 der Teilnehmerinnen eine Ganzkörper-Magnetresonanztomografie (MRT; 3-T System, Ingenia bzw. Achieva; Philips Healthcare, Hamburg, Deutschland) durchgeführt. Die Teilnehmerinnen wurden gebeten, drei Tage vor der MRT-Untersuchung ausgeprägte körperliche Aktivitäten zu unterlassen und in den Stunden vor der Untersuchung keine schwere Mahlzeit zu sich zu nehmen. Die MRT-Untersuchung erfolgte zur Bestimmung von Körperfettverteilung und ektopen Fetteinlagerungen in Leber, Pankreas und Skelettmuskulatur. Das Leberfett wurde durch eine modifizierte 2-Punkt-Dixon-Sequenz bestimmt (63).

### 2.4. Berechnungen

Für die Anwendung der statistischen Auswertungen wurden folgende Berechnungen durchgeführt (64):

$$\text{Insulinsensitivitätsindex (ISI)} = \frac{10\,000}{\sqrt{y}}$$

$$y = \frac{(\text{Glukose } 0' \times \text{Insulin } 0') \times (\text{Glukose } 0' + 2 \times (\text{Glukose } 30' + 60' + 90') + \text{Glukose } 120')}{8} \times \frac{(\text{Insulin } 0' + 2 \times (\text{Insulin } 30' + 60' + 90') + \text{Insulin } 120')}{8}$$

Insulinrelease innerhalb von 30min (IR30)

$$\text{IR30} = \text{Insulin (30min)} - \text{Insulin (0min)}$$

Disposition Index (di) [Maß für eine adäquate Betazellfunktion; erniedrigt bei Betazelldysfunktion]

$$di = \text{ISI} \times \text{IR30}$$

Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD)

$$\text{MAD} = \frac{2 \times \text{diastolischer Blutdruck} + \text{systolischer Blutdruck}}{3}$$

## 2.5. Statistik

Normalverteilte Parameter werden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung, nicht normalverteilte Parameter als Median (25. (Q1) - 75. (Q3) Perzentile) und Häufigkeiten als absolute Werte (Anteil in Prozent) angegeben. P-Werte unter 0.05 wurden als statistisch signifikant gewertet. Korrelationen wurden nicht-parametrisch nach Spearman berechnet (Korrelationskoeffizient  $\rho$ ). Für lineare Regressionsanalysen mit FGF-21 als abhängiger Variable wurde FGF-21 logarithmiert.

Alle statistischen Analysen wurden mit SAS (Version 9.4; SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) durchgeführt.

### 3. Ergebnisse

Ausgehend von den 304 ursprünglichen Studienteilnehmerinnen wurden 6 Frauen für diese Analyse ausgeschlossen, 2 wegen der Diagnose eines Typ 1 Diabetes, 2 wegen manifester Hyperthyreose, 1 wegen eines fieberhaften Infekts zum Visitenzeitpunkt und 1 aufgrund fehlender Serumprobe zur Bestimmung von FGF-21. Somit ergab sich eine Kohorte von 298 Teilnehmerinnen. Hiervon wurden 196 Frauen in der vorausgegangenen Schwangerschaft mit GDM diagnostiziert und 102 wurden als Kontrollen nach normoglykämischer Schwangerschaft eingeschlossen. Aus der Gesamtkohorte hat ein Teil der Frauen (n=157) auf freiwilliger Basis an einer zusätzlichen MRT-Untersuchung teilgenommen. Diese MRT-Subkohorte wurde zusätzlich ausgewertet.

**Tabelle 1** zeigt die Charakteristika der Gesamt- und der MRT-Subkohorte. Beide Kohorten unterschieden sich nicht in ihren Charakteristika.

*Tabelle 1: Charakteristika der Gesamt- und MRT-Subkohorte*

Parameter		Gesamt-Kohorte	MRT-Subkohorte
<b>Anzahl</b>		<b>298</b>	<b>157</b>
<b>FGF-21 [pg/ml]</b>		220.41 (136.86-349.82)	236.46 (144.95-392.42)
<b>Alter [a]</b>		35.47±4.40	35.52±4.14
<b>Fall-Kontroll-Status</b>	<b>GDM</b>	196 (65.8%)	100 (63.7%)
	<b>normoglykämische Schwangerschaft</b>	102 (34.2%)	57 (36.3%)
<b>Stillstatus</b>	<b>fehlend</b>	4 (1.3%)	2 (1.3%)
	<b>voll stillend</b>	5 (1.7%)	1 (0.6%)
	<b>zufütternd</b>	21 (7.0%)	6 (3.8%)
	<b>abgestillt</b>	268 (89.9%)	148 (94.3%)
<b>Zeit nach Entbindung [m]</b>		9.34±2.82	9.48±2.77
<b>ISI</b>		5.29 (3.44-7.53) <b>(n=297)</b>	5.29 (3.45-7.76)
<b>di</b>		236.61 (162.88-324.01) <b>(n=297)</b>	219.96 (156.43-320.86)
<b>Metabolisches Syndrom SCORE (n=292)</b>	<b>0</b>	162 (55.48)	
	<b>1</b>	74 (25.34)	
	<b>2</b>	33 (11.30)	
	<b>3</b>	17 (5.82)	
	<b>4</b>	6 (2.05)	
<b>WC [cm]</b>		81.32±11.54 <b>(n=292)</b>	80.78±10,71 (n=155)
<b>Triglyzeride [mg/dl]</b>		67.50 (53.75-92.00)	68.00 (53.00-94.00)
<b>sys BP [mmHg]</b>		117.46±11.69 <b>(n=297)</b>	115.84±10.74
<b>dia BP [mmHg]</b>		73.78±9.30 <b>(n=297)</b>	72.73±9.31
<b>HDL-Cholesterin [mg/dl]</b>		62.86±14.82	62.32 ±15.37
<b>PZ Omin [mg/dl]</b>		92.83±9.05	93.04 ±8.32

<b>PZ 60min [mg/dl]</b>	140.44±38.72 (n=292)	142.66±38.95
<b>Leberfett [%]</b>		0.45 (0.00-1.39)
FGF-21=Fibroblast Growth Factor 21; GDM=Gestationsdiabetes; ISI=Insulinsensitivitätsindex; di=Disposition Index; WC=Taillenumfang; sys BP= systolischer Blutdruck; dia BP=diastolischer Blutdruck; PZ 0min=nüchtern-Glukose; PZ 60min=1h-Glukose		

