

Aus der Klinik für Innere Medizin 1  
(Direktor: Prof. Dr. Stefan Schreiber)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**EFFEKT VON RETINOL AUF  
POSTPRANDIALE PARAMETER BEI MÄNNERN  
MIT VERSCHIEDENEN FABP2 PROMOTOR HAPLOTYPEN**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**WIBKE BITTER**

Aus Neustadt am Rügenberge

Kiel 2013

1. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Helwig, Internistische  
Praxisgemeinschaft Oldenburg

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Rosenstiel, Institut für Klinische  
Molekularbiologie

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.2013

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 13.11.2013

gez. Prof. Dr. Johann Roider

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Das metabolische Syndrom .....	1
1.2	Insulin Stoffwechsel .....	2
1.3	Typ2-Diabetes mellitus .....	3
1.4	Atherosklerose .....	3
1.5	Hypertonie .....	4
1.6	Fettstoffwechsel/Dyslipoproteinämie .....	5
1.7	Postprandiale Plasma- und Serumspiegel von Triglyceriden, Insulin und Glukose .....	6
1.8	Intrazelluläre Fettsäurebindungsproteine (fatty acid binding proteins, FABP) .....	6
1.9	Der Promoter-Polymorphismus des FABP2 .....	8
1.10	Liganden des FABP2-Promoters (HNF4, PPAR) .....	9
1.11	Vitamin A .....	10
<b>2</b>	<b>Ziele und Fragestellungen</b> .....	<b>13</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>14</b>
3.1	Probanden .....	14
3.2	Ein- und Ausschlusskriterien für die Vitamin A Interventionsstudie .....	15
3.3	Oraler metabolischer Toleranztest (oMTT) .....	16
3.3.1	oMTT-Testtrunk .....	16
3.3.2	Blutentnahmen .....	16
3.4	Vitamin A Interventionsstudie .....	17
3.5	Messmethoden .....	17
3.5.1	Insulin-Bestimmung .....	17
3.5.2	Triglycerid-Bestimmung .....	18
3.5.3	Glukose-Bestimmung .....	19
3.5.4	Bestimmung der freien Fettsäuren .....	19
3.6	Materialien und Geräte .....	20
3.6.1	Vitamin A Medikation .....	20

3.6.2	Reagenzien .....	20
3.6.3	Geräte .....	21
3.7	Statistische Methoden .....	22
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>23</b>
4.1	Nüchternparameter für die FABP2-Promoter Haplotypen A und B .....	23
4.1.1	Nüchternparameter vor versus nach Vitamin A für Haplotyp A .....	23
4.1.2	Nüchternparameter vor versus nach Vitamin A für Haplotyp B .....	24
4.1.3	Nüchternparameter vor Vitamin A für Haplotyp A versus B .....	24
4.1.4	Nüchternparameter nach Vitamin A für Haplotyp A versus B .....	25
4.2	Postprandiale Parameter für FABP2-Promoter Haplotypen A und B .....	26
4.2.1	Triglycerid-Verlauf während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B .....	27
4.2.2	Freie Fettsäuren-Verlauf während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B .....	29
4.2.3	Glukose-Verlauf während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B .....	31
4.2.4	Insulin-Verlauf während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B .....	33
4.2.5	Verlauf der Insulin-Resistenz (HOMA) während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B .....	35
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>37</b>
5.1	Grundlagen .....	37
5.2	Nüchternparameter .....	38
5.3	Postprandiale Parameter .....	39
5.4	Schlussfolgerungen und Ausblick .....	40
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>41</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>42</b>

<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>56</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>57</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>60</b>
<b>Danksagung .....</b>	<b>62</b>

# 1 Einleitung

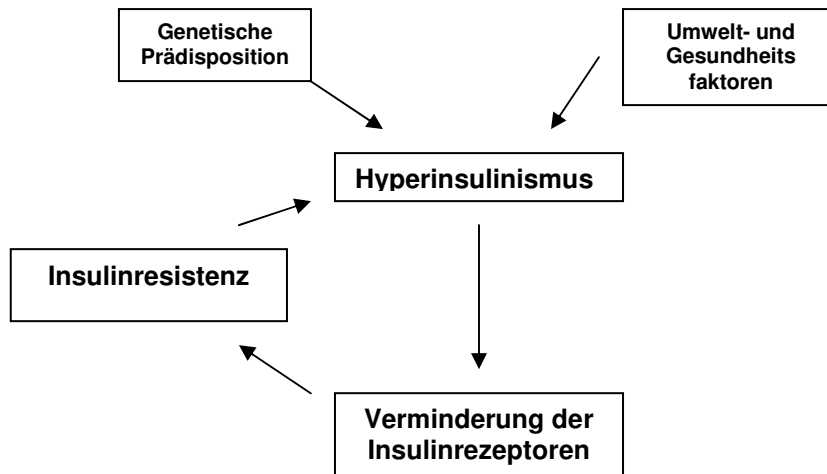
## 1.1 Das metabolische Syndrom

Das metabolische Syndrom wird vielfach auch als „Wohlstandssyndrom“ bezeichnet. Es ist gekennzeichnet durch Übergewicht, Insulinresistenz bzw. Typ2-Diabetes, Bluthochdruck, erhöhte Nüchterntriglyceride und Dyslipoproteinämie (erhöhte „low density“ Lipoproteine [LDL], „very low density“ Lipoproteinen [VLDL] und Chylomikronen-Remnants sowie erniedrigte „high density“ Lipoproteinen [HDL]). Damit verbunden kann verfrüht eine Artherosklerose auftreten (Adult Treatment Panel III, 2001).

In den Industrienationen geht das metabolische Syndrom in dieser Konstellation mit erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsraten einher (Isomaa et al. 2001, Kip et al. 2003). Eine gängige pathogenetische Hypothese geht davon aus, dass eine genetische Prädisposition zusammen mit ernährungs- und gewohnheitsbedingten Umweltfaktoren über eine erhöhte Insulinsekretion und Verminderung von Insulinrezeptoren zu einer Insulinresistenz führt (Reaven et al. 1988), wie schematisch in Abb. 1 dargestellt.

Diese Resistenz und damit verminderte Insulinwirkung führt wiederum zu einem erhöhten Insulinbedarf, sodass ein Circulus vitiosus entsteht, welcher in der Entwicklung eines Typ-2-Diabetes mellitus mündet (Schrezenmeir 1996). Die weitreichenden Konsequenzen eines metabolischen Syndroms sind Schlaganfall, koronare Herzerkrankung und die Entwicklung einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (Isomaa et al. 2001).

Abb.1: Hypothese der Entstehung des metabolischen Syndroms



## 1.2 Insulin Stoffwechsel

Insulin ist ein Hormon der Bauchspeicheldrüse. Es wird dort nach Nahrungsaufnahme aus den B-Zellen der Langerhans-Inseln freigesetzt (Banting et al. 1922). Hauptreiz für die Insulinausschüttung ist der erhöhte Blutglukosespiegel. Des Weiteren erhöhen Aminosäuren, Fettsäuren und Steroidhormone die Insulinsekretion, während vor allem Adrenalin und Noradrenalin die Ausschüttung hemmen (Taborsky et al. 1998). Insulin dient der Aufnahme von Glukose in die Zielzelle (Harold und Lebovitz 2002). Es induziert Lipoproteinlipasen, die aus den im Blut transportierten Triglyceriden freie Fettsäuren abspalten, um diese dann in den Fettzellen zu speichern. Die Speicherung von Glykogen findet vor allem in der Leber statt. Durch diese und weitere Mechanismen kommt es postprandial zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels (Faergeman und Grundy 2002).

### 1.3 Typ2 Diabetes mellitus

Der Typ2 Diabetes mellitus ist ein Merkmal des metabolischen Syndroms (Adult Treatment Panel III, 2001). Zu Beginn der Entwicklung eines metabolischen Syndroms besteht eine verminderte Insulinwirkung bzw. eine Insulinresistenz der insulin-abhängigen Gewebe, sodass erhöhte Insulinspiegel erforderlich werden (Reaven et al. 1988). Bei den dann notwendigerweise erhöhten Insulinspiegeln kann dies zu einer Verminderung der Sensibilität und Dichte der Insulinrezeptoren an den Erfolgsorganen führen („Down-Regulation“), wodurch sich wiederum die Insulinwirkung vermindert. Es kommt zu einer vermehrten Stimulation der Insulin-bildenden B-Zellen der Bauchspeicheldrüse. Die B-Zellen des Typ2 Diabetikers reagieren dabei inadäquat und verzögert auf die Stimulation durch Glukose (Jonas et al. 1999). Am Stoffwechsel von Ratten konnte gezeigt werden, dass eine chronische Hyperglykämie, wie sie auch beim Typ2 Diabetes typisch ist, in den B-Zellen des Pankreas zu einer verminderten Expression von Genen führen kann (Jonas et al. 1999). Dies gilt insbesondere für Gene der Glukose-abhängigen Insulinsekretion, was in Folge eine inadäquat hohe Sekretion von Insulin beim Typ2 Diabetes erklärt. Die Adipositas, als weiteres Merkmal des metabolischen Syndroms, geht mit einem erhöhten „Body Mass Index“ (BMI) und Taillenumfang einher. Die Entstehung eines Typ2 Diabetes ist dabei eng mit einem erhöhten BMI und einem erhöhten Taillenumfang korreliert. So zeigte sich in der „Nurses Health Study“, dass bei weiblichen Personen mit einem BMI >25-30 kg/m<sup>2</sup> das Diabetes-Risiko um das 12-25fache erhöht ist (Colditz et al. 1995). Im Rahmen einer Studie an monozygoten Zwillingen konnte gezeigt werden, dass eine Adipositas unabhängig von genetischen Faktoren mit einem erhöhten Körperfettgehalt, Leberverfettung und einer vermehrten Insulinresistenz einhergeht (Pietiläinen et al. 2004).

### 1.4 Atherosklerose

Zur Pathogenese der Atherosklerose gibt es unterschiedliche Theorien. Eine zusammenfassende Erklärung liefert die „reaction to injury“ Hypothese (Ross 1986, Ross 1993). Vermittelt über eine Endothelläsion/Endotheldysfunktion eines Gefäßes



kommt es zur Anheftung von Monozyten und Thrombozyten (Curtis 1987) und zu einem Lipideinstrom in die Intima eines Gefäßes. Die eingewanderten Monozyten wandeln sich in Gewebsmakrophagen um, welche konsekutiv die eingelagerten Lipide aufnehmen und zu sogenannten lipidreichen Schaumzellen werden. Es entsteht ein fibröser Plaque (Faergeman und Grundy 2002). Über die Proliferation von glatten Muskelzellen und einem weiteren Lipid-Einstrom, sowie die zunehmende Anheftung von Thrombozyten und Makrophagen an den fibrösen Plaque nimmt dieser an Größe und Gestalt im Gefäß immer weiter zu, sodass es zum Vollbild der Artherosklerose kommt (Davies und Thomas 1984, Davies und Thomas 1985). Die Hyperinsulinämie begünstigt über eine gesteigerte Triglycerid-, Fettsäuren- und Cholesterinsynthese sowie eine gesteigerte Aktivität der Lipoproteinlipase die Lipideinlagerungen in die Gefäßintima (Brucket und Dejager 1994).

## 1.5 Hypertonie

Nach dem „Adult Treatment Panel III“ (Lorenzo et al. 2007) besteht eine arterielle Hypertonie, wenn Werte von systolisch  $>130$  mmHg und/oder diastolisch  $>85$  mmHg in Ruhe überschritten werden. In den Industrienationen ist die Adipositas die häufigste Ursache für die Entstehung eines Hypertonus (Okosun et al. 1999). Der beim metabolischen Syndrom bestehende Hypertonus wird durch den Hyperinsulinismus über verschiedene Mechanismen gefördert (Flack et al. 1991), wie z.B. die gesteigerte Natriumrückresorption an der Niere, die Stimulation des Sympathikus über die erhöhte Aktivität des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) oder die gesteigerte Proliferation glatter Muskelzellen in der Gefäßwand und die dadurch bedingte Einengung des Gefäßlumens (Defronzo et al. 1975, Defronzo et al. 1991, Stout et al. 1975, Stout et al. 1979, Stout et al. 1990). Der Hypertonus führt zu Verengungen an den Arteriolen, wodurch der Blutfluss und damit die Insulinwirkung am Muskel sinken. Im Folgenden steigt dadurch die Insulinresistenz des peripheren Gewebes (Lebovitz 2002).

## 1.6 Fettstoffwechsel/Dyslipoproteinämie

Die mit der Nahrung aufgenommenen Fette bestehen zum größten Teil aus Fettsäuren bzw. Triglyceriden und in geringen Maßen aus freiem oder verestertem Cholesterin, Phospholipiden und den fettlöslichen Vitaminen E, D, K und A (Besnard et al. 2002). Lipasen aus Mundhöhle, Magen und Pankreas spalten die Triglyceride in Fettsäuren, Glycerin und Monoacylglycerine, welche dann mit Gallensäuren Micellen bilden können, sodass eine Resorption stattfinden kann (Besnard et al. 2002).

Über die Aufnahme in die Mukosazelle bestehen verschiedene Hypothesen:

- (1) Aufnahme von freien Fettsäuren (FFS) durch passive Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten (Besnard et al. 2000).
- (2) Erleichterter Transport der FFS über eine so genannten „flip-flop“-Diffusion durch die Lipid-Doppelschicht der Zellmembran (Mangroo et al. 1995, Hamilton und Kamp 1999, Hamilton et al. 2002).
- (3) Aufnahme von FFS durch aktiven Transporter in die Mukosazelle (Besnard et al. 2000).

In der Mukosazelle werden die Fettsäuren durch Acylierung mit Hilfe der Thiokinase zu „aktivierten“ Fettsäuren, dem Acyl-CoenzymA (Besnard et al. 2002). Das Acyl-CoenzymA wirkt zytotoxisch und wird aus diesem Grund an Transportproteine, sog. „fatty acid-binding proteins“ (FABPs) gebunden (Besnard et al. 2002, Agellone et al. 2002). Im Weiteren kommt es zur Re-Synthese von Triglyceriden über eine Re-Veresterung der aktivierten Fettsäuren mit Monoacylglyceriden. Es entstehen Triglyceridreiche Lipoproteine, sog. Chylomikronen, die in die Lymphe exozytiert werden (Besnard et al. 2000). Über die Lymphe gelangen die Chylomikronen ins Blut, wo sie durch die Lipoproteinlipase (LPL) der Zellen v.a. des Fettgewebes und der Muskulatur zu FFS aufgespalten werden. In den Zellen werden sie über verschiedene Mechanismen weiter verstoffwechselt (Illingworth und Connor 1987). Beim metabolischen Syndrom führen die vermehrt mit der Nahrung zugeführten und postprandial anflutenden Triglyceridreichen Lipoproteine bzw. Chylomikronen zu einer erhöhten Aktivität der Lipoproteinlipase (LPL) und damit zu einer vermehrten Freisetzung von freien Fettsäuren (Schrezenmeir 1996). Die FFS fördern in der Zielzelle über die Beeinflussung des Insulinsignalweges die Insulinresistenz (Boden 1996). Weiterhin induzieren die FFS eine vermehrte Insulinsekretion der Inselzellen (Griffin et al. 1999, Coughlan und

Sorrentino 2000). Beide Mechanismen führen zu einer Hyperinsulinämie. Der erhöhte Insulinspiegel führt über die erwähnte, gesteigerte LPL-Aktivität wiederum zu erhöhten Triglyceridspiegeln im Blut und fördert die Entstehung einer Dyslipoproteinämie (LDL $\uparrow$ , VLDL $\uparrow$ , Chylomikronen-Remnants $\uparrow$  und HDL $\downarrow$ ) (Steinmetz et al. 2001, Soska 2003, Holvoet et al. 2004).

### 1.7 Postprandiale Plasma- und Serumspiegel von Triglyceriden, Insulin und Glukose

Schrezenmeir et al. konnten 1993 zeigen, dass nach standardisierter, fettreicher Mahlzeit das individuelle Triglycerid-Maximum nicht normal, sondern bimodal verteilt ist, mit einem Schnittpunkt der Verteilungskurven bei 260 mg/dl. Hieraus konnten Triglycerid-Verteilungstypen hergeleitet werden, die als „Normal-Responder“ (<260 mg/dl) und „High-Responder“ (>260 mg/dl) definiert wurden. „High Responder“ zeigten erhöhte Insulinwerte und können mit dem metabolischen Syndrom in Verbindung gebracht werden (Schrezenmeir et al. 1993). Zusammen mit der verminderten Insulinsensitivität bedingen diese erhöhten, postprandialen Insulinwerte, wie oben erwähnt, ganz wesentlich den hohen Triglyceridanstieg nach standardisierter, fettreicher Mahlzeit (Schrezenmeir et al. 1993). In einer weiteren Studie von Schrezenmeir et al. 1997 konnte außerdem gezeigt werden, dass normgewichtige Söhne von Eltern (Mutter oder Vater) mit metabolischem Syndrom im Alter von durchschnittlich 32 Jahren auf eine standardisierte, fettreiche Mahlzeit mit einem höheren Anstieg von postprandialen Triglyceriden reagierten, obwohl die Nüchtern-Triglyceride noch im Normalbereich lagen. Diese Probanden zeigten zudem eine verringerte, postprandiale Insulinsensitivität. Aus diesen Beobachtungen lässt sich folgern, dass postprandiale Triglyceride als Parameter bei der Identifizierung von Personen mit einem „prä-metabolischen Syndrom“ einen wichtigen Stellenwert einnehmen (Schrezenmeir et al. 1992). Im Weiteren stützen diese Befunde die Hypothese, dass die postprandialen Triglyceride die Entstehung eines metabolischen Syndroms beeinflussen können.

## 1.8 Intrazelluläre Fettsäurebindungsproteine („fatty acid binding proteins“, FABPs)

Die FABPs sind einer Protein-Familie, bestehend aus 9 verschiedenen Fettsäurebindungsproteinen, zugehörig (Zimmermann et al. 2002). Die Nomenklatur der FABPs bezieht sich auf die chronologische Reihenfolge bzw. auf das Organ ihrer Entdeckung, wie in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1: FABP-Familie

<b>FABP-Typ</b>	<b>Synonym</b>	<b>Vorkommen</b>
L-FABP	FABP1	Leber, Interstitium, Niere, Magen
I-FABP	FABP2	Interstitium, Magen
H-FABP	FABP3	Herz, Niere, Skelettmuskulatur, Aorta, Plazenta, Gehirn, Testes, Ovarien, Lunge, Nebennieren-Rinde, Mamma, Magen
A-FABP	FABP4/AP2	Fettgewebe (Adipozyten)
E-FABP	FABP5/KLBP	Haut, Gehirn, Augenlinsen, Retina, kapilläres Endothelium
IL-FABP	FABP6/ILBP	Interstitium, Ovarien, Magen, Nebennieren-Rinde
B-FABP	FABP7	Gehirn
M-FABP	FABP8	Myelin der peripheren Nerven
T-FABP	FABP9	Testes

Zu den Aufgaben der FABPs gehören die intrazelluläre Bindung von gesättigten und ungesättigten, langkettigen Fettsäuren zum Schutz der Zelle vor toxischen Wechselwirkungen sowie der Transport der Fettsäuren zu Zellbestandteilen zur weiteren Verstoffwechslung (Lowe et al. 1987, Sweetser, Birkenmeier et al. 1987, Sweetser, Heuckeroth et al. 1987). Dazu gehören die Mitochondrien bzw. Peroxisomen für die Fettsäureoxidation, das endoplasmatische Reticulum zur Phospholipidsynthese oder der Zellkern zur Genregulation (Hanhoff et al. 2002 Zimmermann et al. 2002). Die intestinalen FABPs (I-FABP oder FABP2) konnten in den Epithelzellen des Dünndarms mit besonders hohen Konzentrationen im proximalen Ileum gefunden werden (Besnard et al. 2002). Sie binden intrazellulär gesättigte und zu einem geringeren Teil auch ungesättigte Fettsäuren (Lowe et al. 1987, Sweetser, Heuckeroth et al. 1987). Anhand von FABP2 „knock-out“ (KO) Mäusen konnte die Funktion auf den Stoffwechsel beschrieben werden. Beobachtungen an männlichen FABP2 KO-Mäusen zeigten, dass diese ein

erhöhtes Gewicht, eine Hyperinsulinämie und erhöhte Plasma-Triglyceridspiegel aufwiesen. Im Gegensatz dazu kam es bei weiblichen KO-Mäusen zu einer geringeren Gewichtsabnahme. Dies führte zu der Schlussfolgerung, dass der Einfluss von FABP2 auf BMI, Cholesterin und Triglyceriden unabhängig von der Art der aufgenommenen Nahrung bzw. Fettmenge ist (Vassileva et al. 2000). Baier et al. entdeckten 1995 bei Genanalysen in der Population der Pima-Indianer, die ein hohes Auftreten von Typ2 Diabetes aufweisen, einen „single nucleotid polymorphismus“ (SNP) an Codon 54 an Exon2 des FABP2, der zu einem Aminosäureaustausch von Alanin zu Threonin führt. Dieses Thr-54 Protein ist mit erhöhten, postprandialen Triglyceriden, einer erhöhten Insulinresistenz (Baier et al. 1995) und einem erhöhten BMI assoziiert (Hegele et al. 1996, Ågren et al. 1998). Bestätigt werden konnte dies in Studien an weiteren Populationen in der „Stockholm Prospective Study“ (Carlson et al. 1985), in der „Framingham Study“ (Galluzi et al. 2001 und der „Paris Prospective Study“ (Cambien et al. 1986). Dabei zeigte sich, dass die Threonin, stärker als die Alanin-kodierende FABP2 Variante, Fettsäuren, Cholesterin und Triglyceride bindet (Roche et al. 1995, Baier et al. 1996) und zwar mit einer zwei-mal höheren Affinität (Baier et al. 1996). Dies ist gefolgt von einem Anstieg der zellulären Fettsäuren-Aufnahme und damit der Lipoproteinsynthese, was den oben genannten Effekt erklärt (Sweetser, Birkenmeier et al. 1987, Levy et al. 2001, Agellone et al. 2002, Besnard et al. 2002). Zusätzlich sind bei einem Vorkommen dieses Threonin-kodierenden Allels an Codon 54 des FABP2-Gens die Insulinspiegel erhöht und es lässt sich eine Insulinresistenz nachweisen (Ågren et al. 2001, Weiss et al. 2002), sodass das Risiko der Entstehung eines Typ2 Diabetes ansteigt. Anhand dieser Beobachtungen lässt sich die wichtige Funktion des FABP2 erkennen, sowie seine Rolle bei der Entstehung des metabolischen Syndroms.

## 1.9 Der Promoter-Polymorphismus des FABP2

FABP2 wird in Ratten und Mäusen, aber auch bei Menschen vornehmlich in den Enterozyten des Darms exprimiert (Sweetser, Birkenmeier et al. 1987). In vivo-Versuche durch Rottman und Gordon 1993 an Ratten und Mäusen konnten zeigen, dass die Aktivität des FABP2 durch den FABP2-Promoter beeinflusst wird. Dieser Promoter beinhaltet Nukleotid-Abschnitte bzw. Domänen, welche über die Bindung von Transkriptionsfaktoren die Expression von FABP2 stimulieren oder inhibieren. So

befindet sich an Position -1178 bis -277 eine Domäne, die bei entsprechender Aktivierung die Expression von FABP2 im Ileum und Kolon von erwachsenen Tieren stimuliert. In der 3` Region liegt eine zweite Domäne an Position -277 bis -185, bei deren Stimulation es zu einer Inhibition der Transkription von FABP2 im Ileum und Kolon kommt. Die Expression von FABP2 unterliegt einer unterschiedlichen Verteilung im Intestinaltrakt, wobei die höchsten Konzentrationen im proximalen Ileum gefunden werden konnten. (Rubin et al. 1991, Cohn et al. 1992). Eine weitere Domäne an Position -103 bis +28 des FABP2-Promoters trägt ein Element, an welches sich u.a. der in den Enterozyten produzierte und zur Steroid-hormon-Superfamilie gehörende Transkriptionsfaktor HNF-4 (siehe 1.10) bindet und den Promoter zusammen mit weiteren Transkriptionsfaktoren und dort lokalisierten Elementen schon im fetalen Leben aktivieren kann (Rottman und Gordon 1993).

Von Geschonke et al. 2002 und Damcott et al. 2003 wurden in der 5` Region mehrere FABP2- Promoter-Polymorphismen entdeckt:

- eine G → T Substitution bei -771bp
- eine G → A Substitution bei -471bp
- eine G → A Substitution bei -261bp
- eine T-Deletion bei -19bp
- eine AGAGT Insertion bei -78bp
- sowie eine AAG Insertion bei -108bp.

Es zeigte sich, dass die SNPs und die Insertions/Deletions-Polymorphismen in einem kompletten „linkage Disequilibrium“ (Kopplungsungleichgewicht) stehen, sodass genau zwei Haplotypen des FABP2-Promoters entstehen: Haplotyp A und Haplotyp B. Epidemiologische Studien zeigten eine Assoziation des Promotor-Haplotyp B mit einem erhöhten BMI und erhöhten Cholesterin bei Frauen, sowie einer tendenziell erhöhten Fettmasse bei Männern (Damcott et al. 2003). Weiterhin konnte festgestellt werden, dass der Promotor-Haplotyp B mit einem niedrigerem HDL-Wert assoziiert ist und in Kombination mit dem Thr54-Polymorphismus am Exon2 des FABP2 höhere postprandiale Triglycerid- und Insulinspiegel aufweist (Helwig et al. 2005).

### 1.10 Liganden des FABP2-Promoters (HNF4, PPAR)

Die Promoter-Region des FABP2 enthält Bindungsstellen für unterschiedliche Liganden, u.a. für den „Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$ “ (PPAR $\gamma$ ), den „Hepatocyte Nuclear Factor 4 $\alpha$ “ (HNF4 $\alpha$ ), den „Retinoid-related Orphan Receptor  $\alpha$ “ (ROR $\alpha$ ), den „Retinoid Acid Receptor“ (RAR) und den „Retinoid X Receptor“ (RXR). ROR $\alpha$  gehört zur „Nuclear Receptor“ Superfamilie, welche auch als Orphan Receptors bezeichnet werden, da ihre Liganden zum Zeitpunkt der Beschreibung noch unbekannt waren (Atkins et al. 1999). HNF4 wird in Leber, Niere und dem Gastrointestinaltrakt exprimiert. Es bildet zwei Subtypen und ist ebenso wie ROR ein Orphan Receptor und somit der „Nuclear Receptor“ Superfamilie zugehörig (Atkins et al. 1999). Es reguliert die Expression von verschiedenen Genen, u.a. des Glukose Metabolismus, des Fett- bzw. Cholesterin-Stoffwechsels (Sladek et al. 1990, Sladek 1993) und die des Transthyretin, dem Transportprotein von Vitamin A im Serum (Sladek et al. 1990). HNF4 ist in seinem Aufbau dem RXR ähnlich (Jiang et al. 1995). PPAR $\gamma$  zählt ebenfalls zu der „Nucleus Receptor“ Familie und liegt in drei Subtypen vor ( $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ ). PPAR $\gamma$  kontrolliert die Expression von Schlüssel-Genen des Fettsäure-Stoffwechsels (Auwerx et al. 1999) und spielt somit eine wichtige Rolle in der Vermittlung zwischen extrazellulären Hormonsignalen und Transkriptionsveränderungen im Zellkern (Vidal-Puig et al. 1996). Natürlich auftretende Moleküle (Fettsäuren, Leukotriene, Prostaglandine) und synthetische Moleküle (Fibrate, Glitazone) kontrollieren als PPAR-Liganden die Transkriptions-Aktivität derselben (Aleman et al. 2004). PPAR $\gamma$  bildet mit RXR ein Heterodimer PPAR $\gamma$ :RXR (Gampe et al. 2000). Die Aktivierung dieses Heterodimers findet unter anderem durch 9-cis-Retinsäure, einem Metaboliten von Vitamin A, statt (Gampe et al. 2000).