### 3.1. FGF-21 und Glukosestoffwechsel

Im ersten Teil wurde FGF-21 (n= 298) als Marker für einen gestörten Glukosemetabolismus untersucht. Hierfür wurden der 1h-Glukosewert aus dem oGTT (PZ 60min, n=298), der Insulinsensitivitätsindex (ISI, n=297) und der Disposition Index (di, n=297) als wesentliche Kenngrößen gewählt. Durch die Korrelationsanalyse mittels Spearman wurde eine signifikante Korrelation zwischen FGF-21 und dem 1h-Glukosewert festgestellt ( $\rho=0.157$ ; p-Wert=0.0065). Für den ISI ( $\rho=-0.112$ ; p-Wert=0.0541) und den di ( $\rho=-0.051$ ; p-Wert=0.3807) ergab die Analyse keinen signifikanten Zusammenhang (**Abbildung 1**).

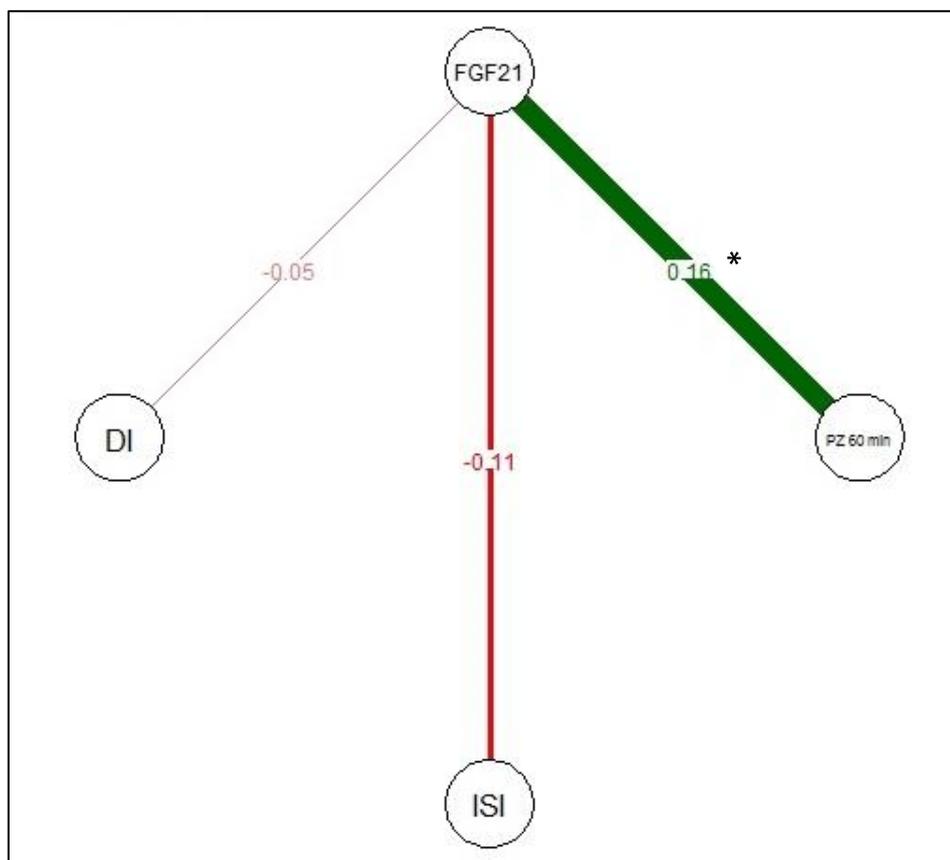


Abbildung 1: Korrelation von FGF-21 mit 1h-Glukose, ISI und di (\*signifikante Korrelation);  
di=Disposition Index; ISI= Insulinsensitivitätsindex; PZ 60 min=1h-Glukosewert

In einer anschließenden linearen Regression mit dem 1h-Glukosewert als abhängiger und FGF-21 als unabhängiger Variable wurde zudem für das Alter, die Zeit nach Entbindung und den Taillenumfang adjustiert. Es blieb ein zwar schwacher, aber signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem FGF-21 Spiegel und dem 1h-Glukosewert bestehen (p-Wert= 0.0008; adj.  $\beta$ =0.191; **Tabelle 2**).

*Tabelle 2: Multivariate Lineare Regression: 1h-Glukosewert als abhängige Variable, FGF-21 und Taillenumfang als unabhängige Variablen. Modell zusätzlich adjustiert für Alter und Zeit nach Entbindung.*

Variable (n=292)	p-Wert	adj. $\beta$	adj. R <sup>2</sup>
<b>FGF-21</b>	0.0008	0.191	0.1186
<b>WC</b>	<0.0001	0.236	
FGF-21=Fibroblast Growth Factor; WC=Taillenumfang			

### 3.2. FGF-21 und das Metabolische Syndrom

In der zweiten Fragestellung wurde der Zusammenhang von FGF-21 und den einzelnen Komponenten des Metabolischen Syndroms untersucht. **Abbildung 2** zeigt die entsprechenden Spearman-Korrelationen. FGF-21 korrelierte mit dem Taillenumfang ( $\rho=0.125$ ; p-Wert=0.0323), den Triglyzeriden ( $\rho=0.162$ ; p-Wert=0.0051) und der nüchtern gemessenen Plasmaglukose ( $\rho=0.129$ ; p-Wert=0.0254). Der Blutdruck (systolisch:  $\rho=0.065$ ; p-Wert=0.2664; diastolisch:  $\rho=0.047$ ; p-Wert=0.4240) und das HDL-Cholesterin ( $\rho=-0.113$ ; p-Wert=0.0524) zeigten keine signifikante Korrelation zu FGF-21.

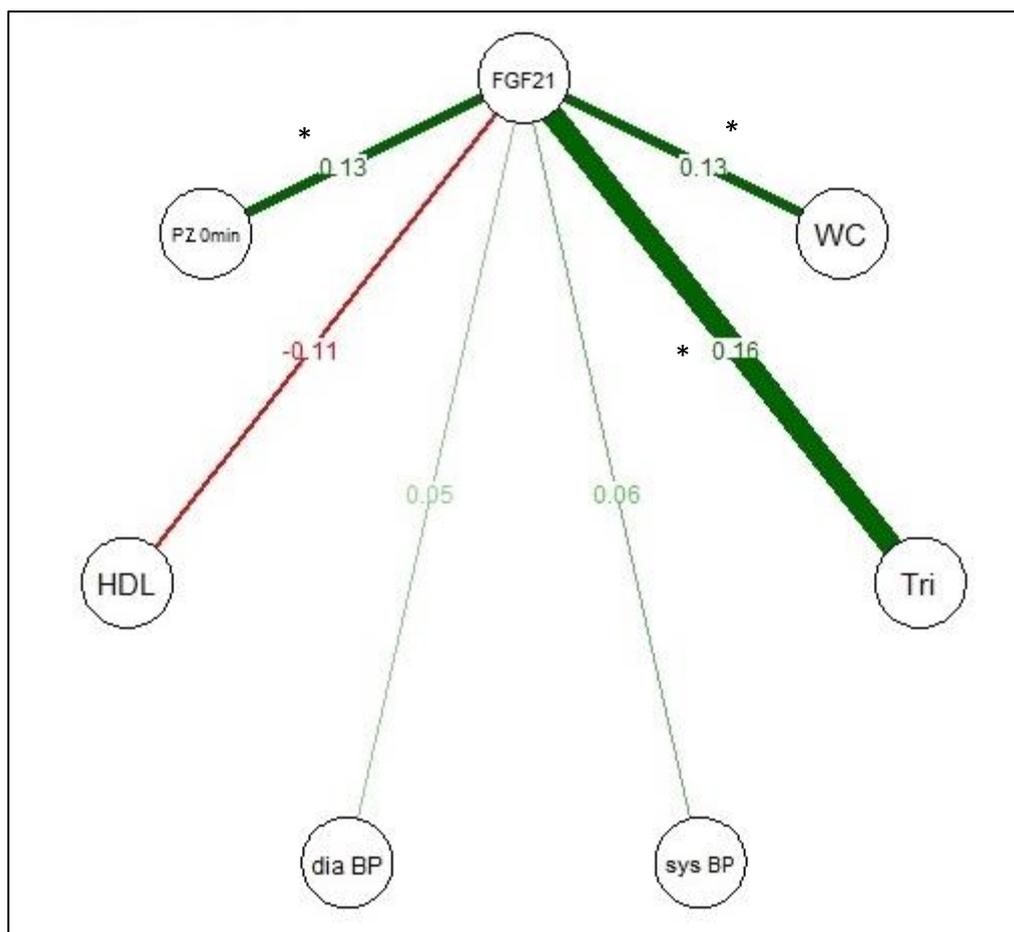


Abbildung 2: Spearman-Korrelation zwischen FGF-21 und PZ 0min, HDL, dia BP, sys BP, Tri und WC; signifikante Korrelationen mit Sternchen (\*) markiert; PZ 0min=nüchtern-Glukose; HDL= HDL-Cholesterin; dia BP=diastolischer Blutdruck; sys BP= systolischer Blutdruck; Tri=Triglyzeride; WC=Taillenumfang

Die Ergebnisse linearer Regressionen bestätigen den Zusammenhang zwischen FGF-21 und dem Taillenumfang, den Triglyzeriden und der Nüchternglukose (**Tabelle 3**). Im gemeinsamen Modell aller

Komponenten war lediglich der Zusammenhang zwischen FGF-21 und der Nüchtern glukose nicht mehr signifikant. Die anderen beiden signifikanten Beziehungen blieben erhalten.

*Tabelle 3: Lineare Regressionsmodelle mit FGF-21(logarithmiert) als abhängiger Variable und den einzelnen Komponenten des Metabolischen Syndroms als unabhängigen Variablen. Alle Modelle adjustiert für Alter und Zeit nach Entbindung; im letzten Modell alle Komponenten des Metabolischen Syndroms gemeinsam eingebracht.*

Unabhängige Variable	p-Wert	adj. $\beta$	adj. $R^2$
<b>WC (n=292)</b>			
	0.0008	0.196	0.0350
<b>Triglyzeride (n=298)</b>			
	0.0005	0.200	0.0368
<b>mittlerer BP (n=297)</b>			
	0.1637	0.081	0.0032
<b>HDL-Cholesterin (n=298)</b>			
	0.1228	-0.090	0.0047
<b>PZ 0min (n=298)</b>			
	0.0193	0.135	0.0150
<b>WC +Triglyzeride +mittlerer BP +HDL-Cholesterin +PZ 0min (n=292)</b>			
<b>WC</b>	0.0202	0.172	0.0517
<b>Triglyzeride</b>	0.0150	0.161	
<b>mittlerer BP</b>	0.2353	-0.081	
<b>HDL-Cholesterin</b>	0.4057	0.054	
<b>PZ 0min</b>	0.1691	0.083	
WC=Taillenumfang; mittlerer BP= mittlerer arterieller Blutdruck; PZ 0min=nüchtern-Glukose			

### 3.3. FGF-21 und Leberfett

Zuletzt wurde FGF-21 als potentieller Marker für den Leberfettgehalt untersucht. Für diesen Abschnitt wurden Daten aus der MRT-Subkohorte verwendet.

In der gesamten Subkohorte zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen FGF-21 und dem Leberfettgehalt ( $\rho=0.004$ ;  $p\text{-Wert}=0.9613$ ). Darauffolgend wurde die Kohorte anhand des Leberfettgehalts in zwei Untergruppen unterteilt, davon wiesen 142 Probandinnen weniger als 5% und 15 Probandinnen  $\geq 5\%$  Leberfettgehalt auf. 5% Leberfettgehalt ist der üblicherweise angesetzte Grenzwert für ein erhöhtes metabolisches Risiko (65). In der Kategorie mit  $\geq 5\%$  Leberfett zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen Leberfettgehalt und FGF-21 ( $\rho=0.654$ ;  $p\text{-Wert}=0.0082$ ). In der Gruppe  $< 5\%$  Leberfett war dies nicht nachweisbar ( $\rho=-0.037$ ;  $p\text{-Wert}=0.6638$ ).

In allen Probandinnen zeigte eine Lineare Regression mit Leberfett (logarithmiert) als abhängiger Variable und FGF-21 sowie Taillenumfang als unabhängige Variablen einen signifikanten Zusammenhang zwischen Leberfett und dem Taillenumfang ( $p\text{-Wert}<0.0001$ ;  $\text{adj. } \beta=0.509$ ), nicht jedoch zwischen Leberfett und FGF-21 (**Tabelle 4**).