### 1.11 Vitamin A

Vitamin A ist ein fettlösliches Vitamin, welches abhängig vom Oxidationsgrad in drei verschiedenen Formen im Körper vorliegt: als Retinol [Hydroxyform], Retinal [Aldehydform] oder Retinsäure [Carboxylform, Veresterung mit einer organischen Säure] (Bonet et al. 2002). Sie werden zusammen als Retinoide bezeichnet (Bonet et al. 2002). Nach

oralen Aufnahme wird Vitamin A mit Hilfe von Gallensäuren und Pankreasenzymen aus dem Darm resorbiert (Lampen et al. 2000), um dann aus den intestinalen Zellen als Retinol über Chylomikronen in die Leber transportiert und zur Speicherung verestert zu werden (Goodman 1984, Blomhoff et al. 1992). Vitamin A hat vielfältige Aufgaben, so zum Beispiel beim Sehorgan, bei der Reproduktion, bei der Hämatopoese, der embryonalen Entwicklung sowie der Modulation des Wachstums und Differenzierung von Zellen über antiproliferative und antioxidative Effekte (Bonet et al. 2002). Die meisten dieser Effekte steuert Vitamin A über die Retinsäure [RA] (Gudas et al. 1994). Diese liegt in zwei Formen vor, der all-trans-RA und der 9-cis-RA (Bonet et al. 2002). Retinsäure bindet an Transkriptionsfaktoren der „Nucleus Rezeptor“ Superfamilie, welche zu den Steroidhormonen gehören, und reguliert so die Transkription bestimmter Gene (Nagpal et al. 1998, Bonet et al. 2002). Diese Transkriptionsfaktoren sind der bereits erwähnte „Retinoid-X-Rezeptor“ [RXR] und der „Retinoid-Acid-Receptor“ [RAR] (Nagpal et al. 1998). Es sind drei Subtypen von RXR bekannt ( $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ ), mit Gewebeabhängiger Expression (Chambon et al. 1996). Der natürliche Ligand für RXR ist 9-cis-Retinsäure (Bonet et al. 2002, Dawson und Zhang 2002). Er bildet nach Aktivierung durch die entsprechende Retinsäure Homodimere [RXR:RXR] mit speziellen „RAR-response-Elements“ [RARES], oder Heterodimere mit RAR und weiteren Rezeptoren, z.B. PPAR $\gamma$  (Chambon 1996, Aranda et al. 2001, Dawson und Zhang et al. 1992). RAR kommt ebenfalls Gewebeabhängig in drei Subtypen vor [ $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ ] (Chambon et al. 1996) und kann all-trans-RA sowie 9-cis-RA mit hoher Affinität binden (Petkovich et al. 1987). Nach Bindung von all-trans oder 9-cis-RA an RAR bildet sich das Heterodimer RAR:RXR, welches wiederum an RARES in der Promoterregion von Genen bindet und so abhängig vom Zelltyp die Genexpression beeinflusst (Nabeyrat et al. 2000, Aranda et al. 2001). Die Bindung von Retinsäure an RAR geschieht vermutlich an verschiedenen Stellen des FABP2-Promoters. In-silico Analysen haben gezeigt, dass sich die putativen Bindungsstellen für RAR in Abhängigkeit von der FABP2 Promoter-Variabilität ändern können (Transfaq©-Analyse). Diese Bindungsstellen sind bei der AGAGT-Deletion -133bp und der T-Insertion -80bp in der 5' Region des Start-Codons zu finden (Abb. 2):



Abb. 2: FABP2-Promoter Polymorphismus und putative Bindungsstellen für Vitamin A

1. AGAGT-Deletion bei -133bp		
Haplotyp A	TTGACAT <b>AGAGTA</b>	HNF4
Haplotyp B	AT_____AGTTAGGTGATTTCC	RAR
2. T-Insertion bei -80bp		
Haplotyp A	TGGTTC_AAGATAAGAAA	RAR
Haplotyp B	GGTTC <b>TAAGATAA</b>	HNF4

Es wird deutlich, dass sich über die Vitamin A Gabe ein Heterodimer RAR:RXR bilden kann, welcher an der AGAGT-Deletion bei -133bp des FABP2 Promoter Haplotyp B bindet und so den Promoter beeinflusst. An der T-Insertion bei -80bp des FABP2 Promoter Haplotyp B findet sich eine putative Bindungsstelle für HNF4, während sich bei dem Haplotyp A an entsprechender Stelle wiederum RAR:RXR binden kann. RAR und RXR regulieren beide die Genexpression Liganden-abhängig über eine verstärkte Expression der Gene mit Hilfe einer Bindung an RAREs in Promotoren von Zielgenen (Nagpal et al. 1996, Nagpal, Cai et al. 1997, Nagpal, Chandraratna et al. 1997, DiSepio et al. 1997, Schwarz et al. 1997). Wie auch bei anderen nukleären Rezeptoren wird die Wirkung von RAR und RXR außerdem durch Co-Aktivatoren bzw. Co-Suppressoren beeinflusst, sodass die Transkription der Zielgene noch weiter moduliert wird (Weston et al. 2003).

## 2 Ziele und Fragestellungen

In der vorliegenden Studie wird die Auswirkung einer 8-wöchigen Vitamin A Gabe auf die Nüchtern- und postprandialen Parameter des Glukose-, Triglycerid- und Insulinstoffwechsels sowie der freien Fettsäuren bei Männern in Abhängigkeit des FABP2-Promoter-Haplotyps A und B untersucht.

Die zugrunde liegende Hypothese ist:

Auf in-silico Analysen basierende unterschiedliche Bindungsstellen für Retinoid-abhängige Transkriptionsfaktoren bei den FABP2-Promotor-Haplotypen A und B lassen ein unterschiedliches Ansprechen auf Vitamin A erwarten. Die Wirkung wird anhand postprandialer Werte des Triglycerid- und Glukose-Stoffwechsels gemessen.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Probanden

Die hier vorgelegte Interventionsstudie wurde mit 40 Probanden aus der MICK-Kohorte (Metabolic Intervention Cohort Kiel) der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BFEL), am Institut für Physiologie und Biochemie der Ernährung (PBE) in Kiel unter ambulanten Bedingungen im Zeitraum von 2005 bis 2006 durchgeführt.

Die 40 Probanden wurden anhand des FABP2-Promotor-Polymorphismus ausgewählt:

- 19 Probanden mit dem homozygoten Haplotyp A
- 21 Probanden mit dem homozygoten Haplotyp B.

Im Rahmen des BMBF-Projektes „Nahrungsfette und Stoffwechsel“ waren dafür an der BFEL 750 Männern rekrutiert worden. Alle 750 Probanden waren hierzu einem oralen Glukose Toleranztest (oGTT) und einem 9-stündigen, oralen Metabolischen Toleranztest (oMTT) unterzogen und bei ihnen nüchterne sowie postprandiale Parameter des Glukose- und Fettstoffwechsels bestimmt worden. Zudem lag bei allen der Genotyp bezüglich des FABP2-Promoter-Polymorphismus vor, wie bereits anderweitig beschrieben (Helwig et al. 2005, Rubin et al. 2006, Helwig, Rubin, Klapper et al. 2007).

Aus dieser Kohorte konnten 40 Patienten für die Interventionsstudie rekrutiert werden. Die zufällig ausgewählten Probanden wurden angeschrieben und schriftlich, sowie im Rahmen einer Informationsveranstaltung über das Studien-Design informiert. Ein schriftliches Einverständnis lag vor. Die vorliegende Studie wurde von der Ethik-Kommission der Christian-Albrechts-Universität geprüft und das Vorhaben als ethisch unbedenklich eingestuft. Eine Meldung über die Interventionsstudie erfolgte weiterhin an die BfARM.

### 3.2. Ein- und Ausschlusskriterien für die Vitamin A Interventionsstudie

#### Einschlusskriterien:

- Vorausgegangene Teilnahme an der MICK-Kohorte mit den entsprechenden Voruntersuchungen
- Alter 45 bis 65 Jahre
- Schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme
- Zusicherung der Probanden, während des Studienablaufs keinen Alkohol sowie keine übermäßig Vitamin A-haltige Speisen oder Medikamente zu sich zu nehmen.

#### Ausschlusskriterien:

- Diabetes mellitus
- Intestinale Resorptionsstörungen
- Einnahme von Lipidsenkern
- Lebererkrankungen
- Nierenerkrankungen
- Schilddrüsenerkrankungen
- Anämie
- Vorherige, regelmäßige Vitamin A Einnahme.

Anhand eines Mann-Whitney U-Testes wurden Unterschiede der Basisparameter in den beiden Untersuchungsgruppen ausgeschlossen (Tab. 2).

Tab. 2: Vergleich der Basisparameter der beiden Untersuchungsgruppen

Basisparameter	Haplotyp A (n=19)	Haplotyp B (n=21)	p-Wert
Alter (Jahre)	58,94 ± 4,91	59,00 ± 5,14	0,514
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,87 ± 2,80	27,76 ± 4,32	0,228
WHR	0,98 ± 0,06	1,00 ± 0,04	0,297

Mittelwerte ± Standardabweichung, p-Wert = Signifikanz, BMI = Body Mass Index, WHR = Waist-to-Hip Ratio = Verhältnis Taillenumfang in Nabelhöhe zu Hüftumfang in Trochanter-Höhe

### 3.3 Oraler metabolischer Toleranztest (oMTT)

#### 3.3.1 oMTT-Testtrunk

Der standardisierte Testtrunk des oralen metabolische Toleranztests (Schrezenmeir et al. 1992) hat ein Volumen von 500 ml und einen Energiegehalt von 4221 kJ/500 ml. Zur weiteren Zusammensetzung siehe Tab. 3.

Tab. 3: Bestandteile des oMTT-Testtrunks

Inhalt	Menge	Kalorien
Protein	30 g	12 %
Zucker	75 g	30 %
Fette	58 g (600 mg Cholesterin)	51 %
Alkohol	10 g	7 %

#### 3.3.2 Blutentnahmen

Der Studienzeitraum betrug 8 Wochen. Zu Beginn dieser 8 Wochen (Tag 0) und am Ende (Tag 56) wurde jeweils ein 9-stündiger, oraler metabolischer Toleranztest (oMTT) durchgeführt. Die Probanden erschienen zu beiden Untersuchungstagen nach 12-stündiger Nahrungskarenz morgens nüchtern in der Ambulanz des Instituts für Physiologie und Biochemie der Ernährung, um nach Legen eines peripher-venösen Zuganges und erstmaliger Nüchternblutabnahme den standardisierten Trunk des oMTT zügig innerhalb von 5 Minuten zu sich zu nehmen.

Den Probanden wurde daraufhin nach ½, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 und 9 Stunden Blut abgenommen (insgesamt 120 ml). Bis zur 5. Stunde dienten die Proben der Bestimmung von Glukose in Fluorid-Röhrchen sowie Insulin, Triglyceriden und freien Fettsäuren in Serum-Röhrchen, danach nur noch von Triglyceriden und freien Fettsäuren. Neben diesen, später noch ausführlich beschriebenen, eigentlichen Testparametern wurden auch das Cholesterin sowie die „high-density“ Lipoproteine (HDL) und „low-density“ Lipoproteine (LDL) bestimmt. Aus Insulin- und Glukose-Werten wurde der

„Homeostasis Model Assessment“ (HOMA) Index errechnet. Während der gesamten Testphase mussten die Probanden nüchtern bleiben, durften nicht rauchen und nur Mineralwasser zu sich nehmen. Die Blutproben wurden unmittelbar nach Entnahme bei 3000 U/Min für 10 Minuten zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und sofort bei -20°C als Serum oder Fluorid-Plasma zur späteren Analyse eingefroren. An beiden Untersuchungstagen wurden Gewicht und Länge zur BMI-Bestimmung sowie Taillen- und Hüftumfang zur WHR-Berechnung ermittelt. Zusätzlich Alter, Puls, Blutdruck und ggf. Medikamenten-Einnahmen der Probanden. Darüber hinaus erhielten die Probanden einen Fragebogen zur selbständigen Beantwortung, mit Fragen zur Familien-, Sozial- und Eigenanamnese, sowie eine Skala zum Sättigungs- und Hungergefühl, die stündlich auszufüllen war.

### 3.4 Vitamin A Interventionsstudie

Nach Rekrutierung der 40 Probanden unter Berücksichtigung der Genotypisierung sowie der Ein- und Ausschlusskriterien und nach Durchführung des oMMT am Tag 0 erhielten alle Probanden täglich 2 x 1 Kapsel á 2500 IE Vitamin A (Augenkraft Vitamin A, Twardy GmbH) oral für 8 Wochen. Während dieser Zeit sollten die Probanden auf weitere Vitamin A Quellen in der Nahrung (z.B. Leber) verzichten. Am Ende dieser achtwöchigen Vitamin-Einnahme fand am Tag 56 der zweite oMMT statt.

### 3.5 Messmethoden

#### 3.5.1 Insulin-Bestimmung

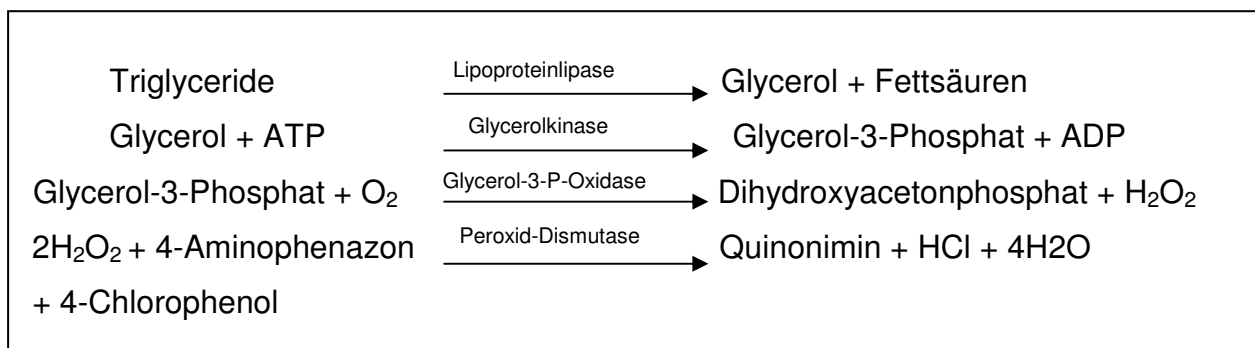
Insulin wurde in Serumproben mittels Radioimmunoassay (RIA) der Firma Adaltis bestimmt. Nach Auftauen der gefrorenen Serumproben wurden diese gut geschüttelt, in Reagenzgläser pipettiert und mit den unter 3.6.2 (1) genannten Reagenzien versetzt, und zwar für die Proben der Stunden 0,5, 1 und 2 in einem Verhältnis von 1:2, da Insulinwerte über 200 pmol/l erwartet wurden, und zu den übrigen Stunden im Verhältnis von 1:1. Das Testgemisch wurde bei Raumtemperatur für 24h inkubiert. In diesem Zeitraum konkurrierten das unmarkierte Insulin-Antigen der Probandenprobe mit

dem  $I^{125}$ radioaktiv-markierten Antigen um die Bindungsstellen am spezifischen Antikörper, wobei sich Antigen-Antikörper-Komplexe bilden. Die Komplexbildung strebt nach dem Massenwirkungsgesetz ein Gleichgewicht an. Je weniger unmarkiertes Insulin-Antigen vorhanden ist, desto mehr radioaktiv-markiertes Antigen geht einen Komplex ein. Nach Inkubation wurden die ungebundenen Antigene mit Hilfe von Polyethylenglykol (PEG) abgetrennt, das entstandene Immunpräzipitat in einer Ultrazentrifuge (Varifuge 3.0R) für 25 Min. bei 3300 U/Min. und  $4^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert und der Überstand verworfen. Anschließend wurden die Radioaktivitäten der Proben mit Hilfe eines Gammacounters (Multi-Kristall Gammazähler LB 12104) gemessen, wobei die gemessene Radioaktivität der Menge an  $I^{125}$  markiertem Antigen entspricht. Dies steht im inversen Verhältnis zum Serum-Insulin.