*Tabelle 4: Multivariate lineare Regression mit Leberfett (logarithmiert) als abhängige Variable; FGF-21 und Taillenumfang (WC) als unabhängige Variablen. Modell zusätzlich adjustiert für Alter und Zeit nach Entbindung.*

Variable (n=108)	p-Wert	adj. $\beta$	adj. $R^2$
FGF-21	0.3812	0.077	0.2616
WC	<.0001	0.509	
FGF-21= Fibroblast Growth Factor; WC= Taillenumfang			

## 4. Diskussion

Die vorliegende Arbeit untersuchte FGF-21 als möglichen Biomarker für Vorstufen des T2D, versuchte eine Einordnung des Hormons in das Metabolische Syndrom und evaluierte den Zusammenhang zwischen FGF-21 und dem Leberfettgehalt. Das erste wesentliche Ergebnis war, dass der FGF-21-Serumspiegel mit dem 1h-Glukosewert im oGTT korreliert, einem Maß für die Glukosetoleranz. Weitere wesentliche Ergebnisse waren, dass der FGF-21-Serumspiegel mit WC, Triglyceriden und Nüchtern glukose korreliert, nicht aber mit den anderen Komponenten des Metabolischen Syndroms. Eine Korrelation mit dem Leberfettgehalt zeigte sich ab einem Fettwert von 5%, nicht jedoch darunter.

### 4.1. FGF-21 als Biomarker für Vorstufen des T2D

In zahlreichen Tierstudien konnten positive Effekte von FGF-21 auf den Glukosemetabolismus nachgewiesen werden (32, 34, 66). Dabei operierte FGF-21 über verschiedene Signalwege (32). Diese Effekte sind aber nicht unbedingt auf den Menschen übertragbar. Zudem stellen sich Fragen bezüglich der eingesetzten Dosen des Hormons. In einer Arbeit von Kharitonov et al. wurde beispielsweise dargestellt, dass injiziertes FGF-21 den Blutzuckerspiegel senken kann (34). Hierbei wurde jedoch eine Dosis von 125µg/kg verabreicht, was bei einer Maus mit zirka 20g Gewicht einer Dosis von 2500ng entspricht. Laut Staiger et al. liegen die Serumkonzentrationen von FGF-21 bei Mäusen physiologisch aber nur zwischen 0.1 und 1ng/mL (32). Die dadurch im Experiment entstehende Abweichung zum physiologischen Spiegel verhindert eine Vergleichbarkeit zur regulären FGF-21-Funktion im Organismus.

Im Gegensatz zum Tiermodell scheinen hohe FGF-21-Spiegel beim Menschen mit einem erhöhten T2D-Risiko einherzugehen. Dies wurde beispielsweise von Semba et al. gezeigt (67), die eine positive Assoziation zwischen FGF-21 und der Nüchtern glukose, der 2h-Glukose im oGTT und einer Insulinresistenz nachwiesen. Die untersuchte Kohorte waren Männer und Frauen mit einem Durchschnittsalter von 63 Jahren. Davis et al. berichteten, dass erhöhte FGF-21 erst bei manifesten Veränderungen des Glukosemetabolismus zu beobachten sind. Lediglich eine positive Familienanamnese für die Erkrankung, also ein erhöhtes T2D-Risiko, reicht dafür offenbar nicht aus (68).

Unsere Ergebnisse stimmen im Grundsatz mit denen von Semba et al. und Davis et al. überein. Auch in unserer Kohorte zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen FGF-21 und einer eingeschränkten Glukosetoleranz, nicht jedoch mit Insulinresistenz (Insulinsensitivitätsindex ISI) und Betazell dysfunction (Disposition Index di). Wir wählten den 1h-Glukosewert im oGTT als Maß für die Glukosetoleranz, da dieser als Einzelwert, den besten Prädiktor für einen zukünftigen T2D darstellt (25,

69). Die Korrelation von FGF-21 mit dem 1h-Glukosewert war zu schwach, um daran zu denken, den oGTT bei der Risikoabschätzung für T2D durch die Bestimmung von FGF-21 zu ersetzen. Der Hormonwert könnte aber sinnvoller Bestandteil eines Panels mehrerer klinischer und laborchemischer Parameter zur Risikoprädiktion sein. Darauf deutet die durchgeführte multivariate Regressionsanalyse hin, die zeigt, dass der Zusammenhang von FGF-21 und 1h-Glukosewert unabhängig vom Taillenumfang ist.

#### 4.2. FGF-21 im Rahmen des Metabolischen Syndroms

Mraz et al. konnten zeigen, dass die FGF-21 Serumspiegel bei adipösen T2D-Patienten verglichen zu einer schlanken Kontrollgruppe erhöht sind. Weitere Analysen zeigten dann, dass es wohl eher die Adipositas ist, die mit der FGF-21-Erhöhung zusammenhängt und nicht der T2D. Die Level von FGF-21 war bei adipösen Personen mit und ohne Diabetes gegenüber der Kontrollgruppe erhöht und unterschied sich zwischen den beiden adipösen Gruppen nicht signifikant (70).

Im zweiten Abschnitt dieser Arbeit untersuchten wir deshalb die Assoziationen zwischen FGF-21 und den verschiedenen Komponenten des Metabolischen Syndroms, einschließlich der abdominellen Adipositas. Dabei zeigte FGF-21 im Serum einen signifikanten Zusammenhang mit dem Taillenumfang, den Serum-Triglyzeriden und der Nüchtern glukose. Für Blutdruck und HDL-Cholesterin zeigte sich keine signifikante Korrelation.

In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen zeigte eine Studie von Zhang et al. einen Zusammenhang zwischen FGF-21 und dem Metabolischen Syndrom insgesamt. Hier waren ebenfalls Triglyzeride und Taillenumfang unabhängig mit FGF-21 assoziiert (71). Auch eine negative Korrelation zwischen HDL-Cholesterin und FGF-21 wurde in früheren Studien beschrieben (72, 73). Andere Arbeiten fanden auch einen positiven Zusammenhang zwischen Blutdruck und FGF-21 hin (74, 75). Huang et al. vermuteten, dieser Zusammenhang könnte durch die Wirkung von FGF-21 auf das Gehirn, die Leber oder das Fettgewebe resultieren (76). Pan et al. stellten dagegen eine Wirkung von FGF-21 auf Adipozyten und Nierenzellen fest, wodurch ACE2 (Angiotension-Converting Enzyme 2) induziert wurde (77). Dieses wiederum wandelt Angiotensin II in Angiotensin Heptapeptid um, was den Angiotensin II-Spiegel und somit den Blutdruck senkt. Die Ergebnisse zu FGF-21 und Blutdruckregulation bleiben somit widersprüchlich.