### 3.5.2 Triglycerid-Bestimmung

Das Prinzip der Bestimmung ist die enzymatische Hydrolyse der Triglyceride (TG) zu Glycerol und Fettsäuren mittels Lipasen (Abb. 3). Diese fand aus Serumproben automatisiert mit Hilfe des klinischen Analysegeräts Konelab 20i statt. Das Glycerol wird durch ATP mit Hilfe der Glycerokinase phosphoryliert. Es entsteht Glycerol-3-Phosphat, welches im nächsten Schritt zu Dihydroxyacetonphosphat und Wasserstoffperoxid oxidiert wird. Dieses reagiert mit 4-Aminophenazon und 4-Chlorophenon zu dem Farbstoff Quinonimin, dessen Extinktion bei 510nm gemessen werden kann. Sie ist der Triglycerid-Konzentration im Serum proportional.

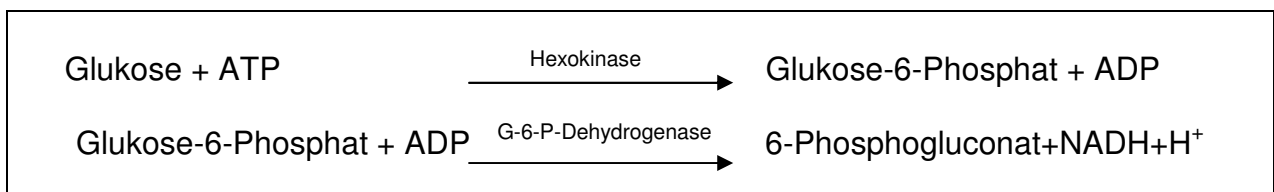
Abb. 3: Reaktionsschritte der quantitativen in-vitro Bestimmung von Triglyceriden



### 3.5.3 Glukose-Bestimmung

Die quantitative Bestimmung der Glukose aus dem Plasma wurde ebenfalls mit Hilfe des klinischen Analysegeräts Konelab 20i durchgeführt. Die Glukose wird dabei durch das Enzym Hexokinase und mit Hilfe von ATP phosphoryliert, das entstehende Glucose-6-Phosphat wird dann im nächsten Schritt zu 6-Phosphogluconat oxidiert (Abb. 4). In dieser Reaktion entsteht eine äquimolare Menge an NADH. Die daraus resultierende Erhöhung der Extinktion wurde bei 340nm gemessen.

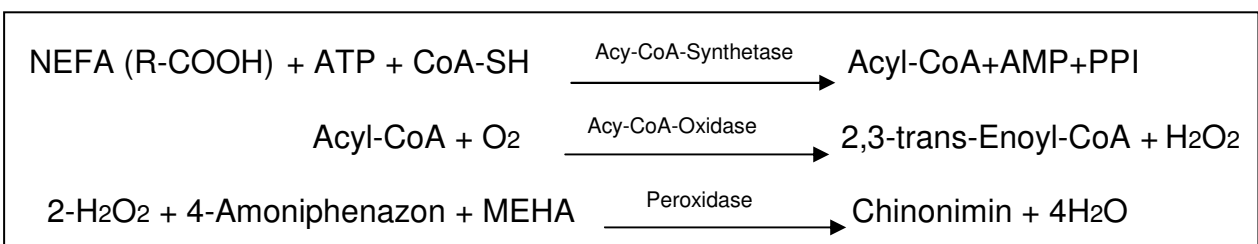
Abb. 4: Reaktionsschritte der quantitativen in-vitro Bestimmung von Glukose



### 3.5.4 Bestimmung der freien Fettsäuren

Auch die quantitative Bestimmung der freien Fettsäuren aus Serumproben erfolgte mit Hilfe des Konelab 20i. Im ersten Reaktionschritt werden die unveresterten, freien Fettsäuren mit ATP und CoA-SH über die Acyl-CoA-Synthetase zu Acyl-CoA, AMP und Pyrophosphat umgewandelt. Das entstandene Acyl-CoA reagiert mit einem Sauerstoff-Molekül zu 2,3-trans-Enoyl-CoA und Wasserstoffperoxid, katalysiert mit Hilfe der Acyl-CoA-Oxidase. Das Wasserstoffperoxid reagiert im letzten Schritt mit 4-Aminophenazon und MEHA mit Hilfe der Peroxidase zu 4H<sub>2</sub>O und einem Chinonimin-Farbstoff (Abb. 5). Die Intensität des roten Farbstoffes ist proportional der Konzentration an freien Fettsäuren in der Probe, die Extinktion wurde bei 550nm gemessen.

Abb. 5: Reaktionsschritte der quantitativen in-vitro Bestimmung von freien Fettsäuren



NEFA = "Non-esterified fatty acids", MEHA = 3-Methyl-N-Ethyl-N-(β-hydroxyethyl)anilin. ATP/ADP/AMP = Adenosin-triphosphat/-diphosphat/-monophosphat. CoA = Coenzym A. PPI = Pyrophosphat.



### 3.6 Materialien und Geräte

#### 3.6.1 Vitamin A Medikation

Augenkraft Vitamin-A-Kapseln (Twardy®, Unterföhring): 1 Weichkapsel enthält 52,632mg Vitamin A Konzentrat (Retinol/Retinolester) aus Fischleberöl, entsprechend 2.500 I.E. Vitamin A.

#### 3.6.2 Reagenzien

##### (1) RIA Test-Kit zur Insulin-Bestimmung (Adaltis Deutschland GmbH)

- *Insulin Antikörper:* Phosphat-EDTA-Puffer mit Anti-Insulin-Antikörper vom Meerschweinchen, BSA und 0,05% Natriumazid; lyophilisiert.
- *Insulin Kalibratoren:* Insulin in Kochsalz mit BSA, bovinen Immunglobulin und < 0,1% Natriumazid in den Konzentrationen 0- 5- 10- 20- 50- 100- und 200 µU/ml Insulin (1.IRP 66/304), lyophilisiert.
- *I<sup>125</sup>-Insulin-Reagenz:* I<sup>125</sup>-markiertes Insulin in Phosphat-EDTA-Puffer mit BSA und 0,05% Natriumazid; lyophilisiert. Maximale Radioaktivität 85 kBq.
- *Insulin Verdünnungslösung:* BSA mit Kochsalz und < 0,1% Natriumazid; lyophilisiert.
- *20% TW PEG Lösung:* 125 ml 20%iges Polyethylenglykol (PEG 6000) in Phosphatpuffer mit Tween 20 und < 0,01% Natriumazid; gebrauchsfertig.
- *Kontrollserum M:* Lyophilisiertes Humanserum mit < 0,01% Natriumazid.

##### (2) Reagenzien zur quantitativen, in-vitro Bestimmung der Triglyceridkonzentration (Konelab 20i, Thermo Clinical Labsystems, Vantaa, Finnland)

- Good-Puffer, pH 7,2, 50mmol/l
- 4-Chlorophenol 4mmol/l
- ATP 2mmol/l
- Mg<sup>2+</sup> 15mmol/l
- Glycerokinase >400 U/l
- Peroxidase >2000 U/l
- Lipoproteinlipase >2000 U/l
- 4-Aminophenazon 0,5mmol/l

- Glycerol-3-phosphatoxidase >500 U/l
  - $\text{NaN}_3 < 0,1\%$
- (3) Reagenzien zur quantitativen, in-vitro Bestimmung der Glukosekonzentration (Konelab 20i, Thermo Clinical Labsystems, Vantaa, Finnland)
- *Reagenz A (Puffer)*: Tris Puffer (pH 7,8) 100mmol/l, ATP 2,1mmol/l, NAD 2,1mmol/l,  $\text{Mg}^{2+}$  4mmol/l,  $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ .
  - *Reagenz B (Enzym)*:  $\text{Mg}^{2+}$  4mmol/l, Hexokinase >7,5 kU/l, G-6-P-Dehydrogenase >7,5 kU/l,  $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ .
- (4) Reagenzien zur quantitativen, in-vitro Bestimmung der freien Fettsäuren (Konelab 20i, NEFA C Test-Kit, WAKO Chemicals GmbH):
- *Lösungsmittel A (Puffer)*: Phosphat Puffer (pH 6,9) 50mmol/l, Magnesiumchlorid 3,0mmol/l, Surfactant, Stabilisatoren.
  - *Farbreagenz A*: ACS (Acyl-CoA-Synthetase) 0,3 kU/l, AOD (Ascorbat-Oxidase) 3,0 kU/l, CoA (Coenzym A) 0,6g/l, ATP (Adenosin-triphosphat) 5,0mmol/l, 4-Aminophenazon 1,5mmol/l.
  - *Lösungsmittel B*: MEHA (3-Methyl-N-Ethyl-N-( $\beta$ -hydroxyethyl)anilin) 1,2mmol/l, Surfactant.
  - *Farbreagenz B*: ACOD (Acyl-CoA-Oxidase) 6,6 kU/l, POD (Peroxidase) 7,5 kU/l.
  - *Calibrator*: NEFA C Standart 10ml, Oleinsäure 28,2mg/dl (1,0mmol/l), Surfactant, Stabilisatoren

### 3.6.3 Geräte

- (1) Kolbenhubpipetten (Eppendorf): 10 $\mu$ l, 10-100 $\mu$ l, 20 $\mu$ l, 50 $\mu$ l, 100 $\mu$ l, 100-1000 $\mu$ l, 200 $\mu$ l, 500 $\mu$ l und 1000 $\mu$ l
- (2) Multipipette plus (Eppendorf): 200 $\mu$ l
- (3) Megafuge 1.0R (Kendro)
- (4) Konelab 20i (Thermo Clinical Labsystems)
- (5) Varifuge 3.0R (Heraeus, Kendro)
- (6) Schüttler (Eydam KL2)
- (7) Multi-Kristall Gammazähler LB 12104 (Berthold Technologie)

### 3.7 Statistische Methoden

Zur Durchführung der statistischen Analysen wurde das Programm SPSS (SPSS for Windows, Version 14, LEAD Technologies Inc.) eingesetzt. Die univariate Datenbeschreibung erfolgte durch Mittelwerte und Standardabweichungen bzw. bei nicht normal verteilten Werten durch Mediane und die Interquartildistanz (IQR). Nicht-parametrischen Testverfahren wurden zum Vergleich herangezogen, und zwar den Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben und den Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben. Das Signifikanzniveau wurde mit  $p < 0,05$  festgelegt.

Zur Auswertung der Belastungstests (oMTT) wurden für die Einzelparameter Mittelwerte und das 95% Konfidenzintervall graphisch dargestellt, die Maximalwerte berechnet und die „area under the curve“ (AUC) nach folgender Formel kalkuliert:

$$\frac{yt_0 + yt_1}{2} \times (t_1 - t_0) + \frac{yt_1 + yt_2}{2} \times (t_2 - t_1) + \dots + \frac{yt_{n-1} + yt_n}{2} \times (t_n - t_{n-1})$$

Der „Homeostasis Model Assessment“ (HOMA) Index als Maß für die Insulinresistenz errechnete sich aus der Formel: Glukose (mmol/l) x Insulin ( $\mu$ IU/ml) / 22,5, wobei 1  $\mu$ IU/ml Insulin 6,945 pmol/l entspricht.

Werte  $>2$  wurden als Hinweis auf eine Insulin-resistenz, Werte  $>2,5$  als wahrscheinliche Insulinresistenz und Werte  $>5,0$  als sichere Insulinresistenz bewertet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Nüchternparameter der FABP2-Promotor Haplotypen A und B

#### 4.1.1 Nüchternparameter vor versus nach Vitamin A für Haplotyp A

Zunächst wurde geprüft, ob die 8-wöchige Vitamin A Gabe einen Einfluss auf die Nüchternparameter sowie auf das Gewicht und die WHR der 19 Probanden des FABP2-Promoter Haplotyps A hatte (Tab. 4). Dies war bis auf einen nicht signifikanten Trend eines Insulin-Abfalls im Studienzeitraum für alle anderen Testparameter, aber auch die zusätzlichen Labor- und klinischen Parameter nicht der Fall.

Tab. 4: Nüchternparameter vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp A (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
<b>Test-Parameter</b>					
Triglyceride (mmol/l)	1,02	0,72	1,07	0,77	0,629
FFS (mmol/l)	0,26	0,27	0,23	0,12	0,365
Glukose (mmol/l)	5,56	0,97	5,62	0,70	0,658
Insulin (pmol/l)	82,99	61,98	67,30	59,62	0,070
HOMA (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	3,01	2,49	2,40	2,41	0,199
<b>Zusätzliche Laborparameter</b>					
Cholesterin (mmol/l)	5,87	0,93	6,01	1,54	0,446
HDL (mmol/l)	1,89	0,67	1,87	0,92	0,159
LDL (mmol/l)	4,35	0,98	4,39	1,29	0,809
<b>Klinische Parameter</b>					
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,74	3,09	26,30	3,10	0,117
WHR	0,98	0,08	1,01	0,07	0,022

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz anhand des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests, FFS = Freie Fettsäuren, HOMA = „Homeostasis Model Assessment“ Index, HDL = „high-density“ Lipoproteine, LDL = „low-density“ Lipoproteine, BMI = Body Mass Index, WHR = Waist-to-Hip Ratio = Verhältnis Taillenumfang in Nabelhöhe zu Hüftumfang in Trochanter-Höhe

#### 4.1.2 Nüchternparameter vor versus nach Vitamin A für Haplotyp B

Auch bei den 21 Probanden des FABP2-Promoter Haplotyps B wurde geprüft, ob die 8-wöchige Vitamin A Gabe einen Einfluss auf die Nüchternparameter sowie Gewicht und die WHR hatte (Tab. 5), was bis auf einen nicht signifikanten Trend eines Blutzucker-Abfalls im Studienzeitraum ebenfalls nicht der Fall war.

Tab. 5: Nüchternparameter vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n = 21)

Parameter	Haplotyp B (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
<b>Test-Parameter</b>					
Triglyceride (mmol/l)	1,11	0,85	1,21	1,13	0,715
FFS (mmol/l)	0,19	0,23	0,23	0,20	0,434
Glukose (mmol/l)	5,64	0,76	5,49	0,33	0,058
Insulin (pmol/l)	107,23	116,88	95,84	47,30	0,502
HOMA (mmol/l x $\mu$ U/ml / 22,5)	3,77	4,09	3,27	1,56	0,332
<b>Zusätzliche Laborparameter</b>					
Cholesterin (mmol/l)	5,78	1,60	5,56	1,11	0,689
HDL (mmol/l)	1,68	0,54	1,61	0,51	0,192
LDL (mmol/l)	4,32	1,51	4,07	0,97	0,931
<b>Klinische Parameter</b>					
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,50	5,99	27,40	6,20	0,322
WHR	0,99	0,06	0,99	0,04	0,322

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz anhand des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests, FFS = Freie Fettsäuren, HOMA = „Homeostasis Model Assessment“ Index, HDL = „high-density“ Lipoproteine, LDL = „low-density“ Lipoproteine, BMI = Body Mass Index, WHR = Waist-to-Hip Ratio = Verhältnis Taillenumfang in Nabelhöhe zu Hüftumfang in Trochanter-Höhe

#### 4.1.3 Nüchternparameter vor Vitamin A für Haplotyp A versus B

Als nächstes wurden die beiden FABP2-Promoter Haplotypen A und B bezüglich ihrer Nüchternparameter miteinander verglichen und zwar zunächst vor Beginn der Vitamin A

Gabe (Tab. 6). Wie die beiden oberen Tabellen schon nahelegen, unterschieden sich die beiden Haplotypen hinsichtlich der Nüchtern-Ausgangswerte nicht.

Tab. 6: Nüchternparameter des FABP2-Promoter Haplotyps A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 0)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
<b>Test-Parameter</b>					
Triglyceride (mmol/l)	1,02	0,72	1,11	0,85	0,655
FFS (mmol/l)	0,26	0,27	0,19	0,23	0,393
Glukose (mmol/l)	5,56	0,97	5,64	0,76	0,507
Insulin (pmol/l)	82,99	61,98	107,23	116,88	0,379
HOMA (mmol/l x $\mu$ U/ml / 22,5)	3,01	2,49	3,77	4,09	0,379
<b>Zusätzliche Laborparameter</b>					
Cholesterin (mmol/l)	5,87	0,93	5,78	1,60	0,695
HDL (mmol/l)	1,89	0,67	1,68	0,54	0,285
LDL (mmol/l)	4,35	0,98	4,32	1,51	0,394
<b>Klinische Parameter</b>					
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,74	3,09	27,50	5,99	0,228
WHR	0,98	0,08	0,99	0,06	0,297

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz anhand des Mann-Whitney-U-Tests, FFS = Freie Fettsäuren, HOMA = „Homeostasis Model Assessment“ Index, HDL = „high-density“ Lipoproteine, LDL = „low-density“ Lipoproteine, BMI = Body Mass Index, WHR = Waist-to-Hip Ratio = Verhältnis Taillenumfang in Nabelhöhe zu Hüftumfang in Trochanter-Höhe

#### 4.1.4 Nüchternparameter nach Vitamin A für Haplotyp A versus B

Nach Vitamin A Gabe lagen die „high-density“ Lipoproteine tendenziell in der Haplotyp B Gruppe etwas niedriger als in der A Gruppe, ansonsten unterschieden sich die beiden Haplotypen hinsichtlich ihrer Nüchternparameter ebenfalls nicht (Tab. 7).

Tab. 7: Nüchternparameter des FABP2-Promoter Haplotyps A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 56)		Haplotyp B (Tag 56)		p- Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
<b>Test-Parameter</b>					
Triglyceride (mmol/l)	1,07	0,77	1,21	1,13	0,903
FFS (mmol/l)	0,23	0,12	0,23	0,20	0,569
Glukose (mmol/l)	5,62	0,70	5,49	0,33	0,416
Insulin (pmol/l)	67,30	59,62	95,84	47,30	0,087
HOMA (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	2,40	2,41	3,27	1,56	0,158
<b>Zusätzliche Laborparameter</b>					
Cholesterin (mmol/l)	6,01	1,54	5,56	1,11	0,989
HDL (mmol/l)	1,87	0,92	1,61	0,51	0,050
LDL (mmol/l)	4,39	1,29	4,07	0,97	0,440
<b>Klinische Parameter</b>					
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,30	3,10	27,40	6,20	0,194
WHR	1,01	0,07	0,99	0,04	0,465

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz anhand des Mann-Whitney-U-Tests, FFS = Freie Fettsäuren, HOMA = „Homeostasis Model Assessment“ Index, HDL = „high-density“ Lipoproteine, LDL = „low-density“ Lipoproteine, BMI = Body Mass Index, WHR = Waist-to-Hip Ratio = Verhältnis Taillenumfang in Nabelhöhe zu Hüftumfang in Trochanterhöhe

#### 4.2 Postprandiale Parameter der FABP2-Promoter Haplotypen A und B

Nachdem die Nüchternparameter für beide Promoter Haplotypen gleich waren und sich auch im Verlauf der Vitamin A Gabe nicht signifikant veränderten, wurden als primäre Fragestellung der Studie mit Hilfe eines standardisierten Belastungstests (oMTT) geprüft, ob sich die postprandialen Werte unterscheiden. Hierzu wurden die Medianwerte und das 95 % Konfidenzintervall im Verlauf des 9-stündigen oMTT graphisch dargestellt und die Maximalwerte als auch die „area under the curve“ (AUC) für die beiden FABP2-Promoter Haplotypen vor und nach Vitamin A Gabe miteinander verglichen.

#### 4.2.1 Triglycerid-Verlauf während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B

Wie sich aus Abb. 6 a–d ersehen lässt, waren die Triglycerid-Verläufe für die beiden Haplotypen untereinander und jeweils vor und nach Vitamin A Gabe vergleichbar.

Abb. 6: Triglycerid-Verlauf während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall)

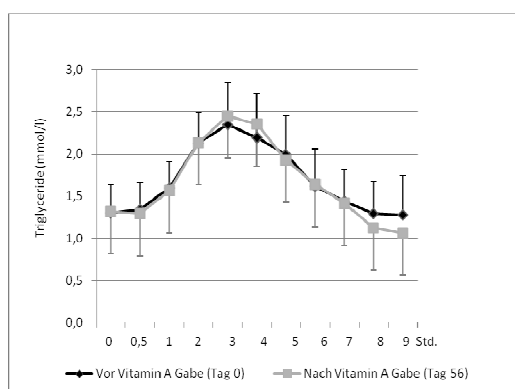
6a) FABP2-Promoter Haplotyp A vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

6b) FABP2-Promoter Haplotyp B vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

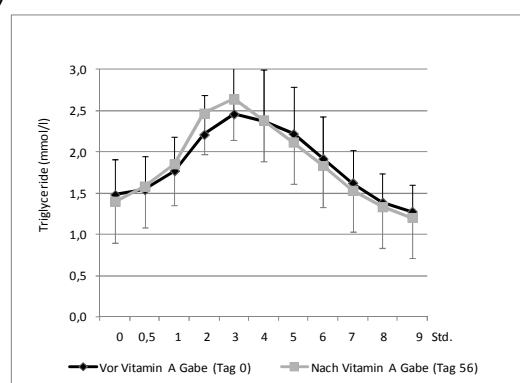
6c) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

6d) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

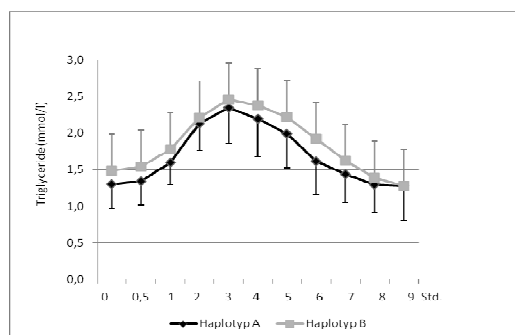
6a)



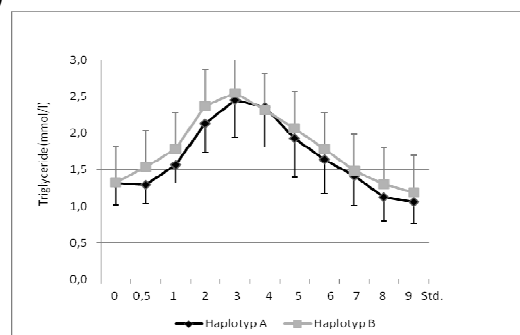
6b)



6c)



6d)



Diese Verläufe wurden bestätigt durch den statistischen Vergleich der Triglycerid-Maximalwerte als auch der „Area under the curve“ (AUC), und zwar sowohl für den Vergleich der Werte vor und nach Vitamin A Intervention für die einzelnen Haplotypen (Tab. 8 und 9), als auch für den direkten Vergleich der Haplotypen untereinander (Tab. 10 und 11).



Tab. 8: Verlauf der postprandialen Triglycerid-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp A (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Triglycerid-Maximalwert (mmol/l)	2,14	1,49	2,49	1,83	0,841
Triglycerid-AUC (mmol/l x h)	14,25	13,28	15,00	12,02	0,841

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.9: Verlauf der postprandialen Triglycerid-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp B (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Triglycerid-Maximalwert (mmol/l)	2,12	1,57	2,60	1,79	0,520
Triglycerid-AUC (mmol/l x h)	13,21	10,42	16,06	10,83	0,821

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.10: Verlauf der postprandialen Triglycerid-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 0)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Triglycerid-Maximalwert (mmol/l)	2,14	1,49	2,12	1,57	0,882
Triglycerid-AUC (mmol/l x h)	14,25	13,28	13,21	10,42	0,755

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.11: Verlauf der postprandialen Triglycerid-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 56)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Triglycerid-Maximalwert (mmol/l)	2,49	1,83	2,60	1,29	0,579
Triglycerid-AUC (mmol/l x h)	15,00	12,02	16,06	8,95	0,394

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, AUC = „Area under the curve“

#### 4.2.2 Freie Fettsäuren-Verlauf während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B

Die freien Fettsäuren im postprandialen Belastungstest lagen nach Vitamin A Gabe für beide Haplotypen etwas niedriger als vor der Gabe. Bei dem Vergleich der Haplotypen untereinander ergab sich kein Unterschied, weder vor, noch nach Vitamin A Gabe (Abb. 7 a–d).

Abb. 7: Verlauf der freien Fettsäuren während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall)

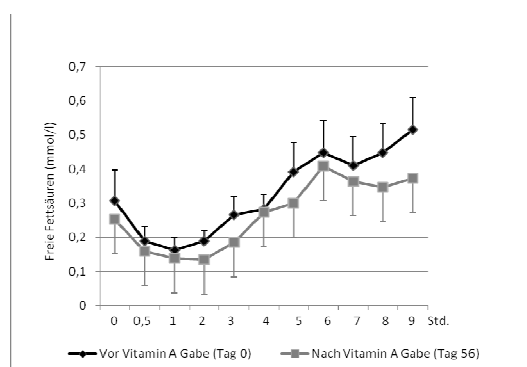
7a) FABP2-Promoter Haplotyp A vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

7b) FABP2-Promoter Haplotyp B vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

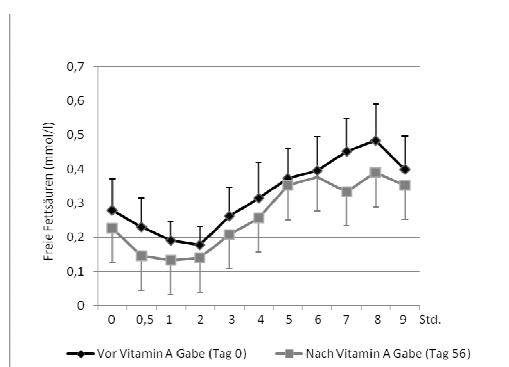
7c) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

7d) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

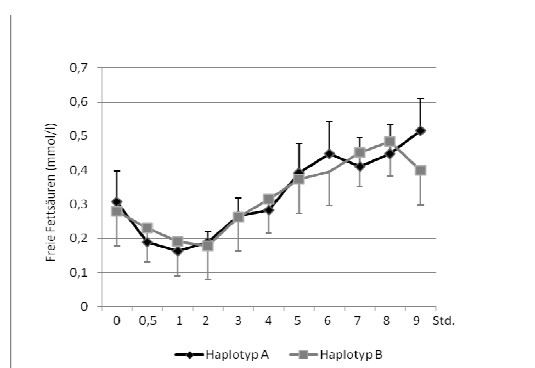
7a)



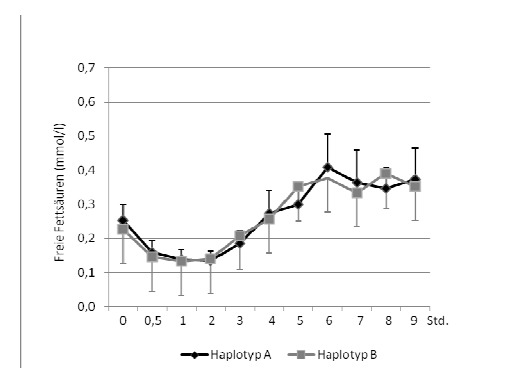
7b)



7c)



7d)



Maximalwerte als auch die „Area under the curve“ (AUC) bestätigten die tendenziell niedrigeren Werte nach Vitamin A Gabe wenigstens für den Haplotyp A (Tab. 12 und 13), erreichten aber keine statistische Signifikanz. Beim Vergleich der Haplotypen untereinander vor bzw. nach Vitamin A Gabe ergab sich wiederum kein messbarer Unterschied (Tab. 14 und 15).