Letztlich zeigt sich in unserer Studie, vergleichbar mit früheren Arbeiten, der paradoxe Befund, dass erhöhte FGF-21-Spiegel bei Metabolischem Syndrom vorliegen. Betrachtet man die gegenteiligen Wirkungen von FGF-21 im Tiermodell, so ist am ehesten von einer FGF-21-Resistenz als Ursache für dieses Phänomen auszugehen (34, 71). Alternative Erklärungen wären ein Speziesunterschied oder die

bereits weiter oben erwähnten, extrem hohen Konzentrationen von FGF-21, die häufig in Tierstudien verwendet werden.

Die vorliegende Arbeit geht über frühere Studien hinaus, indem eine große, junge und vergleichsweise gesunde Kohorte untersucht wird. So kann gezeigt werden, dass der Zusammenhang zwischen FGF-21 und dem Metabolischen Syndrom auch dann besteht, wenn keine Begleiterkrankung vorliegen oder Medikamente eingenommen werden.

### 4.3. FGF-21 als Biomarker für Leberfett

Giannini et al. konnten nachweisen bei adipösen Jugendlichen –vor allem bei jenen mit einem Leberfettgehalt  $\geq 5\%$ , ein hoher FGF-21-Wert messbar ist. Zudem korrelierte FGF-21 signifikant und unabhängig mit Markern der Leberzellapoptose (53). Yilmaz et al. untersuchten Probanden mit nicht-alkoholischer Fettleber-Erkrankung (NAFLD) und stellten dabei erhöhte FGF-21 Werte fest (78). In der Analyse wurden 82 Patienten, deren NAFLD durch eine Biopsie gesichert wurde, und 77 Kontrollen eingeschlossen. Die Probanden waren ca. 47 Jahre alt und türkischer Herkunft. Etwa ein Drittel der NAFLD-Patienten wiesen zusätzlich T2D auf und ca. zwei Drittel ein Metabolisches Syndrom. Es bleibt unklar, ob der Zusammenhang zwischen FGF-21 und NAFLD in dieser Kohorte durch die vorliegenden Begleiterkrankungen beeinflusst wurde.

Eine andere Veröffentlichung (Reinehr et al. (79)) konnte den signifikanten Zusammenhang zwischen FGF-21 und Leberfett in übergewichtigen Kindern im Alter von ca. 12 Jahren dagegen nicht bestätigen. Untersucht wurden adipöse (BMI  $28.7 \pm 1.4$  kg/m<sup>2</sup>) und normalgewichtige (BMI  $17.9 \pm 1.7$  kg/m<sup>2</sup>) Kinder im Alter von ca. 12 Jahren mit und ohne NAFLD. Adipöse Kinder wiesen dabei deutlich erhöhte FGF-21 Spiegel auf, welche nach einer Lebensstilintervention mit Gewichtsreduktion signifikant sanken. Dies bekräftigt die Annahme, dass der FGF-21-Anstieg als Konsequenz, nicht als Ursache von Adipositas erscheint. Im Gegensatz dazu zeigte sich kein Unterschied im FGF-21 Spiegel zwischen Kindern mit und ohne NAFLD.

Unsere Kohorte unterschied sich von denen der genannten Arbeiten durch den zumeist niedrigeren Leberfettgehalt der Studienteilnehmerinnen. Hierdurch ist vermutlich zu erklären, dass wir keine Korrelation von FGF-21 und Leberfettgehalt in allen untersuchten Probandinnen nachweisen konnten. Lediglich ab einem Leberfettgehalt von 5% war eine solche Korrelation erkennbar. Somit erscheint FGF-21 nicht als Biomarker für Frühstadien der Leberverfettung, sondern erst für aufgeprägte Fetteinlagerungen.

#### 4.4. Stärken und Schwächen der vorliegenden Arbeit

Eine wesentliche Stärke unserer Studie war die homogene Studienkohorte, bezogen auf das Alter und das Geschlecht. Zudem war die Rate von Komorbiditäten und Medikation gering, was mögliche Verzerrungen reduzierte. Dennoch bestand, durch den bevorzugten Einschluss von Frauen nach GDM, eine breite Streuung von BMI, Metabolischen Veränderungen, Insulinresistenz und gestörtem Glukosemetabolismus. Weitere Stärken waren die präzise Phänotypisierung der Studienteilnehmerinnen einschließlich MRT sowie die exakte Präanalytik und Analytik der Serumproben.

Die wesentliche Schwäche unserer Studie ist sicherlich ihr Querschnittsdesign, welches die Aufklärung von Ursache-Wirkungsbeziehungen unmöglich macht. Darüber hinaus kann die untersuchte Kohorte junger Frauen auch als Limitation gesehen werden, da die erhobenen Ergebnisse nicht unbedingt auf die Allgemeinbevölkerung übertragbar sind.

## 5. Zusammenfassende Beurteilung und Ausblick

Aus der vorliegenden Arbeit ergibt sich, dass der FGF-21-Serumspiegel eventuell geeignet ist, als Teil eines Panels mehrerer Parameter Vorstufen des T2D zu detektieren. Diesbezüglich sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden, da dieses Problem in der klinischen Praxis aktuell noch ungenügend gelöst ist. Darüber hinaus zeigten sich in unseren Auswertungen interessante Zusammenhänge zwischen erhöhten Spiegeln von FGF-21 und einzelnen Komponenten des Metabolischen Syndroms. Aufgrund einer vermutlich vorliegenden FGF-21-Resistenz in dieser Situation ist das Hormon selbst als Therapeutikum zwar wahrscheinlich nicht geeignet. Es erscheint aber lohnend, die zugrundeliegenden Signalwege auch beim Menschen noch weiter aufzuklären. Daraus könnten vermutlich therapeutische Ansatzpunkte entstehen. Anlass zu weiteren Untersuchungen sollte auch die beobachtete Korrelation von FGF-21 mit einem erhöhten Leberfettgehalt ab 5% geben. Hier ist die Ursache-Wirkungsfrage noch offen und es ist auch noch unklar, warum diese Korrelation offensichtlich erst ab einem Schwellenwert zu beobachten ist. Interventionsstudien beim Menschen, durch Lebensstilmaßnahmen oder pharmakologisch und mit Bestimmung von FGF-21 im Serum, wären ein möglicher Ansatzpunkt, um weitere Erkenntnisse zu gewinnen. Hinzukommen könnten Untersuchungen mit Gewebebiopsien, in denen die Expression von FGF-21 gemessen werden könnte. Auch genetische Analysen könnten helfen, die Zusammenhänge zwischen FGF-21 und Metabolismus beim Menschen weiter aufzuklären.