Tab.12: Verlauf der postprandialen, freien Fettsäuren während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp A (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
FFS-Maximalwert (mmol/l)	0,62	0,32	0,46	0,22	0,071
FFS-AUC (mmol/l x h)	3,11	1,17	2,29	0,69	0,059

FFS = Freie Fettsäuren, IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.13: Verlauf der postprandialen, freien Fettsäuren während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n = 21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp B (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
FFS-Maximalwert (mmol/l)	0,61	0,44	0,49	0,13	0,313
FFS-AUC (mmol/l x h)	2,46	1,95	2,42	1,23	0,140

FFS = Freie Fettsäuren, IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.14: Verlauf der postprandialen, freien Fettsäuren während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 0)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
FFS-Maximalwert (mmol/l)	0,62	0,32	0,61	0,44	0,498
FFS-AUC (mmol/l x h)	3,11	1,17	2,46	1,95	0,481

FFS = Freie Fettsäuren, IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.15: Verlauf der postprandialen, freien Fettsäuren während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 56)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
FFS-Maximalwert (mmol/l)	0,46	0,22	0,49	0,13	0,524
FFS-AUC (mmol/l x h)	2,29	0,69	2,42	1,23	0,807

FFS = Freie Fettsäuren, IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, AUC = „Area under the curve“

#### 4.2.3 Glukose - Verlauf während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B

Auch die Glukose-Verläufe während des postprandialen Belastungstests waren für beide Haplotypen vor und nach Vitamin A Gabe, als auch untereinander identisch (Abb. 8 a – d).

Abb. 8: Verlauf der Glukose-Werte während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall)

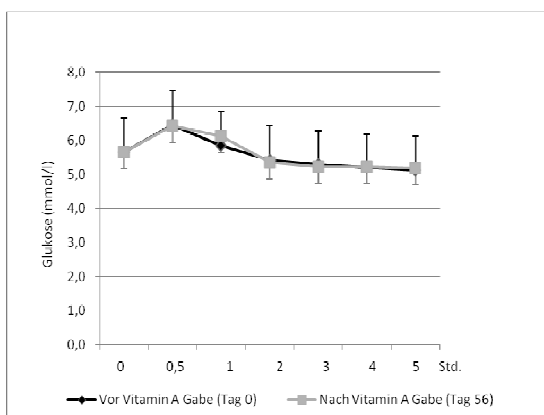
8a) FABP2-Promoter Haplotyp A vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

8b) FABP2-Promoter Haplotyp B vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

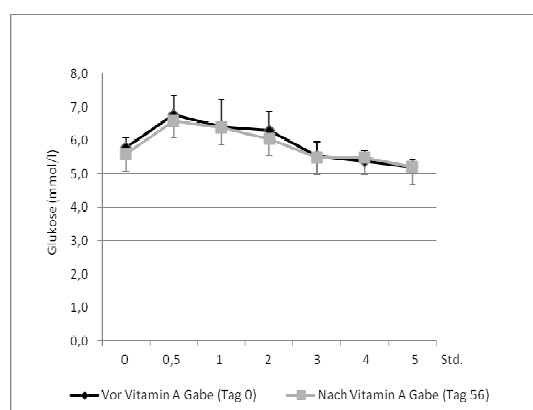
8c) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

8d) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

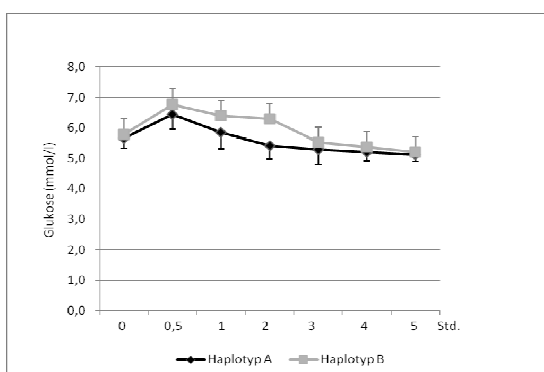
8a)



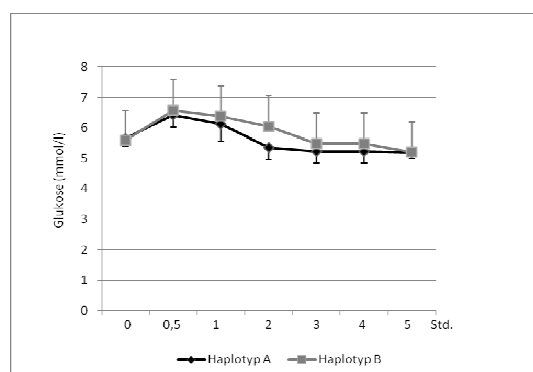
8b)



8c)



8d)



Dies wurde durch den statistischen Vergleich der Maximal- und AUC-Werte (Tab. 16 – 19) bestätigt.

Tab.16: Verlauf der postprandialen Glukose-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp A (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Glukose-Maximalwert (mmol/l)	6,41	1,73	6,44	1,47	0,421
Glukose-AUC (mmol/l x h)	27,95	4,40	28,02	4,61	0,904

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.17: Verlauf der postprandialen Glukose-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp B (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Glukose-Maximalwert (mmol/l)	7,28	2,38	6,71	2,12	0,357
Glukose-AUC (mmol/l x h)	28,89	5,99	27,85	5,80	0,205

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.18: Verlauf der postprandialen Glukose-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 0)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Glukose-Maximalwert (mmol/l)	6,41	1,73	7,28	2,38	0,297
Glukose-AUC (mmol/l x h)	27,95	4,40	28,89	5,99	0,113

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.19: Verlauf der postprandialen Glukose-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 56)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Glukose-Maximalwert (mmol/l)	6,44	1,47	6,71	2,12	0,597
Glukose-AUC (mmol/l x h)	28,02	4,61	27,85	5,80	0,490

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, AUC = „Area under the curve“

#### 4.2.4 Insulin-Verlauf während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B

Die Insulin-Werte während des postprandialen Belastungstests lagen für den Haplotyp B primär etwas höher als für den Haplotyp A und fielen nach Vitamin A Gabe auf die Größenordnung des Haplotyp A ab. Für den Haplotyp A war kein Vitamin A Effekt zu verzeichnen (Abb. 9 a–d).

Abb. 9: Verlauf der Insulin-Werte im oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall)

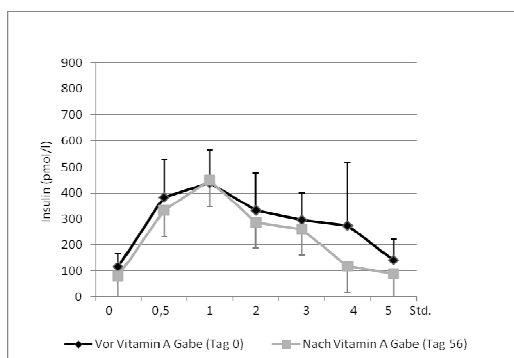
9a) FABP2-Promoter Haplotyp A vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

9b) FABP2-Promoter Haplotyp B vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

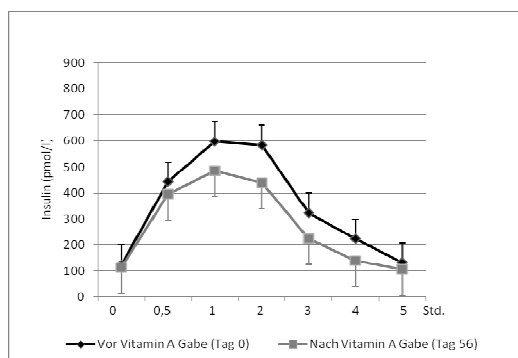
9c) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

9d) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

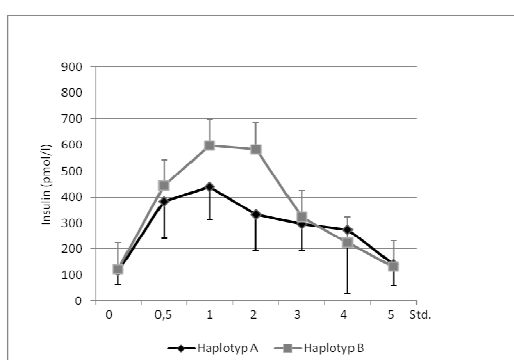
9a)



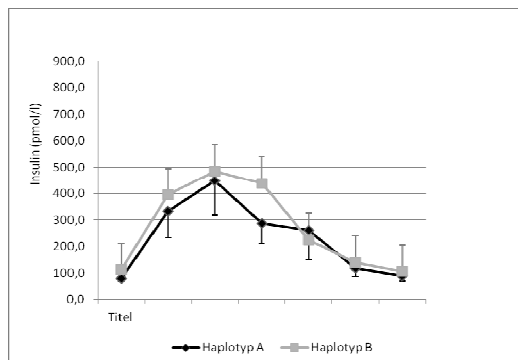
9b)



9c)



9d)



Bei der statistischen Analyse erreichte der Vitamin A bedingte Abfall der Insulinwerte bei Haplotyp B unter Berücksichtigung der AUC-Werte mit einem p-Wert von 0,048 in der Tat eine, wenn auch nur schwache Signifikanz. Alle anderen Unterschiede ließen sich bei hohen Varianzen statistisch nicht untermauern (Tab. 20 – 23).

Tab.20: Verlauf der postprandialen Insulin-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp A (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Insulin-Maximalwert (pmol/l)	515,32	554,21	443,51	502,55	0,334
Insulin-AUC (pmol/l x h)	1488,31	1098,00	1030,29	796,56	0,091

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.21: Verlauf der postprandialen Insulin-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp B (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Insulin-Maximalwert (pmol/l)	537,06	626,44	471,84	433,04	0,156
Insulin-AUC (pmol/l x h)	1489,01	1481,95	1112,77	975,30	0,048

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.22: Verlauf der postprandialen Insulin-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 0)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Insulin-Maximalwert (pmol/l)	515,32	554,21	537,06	626,44	0,715
Insulin-AUC (pmol/l x h)	1488,31	1098,00	1489,01	1481,95	0,323

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, AUC = „Area under the curve“

Tab.23: Verlauf der postprandialen Insulin-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 56)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Insulin-Maximalwert (pmol/l)	443,51	502,55	471,84	433,04	0,933
Insulin-AUC (pmol/l x h)	1030,29	796,56	1112,77	975,30	0,673

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, AUC = „Area under the curve“

#### 4.2.5 Verlauf der Insulin-Resistenz (HOMA) während des Belastungstests (oMTT) vor und nach Vitamin A für Haplotyp A versus B

Schließlich wurde auch noch die Insulin-Resistenz (HOMA) mit Hilfe des postprandialen Belastungstests (oMTT) für beide Haplotypen vor und nach Vitamin A Gabe analysiert (Abb. 10 a–d).

Abb. 10: Verlauf der Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall)

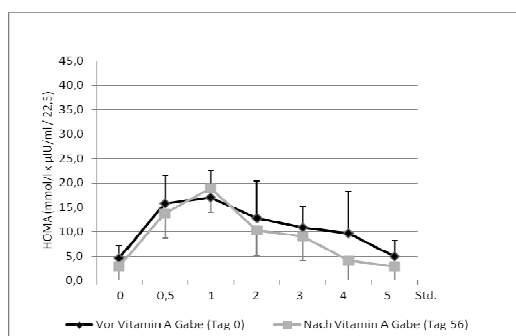
10a) FABP2-Promoter Haplotyp A vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

10b) FABP2-Promoter Haplotyp B vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

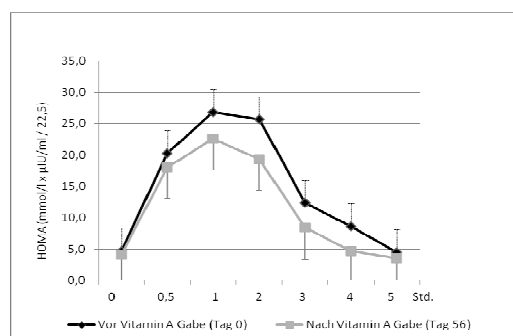
10c) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

10d) FABP2-Promoter Haplotyp A versus B nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

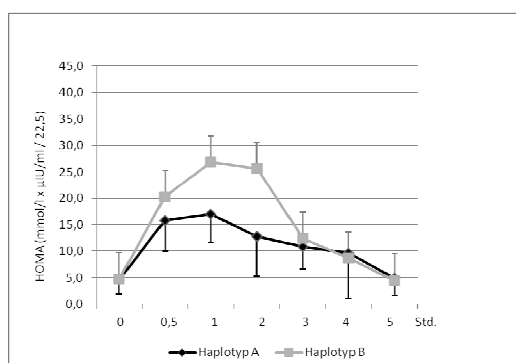
10a)



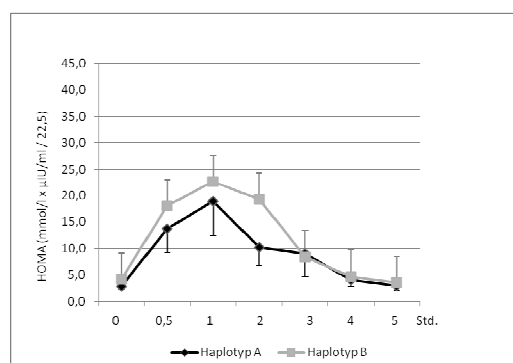
10b)



10c)



10d)



Hier wurde unter Berücksichtigung der AUC der positive Vitamin A Effekt auf den Haplotyp B mit einem p-Wert von 0,025 noch etwas deutlicher, als bei der alleinigen Betrachtung der Insulin-Werte. Alle anderen Vergleiche zeigten wiederum keine statistisch belegbaren Unterschiede (Tab. 24 – 27).



Tab.24: Verlauf der postprandialen Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp A (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
HOMA-Maximalwert (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	26,06	25,63	19,13	24,69	0,744
HOMA-AUC (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	54,57	51,16	39,43	42,97	0,215

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, HOMA = „Homeostasis Model Assessment“ (Insulin-Resistenz), AUC = „Area under the curve“

Tab.25: Verlauf der postprandialen Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp B (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
HOMA-Maximalwert (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	26,13	39,32	20,54	23,50	0,135
HOMA-AUC (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	54,75	72,01	43,59	48,32	0,025

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, HOMA = „Homeostasis Model Assessment“ (Insulin-Resistenz), AUC = „Area under the curve“

Tab.26: Verlauf der postprandialen Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0)

Parameter	Haplotyp A (Tag 0)		Haplotyp B (Tag 0)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
HOMA-Maximalwert (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	26,06	25,63	26,13	39,32	0,409
HOMA-AUC (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	54,57	51,16	54,75	72,01	0,180

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, HOMA = „Homeostasis Model Assessment“ (Insulin-Resistenz), AUC = „Area under the curve“

Tab.27: Verlauf der postprandialen Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56)

Parameter	Haplotyp A (Tag 56)		Haplotyp B (Tag 56)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
HOMA-Maximalwert (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	19,13	24,69	20,54	23,50	0,828
HOMA-AUC (mmol/l x $\mu$ IU/ml / 22,5)	39,43	42,97	43,59	48,32	0,515

IQR = Interquartildistanz, p-Wert = Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test, HOMA = „Homeostasis Model Assessment“ (Insulin-Resistenz), AUC = „Area under the curve“

## 5. Diskussion

### 4.3 Grundlagen

Fettsäuren bindende Proteine (FABPs) spielen eine wichtige Rolle bei der Resorption, dem Transport und der Verstoffwechslung von Fettsäuren. Hierzu gehört auch das intestinale FABP2 (Sweetser, Heuckeroth et al. 2007). Polymorphismen des kodierenden Gens, wie der 54 A>T Polymorphismus in Exon 2, aber auch solche in der Promoter-Region des FABP2 Gens stellen Prädispositionen dar, welche mit erhöhten postprandialen Triglyceriden, freien Fettsäuren und Insulinresistenzen einhergehen können und somit zum „Metabolischen Syndrom“ (Übergewicht, Insulinresistenz bzw. Typ2-Diabetes, Bluthochdruck, erhöhte Nüchterntriglyceride und Dyslipoproteinämie) beitragen können (Pratley et al. 2000, Agren et al. 2001, Baier et al. 1995, Baier et al. 1996, Weiss et al. 2002, Galluzzi 2001). Einzelstrang-Polymorphismen im Promoter des FABP2 Gens beinhalten verschiedene Insertionen/Deletionen und SNPs, die ein Kopplungsungleichgewicht (linkage disequilibrium) aufweisen und aus denen dann die zwei Haplotypen A und B resultieren (Geschonke et al. 2002, Damcott et al. 2003). Der Haplotyp B zeigt bei Frauen einen erhöhten „Body Mass Index“ [BMI] (Damcott et al. 2003), bei Männern eine erhöhte LDL/HDL-Ratio (Helwig et al. 2007). Besonders kritisch erscheint dabei die Kombination aus homozygotem Haplotyp B und einer Homozygotie für den 54 A>T Polymorphismus, mit Hypertriglyceridämie und Insulinresistenz zu sein. In der Promoter-Region des FABP2 Gens finden sich Bindungsstellen für Retinoide, welche die Promoter-Aktivität beeinflussen können (Schachtrup et al. 2004), so z.B. als Kofaktor für nukleäre Rezeptoren wie den „peroxisome proliferator activated receptor“ [PPARs]. Die Aktivität des FABP2-Promoter Haplotyps B ist offensichtlich eher durch PPAR-Liganden beeinflussbar, als dies beim Haplotyp A der Fall ist (Helwig et al. 2007).

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, zwei Kohorten mit Vitamin A zu behandeln, welche entweder homozygot für den FABP2-Promoter Haplotyp A oder Haplotyp B waren. Dabei sollte die Hypothese geklärt werden, ob sich die Nüchtern- und postprandialen

Parameter des Fett- und Glukose-Stoffwechsels in den beiden Gruppen grundsätzlich unterscheiden oder durch die Gabe von Vitamin A unterschiedlich beeinflussbar sind.

Zurückgegriffen werden konnte auf ein klinisch und genetisch bereits gut definiertes Kollektiv von 40 männlichen Probanden im Alter von 46 - 67 Jahren aus der MICK-Kohorte der Region Kiel (siehe 3.1). Diese wurden nach entsprechender Aufklärung und Einwilligung 8 Wochen lang mit Vitamin A in einer Dosierung von 5000 IE/Tag behandelt und unterzogen sich vor und nach Vitamin A Gabe einem oralen metabolischen Toleranz-test (oMTT). Erfasst wurden neben einigen klinischen Parametern Nüchtern- und postprandiale Werte des Fett- und Zuckerstoffwechsels.

19 Probanden gehörten dabei der Haplotyp Gruppe A, 21 der Haplotyp Gruppe B an. Es unterschieden sich die beiden Untersuchungsgruppen nicht hinsichtlich Alter, „body mass index“ (BMI), „waist-to-hip ratio“ (WHR) oder Cholesterin- und HDL/LDL-Werte.

#### 4.4 Nüchternparameter

Es zeigten sich weder vor, noch nach der 8wöchigen Gabe von Vitamin A signifikante Unterschiede bei den Nüchtern-Parametern von Triglyceriden, freien Fettsäuren, Insulin oder Glukose bei Haplotyp A und Haplotyp B sowohl im Verlauf, als auch im Vergleich der beiden Haplotypen untereinander.

Ebenso war keine signifikante Beeinflussung des Insulin-Metabolismus bzw. der Insulinresistenz zu beobachten.

Das betraf auch die zusätzlich erfassten Parameter Cholesterin, HDL und LDL sowie die morphometrischen Daten BMI und WHR, für die Hinweise existieren, dass sich die FABP2-Promoter Haplotypen per se und z.T. geschlechtsspezifisch unterscheiden würden (Baier et al. 1995, Hegele et al. 1996, Ågren et al. 1998, Carlson et al. 1985, Cambien et al. 1986, Sweetser et al. 1987, Vassileva et al. 2000, Galluzi et al. 2001, Zimmermann et al.2002).

Insgesamt bleibt die Literatur jedoch kontrovers und zahlreichen anderen Gen-Polymorphismen des FABP2-Gens als auch anderen Fettsäure-bindenden Proteinen werden eine größere Bedeutung zugemessen (Böhme et al. 2009, Ruchat et al. 2010, Zhao et al. 2010, Bu et al. 2011, de Luis et al. 2011, Mansego et al. 2012).

Überzeugender noch ist die Annahme, dass eine Kombination aus dem Thr54-Polymorphismus in Exon 2 des FABP2-Gens und dem Promoter Haplotyp B eine besonders kritische Konstellation darstellt (Helwig et al. 2005).

#### 4.5 Postprandiale Parameter

Wichtiger als die Fragen nach den Nüchternparametern, hatte diese Arbeit zum Ziel, die postprandialen Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels für die beiden FABP2-Promoter Haplotypen zu erfassen.

Hierzu wurde mit dem oralen metabolischen Toleranztest (oMTT) ein gut standardisierter Belastungstest herangezogen (s. Absatz 3.3), um zu prüfen, ob sich nach der Vitamin A Gabe ein unterschiedliches Ansprechen der beiden Haplotypen auf die belastungsbedingten Anstiege ergeben würde, wie sich theoretisch anhand der in-silico Analyse annehmen ließ (Helwig et al. 2007).

Im Focus standen dabei zunächst die Anstiege für Triglyceride und freie Fettsäuren: Hier fand sich unter Heranziehung der Kurvenverläufe und Berechnung der Maximalwerte, als auch der Kurvenfläche (AUC) weder ein Haplotyp-spezifischer Unterschied noch ein differentes Ansprechen auf Vitamin A. Auch dies entsprach, wie oben schon zitiert, nicht allen Beobachtungen der widersprüchlich geführten Diskussion, jedenfalls soweit es ausschließlich den FABP2-Promoter Haplotyp betraf. Publierte Untersuchungen zu Vitamin A in-vivo Effekte auf die Triglycerid-Spiegel lagen im Zusammenhang mit Genpolymorphismen der Fettsäure-bindenden Proteine bis dato nicht vor, sodass hier kein Vergleich gezogen werden kann. Überraschender war ein offensichtlich direkter Effekt der Vitamin A Gaben auf Insulin und Insulinresistenz (HOMA), nachdem hier sowohl die Maximal- als auch die AUC-Werte nach Vitamin-Intervention niedriger als vor der Gabe lagen, welches bei beiden Haplotypen zu beobachten war, allerdings nur für den Promoter Haplotyp B eine moderate statistische Signifikanz erreichte.

Nachdem der Insulin/HOMA-Effekt bei beiden Haplotypen ähnlich war und sich gleichzeitig kein Vitamin A Effekt auf die Triglyceride oder freien Fettsäuren nachweisen ließ, darf angenommen werden, dass dieses Ansprechen nicht über Rezeptoren des

FABP2-Promoters vermittelt war, sondern andere Mechanismen zugrunde liegen. Hierfür existieren tierexperimentelle Daten, die diese Annahme stützen (Berry und Noy 2009). Dass der positive Vitamin A Effekt deutlicher den FABP2-Promoter Haplotyp B betraf, könnte zu der Beobachtung eines eher verminderten Typ2-Diabetes Risikos für diesen Haplotyp passen (Li et al. 2006, Rubin et al. 2012).

#### 5.4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Der in dieser Studie propagierte, alleinige Einfluss der FABP2-Promoter Haplotypen A und B auf die Nüchtern- oder postprandialen Triglyceridwerte ließ sich nicht verifizieren. Dabei wurde in dieser Arbeit ausschließlich der Promoter-Polymorphismus betrachtet und keine Kombinationen mit anderen Genveränderungen, wie z.B. dem Thr54-Polymorphismus des FABP2 bei Haplotyp B. Hier wird es auch in Zukunft nötig sein, bei den vielen exogenen Faktoren und genetischen Prädispositionen für ein metabolisches Syndrom die in Frage kommenden Proteine und Mutationen der kodierenden Gene einzugrenzen, die alleine oder in Kombination die gewichtigste Risikokonstellation darstellen.

Hinsichtlich der Hauptfragestellung eines spezifischen Vitamin A Effekts auf Triglyceride und freie Fettsäuren, wie in virtuellen Analysen vermutet, konnte mit dieser bis dato einzigen Studie dieser Art ebenfalls kein Nachweis erbracht werden.

Dies führt zu zahlreichen Überlegungen, z.B. über die in-vivo anstelle der theoretischen (in-silico) Funktion der Vitamin A Rezeptoren auf den FABP2-Promoter Regionen. Auf eine Kontrollgruppe wurde in dem dargestellten Studiendesign verzichtet, weitere Parameter wie Resistin, Leptin, Retinsäure etc. wurden laborchemisch nicht bestimmt. Es kann diskutiert werden, inwiefern die Darreichungsform von Vitamin A als Kapsel optimiert werden könnte, z.B. in Form der direkten oralen Einnahme von Retinsäure (Felipe et al. 2004), auch über einen längeren Zeitraum. FABP2 ist einer von vielen Faktoren, welcher in den Transport von Fetten eingreift und damit Einfluss auf das metabolische Syndrom haben kann. Zur genaueren Differenzierung der Beeinflussung müssen außerdem verschiedene geschlechterspezifische sowie ethnische Unterschiede zusätzlich berücksichtigt werden.

Der offensichtliche und positive Effekt auf die Insulinresistenz als auch diskrete, hier nicht gezeigte Transaminasenerhöhungen, legen nahe, dass die Studienmedikation von den Probanden eingenommen wurde. Gerade der vermeintlich positive Effekt auf die Glukose-Utilisation macht es attraktiv, diesem Effekt in einer größeren Kohorte noch einmal nachzugehen. Dabei muss die Frage offen bleiben, inwieweit das Vitamin A bei der Breite der Wirkung, der potentiellen Hypervitaminose, der Funktion als klassischem Radikalfänger und der generell guten Vitaminversorgung in den Wohlstandsnationen, die am meisten unter dem metabolischen Syndrom zu leiden haben, tatsächlich ein gutes Therapeutikum oder Prophylaktikum zusammen mit anderen diätetischen Maßnahmen darstellt.

## Zusammenfassung

Zu den Erkrankungen mit hoher Morbiditäts- und Mortalitätsrate gehört das metabolische Syndrom mit seinen Symptomen des Übergewichts, erhöhten Nüchtern-Triglyceriden, Dislipoproteinämie, einer gestörten Glukosetoleranz, dem Typ2-Diabetes mellitus und Bluthochdruck. Es gibt verschiedene Faktoren, welche die Entstehung eines metabolischen Syndroms begünstigen. Dazu gehören genetische- und Umweltfaktoren, sowie verschiedene Störungen im Insulin bzw. Glukose- und Fettstoffwechsel.

Ein relevantes, den Fettstoffwechsel beeinflussendes Protein ist das in den Transport von freien Fettsäuren involvierte, intestinale FABP oder FABP2. Die Entdeckung eines FABP2-Promoter-Polymorphismus, welcher durch seinen Aufbau im Auftreten zweier Haplotypen A und B resultiert, zog weitere Erkenntnisse nach sich, denn beide Haplotypen unterscheiden sich in ihren Eigenschaften. Der Haplotyp A ist mit einer erhöhten, der Haplotyp B mit einer erniedrigten Promotor-Aktivität assoziiert. Damit sind Veränderungen von BMI sowie Cholesterin- und Triglyceridwerten bedingt (Damcott et al. 2002), welche als Parameter beim metabolischen Syndrom eine tragende Rolle spielen.

Anhand von in-silico Analysen konnten putative Bindungsstellen für Retinoide in der Promoter-Region des FABP2-Gens in Abhängigkeit von der Promotervariabilität ausgemacht werden. Retinoide sind Metaboliten von Vitamin A. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Studie die Auswirkungen einer achtwöchigen Vitamin A Gabe in einer Dosierung von 5000 IE/Tag auf den Insulin-/Glukose- und Fettstoffwechsel von 40 männlichen Probanden der beiden FABP2-Promoter Haplotypen (homozygoter Haplotyp AA 19, homozygoter Haplotyp BB 21) untersucht, mit folgenden Ergebnissen:

- 1) Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Haplotypen A und B für die Nüchternparameter von Triglyceriden, freien Fettsäuren, Glukose, Insulin und des Insulinresistenz (HOMA) vor und nach der Vitamin A Intervention festgestellt.
- 2) Auch die postprandialen Fettwerte zeigten nach Belastung mittels oralem, metabolischem Toleranztest (oMTT) keinen Unterschied zwischen den beiden Haplotypen und diesbezüglich kein unterschiedliches Ansprechen auf Vitamin A.