## 6. Finanzierung

Diese Arbeit wurde unterstützt vom Helmholtz Zentrum München, Deutsches Zentrum für Diabetesforschung und Klinikum der Universität München, Deutschland.

## 7. Interessenskonflikt

Der Autor hat mit dieser Arbeit keinen Interessenskonflikt.

## 8. Abkürzungsverzeichnis

ACE2 = Angiotension-Converting Enzyme 2

BP = Blutdruck (blood pressure)

Sys BP = systolischer Blutdruck

Dia BP = diastolischer Blutdruck

BMI = Body Mass Index

CT = Computertomographie

di = Disposition Index

ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay

FGF-21 = Fibroblast Growth Factor 21

FGFR = Fibroblast Growth Factor Rezeptor

GDM = Gestationsdiabetes

GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase

HbA1c= Hämoglobin A1c, glykiertes Hämoglobin

HDL- Cholesterin = high density lipoprotein-Cholesterin

IADPSG = International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups

IR30 = Insulinrelease innerhalb von 30min

ISI = Insulinsensitivität

KLB= beta-Klotho

LDL-Cholesterin = low density lipoprotein-Cholesterin

MAD = Mittlerer arterieller Blutdruck

MRT = Magnetresonanztomographie

NAFLD = nicht-alkoholische Fettleber-Erkrankung

oGTT = oraler Glukosetoleranztest

PPSDiab = Beobachtungsstudie „*Prädiktion, Prävention und Subklassifikation von Typ 2 Diabetes mellitus*“

PZ 0min= Plasmazucker bei 0min = nüchtern-Glukose

PZ 60min = Plasmazucker bei 60min = 1h-Glukose

T2D = Diabetes mellitus Typ 2

Tri = Triglyzeride

WC = Taillenumfang (waist circumference)

## 9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Korrelation von FGF-21 mit 1h-Glukose, ISI und di .....	14
Abbildung 2: Spearman-Korrelation zwischen FGF-21 und PZ Omin, HDL, dia BP, sys BP, Tri und WC. 16	

## 10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristika der Gesamt- und MRT-Subkohorte .....	13
Tabelle 2: Multivariate Lineare Regression: 1h-Glukosewert als abhängige Variable, FGF-21 und Taillenumfang als unabhängige Variablen. ....	15
Tabelle 3: Lineare Regressionsmodelle mit FGF-21(logarithmiert) als abhängiger Variable und den einzelnen Komponenten des Metabolischen Syndroms als unabhängigen Variablen. . ....	17
Tabelle 4: Multivariate lineare Regression mit Leberfett (logarithmiert) als abhängige Variable; FGF- 21 und Taillenumfang (WC) als unabhängige Variablen.....	18

## 11. Referenzen

1. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes research and clinical practice*. 2017;128:40-50.
2. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes care*. 2018;41(Suppl 1):S13-s27.
3. Tilg H, Moschen AR, Roden M. NAFLD and diabetes mellitus. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2017;14(1):32-42.
4. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama*. 2001;285(19):2486-97.
5. O'Neill S, O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2015;16(1):1-12.
6. Kapellen TM, Galler A, Bottner A, Kiess W. [Epidemiology, treatment and prevention of type 2 diabetes in children and adolescents]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*. 2004;129(27):1519-23.
7. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus-- present and future perspectives. *Nature reviews Endocrinology*. 2011;8(4):228-36.
8. da Rocha Fernandes J, Ogurtsova K, Linnenkamp U, Guariguata L, Seuring T, Zhang P, et al. IDF Diabetes Atlas estimates of 2014 global health expenditures on diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2016;117:48-54.
9. Dall TM, Yang W, Halder P, Pang B, Massoudi M, Wintfeld N, et al. The economic burden of elevated blood glucose levels in 2012: diagnosed and undiagnosed diabetes, gestational diabetes mellitus, and prediabetes. *Diabetes care*. 2014;37(12):3172-9.
10. Shi Y, Vanhoutte PM. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. *Journal of diabetes*. 2017;9(5):434-49.
11. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews*. 2013;93(1):137-88.
12. Gu K, Cowie CC, Harris MI. Mortality in adults with and without diabetes in a national cohort of the U.S. population, 1971-1993. *Diabetes care*. 1998;21(7):1138-45.
13. Roper NA, Bilous RW, Kelly WF, Unwin NC, Connolly VM. Excess mortality in a population with diabetes and the impact of material deprivation: longitudinal, population based study. *BMJ (Clinical research ed)*. 2001;322(7299):1389-93.
14. Manuel DG, Schultz SE. Using linked data to calculate summary measures of population health: Health-adjusted life expectancy of people with Diabetes Mellitus. *Population health metrics*. 2004;2(1):4.
15. Kamradt M, Krisam J, Kiel M, Qreini M, Besier W, Szecsenyi J, et al. Health-Related Quality of Life in Primary Care: Which Aspects Matter in Multimorbid Patients with Type 2 Diabetes Mellitus in a Community Setting? *PloS one*. 2017;12(1):e0170883.
16. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *The Medical clinics of North America*. 2004;88(4):787-835, ix.
17. McCombie L, Leslie W, Taylor R, Kennon B, Sattar N, Lean MEJ. Beating type 2 diabetes into remission. *BMJ (Clinical research ed)*. 2017;358:j4030.
18. Brown A, Guess N, Dornhorst A, Taheri S, Frost G. Insulin-associated weight gain in obese type 2 diabetes mellitus patients: What can be done? *Diabetes, obesity & metabolism*. 2017;19(12):1655-68.
19. Van Gaal L, Scheen A. Weight management in type 2 diabetes: current and emerging approaches to treatment. *Diabetes care*. 2015;38(6):1161-72.

20. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* (London, England). 1998;352(9131):837-53.
21. Elwen FR, Huskinson A, Clapham L, Bottomley MJ, Heller SR, James C, et al. An observational study of patient characteristics and mortality following hypoglycemia in the community. *BMJ open diabetes research & care*. 2015;3(1):e000094.
22. Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *Lancet*. 2017;389(10085):2239-51.
23. Schwarz PE, Reimann M, Li J, Bergmann A, Licinio J, Wong ML, et al. The Metabolic Syndrome - a global challenge for prevention. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*. 2007;39(11):777-80.
24. Schwarz PE. [Screening and prevention of diabetes]. *Der Internist*. 2015;56(10):1124-33.
25. Peddinti G, Bergman M, Tuomi T, Groop L. 1-Hour Post-OGTT Glucose Improves the Early Prediction of Type 2 Diabetes by Clinical and Metabolic Markers. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2019;104(4):1131-40.
26. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2003;26 Suppl 1:S5-20.
27. Feig DS, Zinman B, Wang X, Hux JE. Risk of development of diabetes mellitus after diagnosis of gestational diabetes. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association médicale canadienne*. 2008;179(3):229-34.
28. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* (London, England). 2009;373(9677):1773-9.
29. Blatt AJ, Nakamoto JM, Kaufman HW. Gaps in diabetes screening during pregnancy and postpartum. *Obstet Gynecol*. 2011;117(1):61-8.
30. Hughes RC, Rowan J, Florkowski CM. Is There a Role for HbA1c in Pregnancy? *Current diabetes reports*. 2016;16(1):5.
31. Hughes RCE, Rowan J, Williman J. Prediabetes in pregnancy, can early intervention improve outcomes? A feasibility study for a parallel randomised clinical trial. *BMJ Open*. 2018;8(3):e018493.
32. Staiger H, Keuper M, Berti L, Hrabe de Angelis M, Haring HU. Fibroblast Growth Factor 21-Metabolic Role in Mice and Men. *Endocrine reviews*. 2017;38(5):468-88.
33. Liu M, Cao H, Hou Y, Sun G, Li D, Wang W. Liver Plays a Major Role in FGF-21 Mediated Glucose Homeostasis. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2018;45(4):1423-33.
34. Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(6):1627-35.
35. Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, Itoh N. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochimica et biophysica acta*. 2000;1492(1):203-6.
36. Oulion S, Bertrand S, Escriva H. Evolution of the FGF Gene Family. *International journal of evolutionary biology*. 2012;2012:298147.
37. Fon Tacer K, Bookout AL, Ding X, Kurosu H, John GB, Wang L, et al. Research resource: Comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Molecular endocrinology* (Baltimore, Md). 2010;24(10):2050-64.
38. Petryszak R, Keays M, Tang YA, Fonseca NA, Barrera E, Burdett T, et al. Expression Atlas update--an integrated database of gene and protein expression in humans, animals and plants. *Nucleic acids research*. 2016;44(D1):D746-52.
39. Kharitonov A, Adams AC. Inventing new medicines: The FGF21 story. *Molecular metabolism*. 2014;3(3):221-9.
40. Kurosu H, Choi M, Ogawa Y, Dickson AS, Goetz R, Eliseenkova AV, et al. Tissue-specific expression of betaKlotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *The Journal of biological chemistry*. 2007;282(37):26687-95.
41. Suzuki M, Uehara Y, Motomura-Matsuzaka K, Oki J, Koyama Y, Kimura M, et al. betaKlotho is required for fibroblast growth factor (FGF) 21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and FGFR3c. *Molecular endocrinology* (Baltimore, Md). 2008;22(4):1006-14.

42. Zhang X, Ibrahimi OA, Olsen SK, Umemori H, Mohammadi M, Ornitz DM. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family. *The Journal of biological chemistry*. 2006;281(23):15694-700.
43. Ogawa Y, Kurosu H, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP, Goetz R, et al. BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(18):7432-7.
44. Ito S, Kinoshita S, Shiraishi N, Nakagawa S, Sekine S, Fujimori T, et al. Molecular cloning and expression analyses of mouse betaklotho, which encodes a novel Klotho family protein. *Mechanisms of development*. 2000;98(1-2):115-9.
45. Li H, Bao Y, Xu A, Pan X, Lu J, Wu H, et al. Serum fibroblast growth factor 21 is associated with adverse lipid profiles and gamma-glutamyltransferase but not insulin sensitivity in Chinese subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2009;94(6):2151-6.
46. Lee Y, Lim S, Hong ES, Kim JH, Moon MK, Chun EJ, et al. Serum FGF21 concentration is associated with hypertriglyceridaemia, hyperinsulinaemia and pericardial fat accumulation, independently of obesity, but not with current coronary artery status. *Clinical endocrinology*. 2014;80(1):57-64.
47. Lin Z, Wu Z, Yin X, Liu Y, Yan X, Lin S, et al. Serum levels of FGF-21 are increased in coronary heart disease patients and are independently associated with adverse lipid profile. *PloS one*. 2010;5(12):e15534.
48. Hale C, Chen MM, Stanislaus S, Chinookoswong N, Hager T, Wang M, et al. Lack of overt FGF21 resistance in two mouse models of obesity and insulin resistance. *Endocrinology*. 2012;153(1):69-80.
49. Gallego-Escuredo JM, Gomez-Ambrosi J, Catalan V, Domingo P, Giral M, Fruhbeck G, et al. Opposite alterations in FGF21 and FGF19 levels and disturbed expression of the receptor machinery for endocrine FGFs in obese patients. *International journal of obesity (2005)*. 2015;39(1):121-9.
50. Fisher FM, Chui PC, Antonellis PJ, Bina HA, Kharitonov A, Flier JS, et al. Obesity is a fibroblast growth factor 21 (FGF21)-resistant state. *Diabetes*. 2010;59(11):2781-9.
51. Choi JR, Kim JY, Park IH, Huh JH, Kim KW, Cha SK, et al. Serum Fibroblast Growth Factor 21 and New-Onset Metabolic Syndrome: KoGES-ARIRANG Study. *Yonsei medical journal*. 2018;59(2):287-93.
52. Ong KL, McClelland RL, Allison MA, Kokkinos J, Wu BJ, Barter PJ, et al. Association of elevated circulating fibroblast growth factor 21 levels with prevalent and incident metabolic syndrome: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2019;281:200-6.
53. Giannini C, Feldstein AE, Santoro N, Kim G, Kursawe R, Pierpont B, et al. Circulating levels of FGF-21 in obese youth: associations with liver fat content and markers of liver damage. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2013;98(7):2993-3000.
54. Maratos-Flier E. Fatty liver and FGF21 physiology. *Experimental cell research*. 2017;360(1):2-5.
55. Kotronen A, Westerbacka J, Bergholm R, Pietilainen KH, Yki-Jarvinen H. Liver fat in the metabolic syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(9):3490-7.
56. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, et al. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2011;54(3):1082-90.
57. Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *European radiology*. 2011;21(1):87-97.
58. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2009;49(3):1017-44.
59. Sumida Y, Nakajima A, Itoh Y. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(2):475-85.