- 3) Bei beiden Haplotypen war postprandial ein Abfall der Insulinwerte und Insulinresistenz (HOMA) unter Vitamin A Gabe zu verzeichnen, messbar anhand der Maximalwerte und Kurvenfläche (AUC). Dieser Abfall zeigte sich ausgeprägter und statistisch signifikant für den Haplotyp B. Zwischen den Haplotypen bestand kein Unterschied. Der Mechanismus dieses Vitamin A Effekts muss offen bleiben.



## Literaturverzeichnis

Agellone LB, Toth MJ, Thomson AB (2002) Intracellular lipid binding proteins of the small intestine. *Mol Cell Biochem* 239: 79-82

Ågren JJ, Valve R, Vidgren H, Laakso M, Uusitupa M (1998) Postprandial lipemic response is modified by the polymorphism at codon 54 of the fatty acid binding protein 2 gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 1606-1610

Agren JJ, Vidgren HM, Valve RS, Laakso M, Uusitupa MI (2001) Postprandial responses of individual fatty acids in subjects homozygous for the threonine- or alanine-encoding allele in codon 54 of the intestinal fatty acid binding protein 2 gene. *Am J Clin Nutr* 73: 31-35

Aleman G, Torres N, Tovar AR (2004) Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in obesity and insulin resistance development. *Rev Invest Clin* 56: 351-367

Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM; Third national health and nutrition examination survey (NHANES III); National cholesterol education program (NCEP) (2003) NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes* 52: 1210-1214

Aranda A, Pascual A (2001) Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev* 81: 1269-1304

Atkins GB, Xiao H, Guenther MG, Rachez C, Freedman LP, Lazar MA (1999) Coactivators for the orphan nuclear receptor ROR $\alpha$ . *Mol Endocrin* 99: 1550-1557

Auwerx J (1999) PPAR $\gamma$ , the ultimate thrifty gene. *Diabetologia* 42: 1033-1049

Baier LJ, Bogardus C, Saccettini JC (1996) A polymorphism in the human intestinal fatty acid binding protein alters fatty acid transport across Caco-2 cells. *J Biol Chem* 271: 10892-10896

Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni PA, Mochizuki H, Bennett PH, Bogardus C, Prochazka M (1995) An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation and insulin resistance. *J Clin Invest* 95: 1281-1287

Banting FG, Best CH, Collip JB, Campbell WR, Fletcher AA (1991) Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus: preliminary report. 1922. *CMAJ* 145: 1281-1286

Berry DC, Noy N (2009) All-trans-retinoic acid represses obesity and insulin resistance by activating both peroxisome proliferation-activated receptor  $\alpha$  and retinoic acid receptor. *Mol Cell Biol* 29: 3286-3296

Besnard P, Niot I (2000) Role of lipid-binding proteins in intestinal absorption of long-chain fatty acid. In: A.B. Christophe, S. De Vriese (eds): Fat digestion and absorption. AOCS Press, Champaign, IL, USA: pp 96-118

Besnard P, Niot I, Poirier H, Clement L, Bernard A (2002) New insights into the fatty acid-binding protein (FABP) family in the small intestine. *Mol Cell Biochem* 239: 139-147

Blomhoff R, Helgerud P, Rasmussen M, Berg T, Norum KR (1992) In vivo uptake of chylomicron ( $^3\text{H}$ )retinyl ester by rat liver. Evidence for retinol transfer from parenchymal to nonparenchymal cells. *Proc Nat Acad Sci* 79: 7326-7330

Boden G (1996) Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes* 45: 3-10

Böhme M, Grallert H, Klapper M, Gieger C, Fischer A, Heid I, Wichmann HE, Döring F, Illig T (2009) Association between functional FABP2 promoter haplotypes and body mass index: analyses of 8072 participants of the KORA cohort study. *Mol Nutr Food Res* 53: 681-685.

Bonet ML, Ribot J, Felipe F, Palou A (2002) Vitamin A and the regulation of fat reserves. *Cell Mol Life Sci* 60: 1311-1321

Bruckert E, Dejager S (1994) Lipoprotein lipase: a key enzyme of lipid metabolism. *Rev Prat* 44: 1487-1493

Bu L, Salto LM, De Leon KJ, De Leon M (2011) Polymorphisms in fatty acid binding protein 5 show association with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 92: 82-91.

Cambien F, Jaqueson A, Richard JL, Warnet JM, Ducimetiere P, Claude JR (1986) Is the level of serum triglyceride a significant predictor of coronary death in "normocholesterolemic" subjects? The Paris Prospective Study. *Am J Epidemiol* 124: 624-632

Carlson LA, Böttiger LE, Ähfeldt PG (1985) Risk factors for ischemic heart disease in men and woman: Results of a 19-year follow-up of the Stockholm Prospective Study. *Acta Med Scand* 218: 207-211

Castelli WP (1986) The triglycerid issue: a view from Farmingham. *Am Heart J* 112: 432-437

Chambon P (1996) A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 10: 940-954

Ciaraldi TP, Cha B, Park K, Carter L, Mudaliar SR, Henry RR (2002) Free fatty acid metabolism in human skeletal muscle is regulated by PPAR $\gamma$  and RXR agonists. *Ann NY Acad Sci* 967: 66-70

Cohn SM, Simon TC, Roth KA, Birkenmeier EH, Gordon JI (1992) *J Cell Biol.* 119: 27-44

Colditz GA, Willett WC, Rotnitzky A, Manson JE (1995) Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern. Med* 122: 481-486

Coughlan BJ, Sorrentino MJ (2000) Does hypertriglyceridemia increase risk for CAD? Growing evidence suggests its play a role. *Postgrad Med* 108: 77-84

Curtis LK, Black AS, Tagagi Y., Plow EF (1987): A new mechanism for foam cell generation in atherosclerotic lesions. *J. Clin. Invest.* 80: 367-373

Damcott CM, Feingold E, Moffett S, Barmada MM, Marshall JA, Hamann RF, Ferrell RE (2003) Variation in the FABP2 promoter alters transcriptional activity and is associated with body compositions and plasma lipid levels. *Human Genet* 112: 610-616

Davies MJ, Thomas AN (1984) Thrombosis and acute coronary-artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *N Engl J Med* 310: 1137-1140

Davies, MJ., Thomas AC (1985) Plaque fissuring - the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J* 53: 363-373

Dawson MI, Zhang X (2002) Discovery and design of retinoid acid receptor and retinoid X receptor class- and subtype-selective synthetic analogs of all-trans-retinoic acid and 9-cis-retinoic acid. *Curr Med Chem* 9: 623-637

DeFronzo RA, Cooke CR, Andres R, Faloona GR, Davis PJ (1975) The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium and phosphate in man. *J Clin Invest* 55: 845-855

DeFronzo RA, Ferrannini E (1991) Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diab Care* 14: 173-194

de Luis DA, Gonzalez Sagrado M, Aller R, Izaola O, Conde R (2011) Metabolic syndrome and ALA54THR polymorphism of fatty acid-binding protein 2 in obese patients. *Metabolism*.60: 664-668

DiSepio D, Malhotra M, Chandraratna RAS, Nagpal S (1997) Retinoid acid receptor-nuclear factor-interleukin 6 antagonism: a novel mechanism of retinoid-dependent inhibition of a keratinocyte hyperproliferative differentiation marker. *J Biol Chem* 272: 25555-25559

Faergeman O, Grundy SM (2002) Metabolic disorders. In: Wass JAH, Shalet SM, Gale E, Amiel SA (eds): Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes, pp 1531

Fajas L, Auboeuf D, Raspe E, Schonjans K, Lefebvre AM, Saladin R, Najib J, Laville M, Fruchart J-C, Deeb S, Vidal-Puig A, Flier J, Briggs MR, Staels B, Vidal H, Auwerx J (1997) The organization, promoter analysis and expression of the human PPAR-gamma gene. *J Biol Chem* 272: 18779-18789

Felipe F, Bonet ML, Ribot J and Palou A (2004) Modulation of resistin expression by retinoic acid and vitamin A status. *Diabetes* 53: 882-889

Flack JM, Liu K, Savage P et al (1991) Baseline fasting insulin predicts 2 year blood pressure change in young adults: the CARDIA study. *Circulation* 83: 724

Galluzzi JR, Cupples LA, Otwos JD, Wilson PW, Schaefer EJ, Ordovas JM (2001) Association of the A/T54 polymorphism in the intestinal fatty acid-binding protein with variation in plasma lipids in the Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis* 159: 417-424

Gampe RT, Montana VG, Lambert MH, Miller AB, Bledsoe RK, Milburn MV, Kliewer SA, Wilson TM, Xu HE (2000) Asymmetry in the PPAR-gamma/RXR-alpha crystal structure reveals the molecular basis of heterodimerization among nuclear receptors. *Molec Cell* 5: 545-555

Geschonke K, Klempt M, Lynch N, Schreiber S, Fenselau S, Schrezenmeir J (2002) Detection of a promoter polymorphism in the gene of intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) *Ann NY Acad Sci* 967: 548-553

Goodman DS (1984) Overview of current knowledge of metabolism of vitamin A and carotenoids. *J Natl Cancer Inst* 73: 1375-1379

Griffin MF, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goodyear LJ, Kraegen EW, White MF, Shulman GI (1999) Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signalling cascade. *Diabetes* 48: 1270-1204

Guarascio P, Portmann B, Visco G, Williams R (1983) Liver damage with reversible portal hypertension from Vitamin A intoxication: demonstration of Ito cells. *J Clin Pathol* 36:769-771

Gudas LJ, Sporn MB, Roberts AB (1994) Cellular biology and biochemistry of the retinoids. In: Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS (eds): *The Retinoids. Biology, Chemistry and Medicine*, 2<sup>nd</sup> ed, Raven Press, New York, pp 443-520

Hamilton JA, Guo W, Kamp F (2002) Mechanism of cellular uptake of lang-chain fatty acids: Do we need cellular proteins? *Mol Cell Biochem* 239: 17-23

Hamilton JA, Kamp F (1999) How are free fatty acids transported in membrans? Is it by proteins or by free diffusion through the lipids? *Diabetes* 48: 2255-2269

Hanhoff T, Lucke C, Spener F (2002) Insights into binding of fatty acids by fatty acid binding proteins. *Mol Cell Biochem* 239: 45-54

Hautekeete ML, Geerts A (1997) The hepatic stellate (Ito) cell: its role in human liver disease. *Virchows Arch* 430: 195-207

Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, Sadikian S, Connelly PW, Zinman B (1996) Genetic variation of intestinal fatty acid-binding protein associated with variations in body mass in aboriginal Canadians. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 4334-4337

Helwig U, Rubin D, Klapper M, Yun L, Hampe J, Schreiber S, Fölsch UR, Döring F, Schrezenmeir J (2005) Postprandial lipemia in persons with fatty acid binding protein 2 Ala54Thr polymorphism is influenced by gene variability in the FABP2 promoter region.

Helwig U, Rubin D, Klapper M, Li Y, Nothnagel M, Fölsch UR, Döring F, Schreiber S, Schrezenmeir J (2007) The association of fatty acid-binding protein 2 A54T polymorphism with postprandial lipemia depends on promoter variability. *Metabolism* 56: 723-731

Holvoet P, Kritchevsky SB, Tracy RP, Mertens A, Rubin SM, Butler J, Goodpaster B, Harris TB (2004) The metabolic syndrome, circulating oxidized LDL, and risk of myocardial infarction in well-functioning elderly people in the health, aging, and body composition cohort. *Diabetes* 53: 1068-1073

Illingworth DR, Connor WE (1987) Disorders of lipid metabolism. In: Felig P, Baxter JD, Broadus AE, Frohmann LA (eds): *Endocrinology and Metabolism*, 2<sup>nd</sup> ed, McGraw-Hill Book Company, New York, pp 1250-1062

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board (2001) *Dietary Reference Intakes: Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*. Nat Acad Press, Washington.

Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen MR, Groop L (2001) Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 24: 683-689

Kahn SE, McCulloch DK, Porte D Jr. (1997) Insulin secretion in the normal and diabetic human. In: Alberti P, Zimmet RA, DeFronzo KH (eds): *International Textbook of Diabetes mellitus*, 2<sup>nd</sup> ed, John Wiley & Sons Ltd, pp 337-338

Jiang G, Nepomuceno L, Hopkins K, Sladek FM (1995) Exclusive homodimerization of the orphan receptor hepatocyte nuclear factor-4 defines a new subclass of nuclear receptors. *Mol Cell Biol* 15: 5131-5143

Jonas J-C, Sharma A, Hasenkamp W, Ilkova H, Patanè G, Laybutt R, Bonner-Weir S, Weir GC (1999) Chronic hyperglycemia triggers loss of pancreatic  $\beta$  cell differentiation in an animal model of diabetes. *J Biol Chem* 274:14112-14121

Kahn R (2002) Disorders of fuel metabolism. In: Becker KL (ed): Principles and practices of endocrinology and metabolism, 3<sup>rd</sup> ed, Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 1303-1304

Kip KE, Marroquin OC, Kelley DE, Johnson BD, Kelsey SF, Shaw LJ, Rogers WJ, Reis SE (2004) Clinical importance of obesity versus the metabolic syndrome in cardiovascular risk in woman: a report from the Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study. *Circulation* 109: 706-713

Lampen A, Meyer S, Arnhold T, Nau H (2000) Metabolism of vitamin A and its active metabolite all-trans-retinoic acid in small intestinal enterocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 295: 979-985

Lebovitz HE (2002) Diabetes mellitus. In: Wass JAH, Shalet SM, Gale E, Amiel SA (eds): Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes, pp 1837

Leo MA and Lieber CS (1999) Alcohol, vitamin A, and  $\beta$ -carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. *Am J Clin Nutr* 69: 1071-1085

Levy E, Menard D, Delvine E, Stan S, Mitchell G, Lambert M, Ziv E, Feoli-Fonseca JC, Seidman E (2001) The polymorphism at codon 54 of the FABP2 gene increases fat absorption in human intestinal explants. *J Biol Chem* 276: 39679-39684

Li Y, Fisher E, Klapper M, Boeing H, Pfeiffer A, Hampe J, Schreiber S, Burwinkel B, Schrezenmeir J, Döring F (2006) Association between functional FABP2 promoter haplotype and type 2 diabetes. *Horm Metab Res* 38