60. Janes CH, Lindor KD. Outcome of patients hospitalized for complications after outpatient liver biopsy. *Annals of internal medicine*. 1993;118(2):96-8.
61. Reeder SB, Ranallo F, Taylor AJ. CT and MRI for determining hepatic fat content. *AJR American journal of roentgenology*. 2008;190(2):W167; author reply W8.
62. Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes care*. 2010;33(3):676-82.
63. Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, Sirlin CB. Quantitative Assessment of Liver Fat with Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2011;34(4):spcone.
64. Gar C, Rottenkolber M, Sacco V, Moschko S, Banning F, Hesse N, et al. Patterns of Plasma Glucagon Dynamics Do Not Match Metabolic Phenotypes in Young Women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2018;103(3):972-82.
65. Bence KK, Birnbaum MJ. Metabolic drivers of non-alcoholic fatty liver disease. *Molecular metabolism*. 2021;50:101143.
66. Kharitonov A, Wroblewski VJ, Koester A, Chen YF, Clutinger CK, Tigno XT, et al. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology*. 2007;148(2):774-81.
67. Semba RD, Sun K, Egan JM, Crasto C, Carlson OD, Ferrucci L. Relationship of serum fibroblast growth factor 21 with abnormal glucose metabolism and insulin resistance: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97(4):1375-82.
68. Davis GR, Deville T, Guillory J, Bellar D, Nelson AG. Relationship between family history of type 2 diabetes and serum FGF21. *European journal of clinical investigation*. 2017;47(11):853-9.
69. Bergman M, Manco M, Sesti G, Dankner R, Pareek M, Jagannathan R, et al. Petition to replace current OGTT criteria for diagnosing prediabetes with the 1-hour post-load plasma glucose  $\geq 155$  mg/dl (8.6 mmol/L). *Diabetes research and clinical practice*. 2018;146:18-33.
70. Mraz M, Bartlova M, Lacinova Z, Michalsky D, Kasalicky M, Haluzikova D, et al. Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity. *Clinical endocrinology*. 2009;71(3):369-75.
71. Zhang X, Yeung DC, Karpisek M, Stejskal D, Zhou ZG, Liu F, et al. Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes*. 2008;57(5):1246-53.
72. Gao RY, Hsu BG, Wu DA, Hou JS, Chen MC. Serum Fibroblast Growth Factor 21 Levels Are Positively Associated with Metabolic Syndrome in Patients with Type 2 Diabetes. *International journal of endocrinology*. 2019;2019:5163245.
73. Tyynismaa H, Raivio T, Hakkarainen A, Ortega-Alonso A, Lundbom N, Kaprio J, et al. Liver fat but not other adiposity measures influence circulating FGF21 levels in healthy young adult twins. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(2):E351-5.
74. Semba RD, Crasto C, Strait J, Sun K, Schaumberg DA, Ferrucci L. Elevated serum fibroblast growth factor 21 is associated with hypertension in community-dwelling adults. *Journal of human hypertension*. 2013;27(6):397-9.
75. Jin QR, Bando Y, Miyawaki K, Shikama Y, Kosugi C, Aki N, et al. Correlation of fibroblast growth factor 21 serum levels with metabolic parameters in Japanese subjects. *The journal of medical investigation : JMI*. 2014;61(1-2):28-34.
76. Huang Z, Xu A, Cheung BMY. The Potential Role of Fibroblast Growth Factor 21 in Lipid Metabolism and Hypertension. *Current hypertension reports*. 2017;19(4):28.
77. Pan X, Shao Y, Wu F, Wang Y, Xiong R, Zheng J, et al. FGF21 Prevents Angiotensin II-Induced Hypertension and Vascular Dysfunction by Activation of ACE2/Angiotensin-(1-7) Axis in Mice. *Cell metabolism*. 2018;27(6):1323-37.e5.

78. Yilmaz Y, Eren F, Yonal O, Kurt R, Aktas B, Celikel CA, et al. Increased serum FGF21 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *European journal of clinical investigation*. 2010;40(10):887-92.
79. Reinehr T, Woelfle J, Wunsch R, Roth CL. Fibroblast growth factor 21 (FGF-21) and its relation to obesity, metabolic syndrome, and nonalcoholic fatty liver in children: a longitudinal analysis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97(6):2143-50.

## 12. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

Meinen besonderen Dank gilt Prof. Dr. med. Andreas Lechner und Dr. Christina Gar für die engagierte Betreuung bei der Durchführung der gesamten Arbeit.

Dem gesamten Team der Diabetes Research Group danke ich für die großartige Einarbeitung, die gemeinsame Patientenbetreuung und die Herzlichkeit, die im Team stets vorhanden war.

Für die finanzielle Unterstützung muss ich dem Helmholtz Zentrum meinen Dank ausdrücken.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für die Ermutigungen während der Arbeit an dieser Doktorarbeit.

## 13. Affidavit

	LUDWIG- MAXIMILIANS- UNIVERSITÄT MÜNCHEN	Promotionsbüro Medizinische Fakultät		
<b>Eidesstattliche Versicherung</b>				

—  
Joseph Anna Tina

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

***Fibroblast Growth Factor 21 im Kontext von Glukosestoffwechsel  
und Metabolischem Syndrom in einer humanen Kohortenstudie***

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 25.11.2023

Ort, Datum

Anna Tina Joseph

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand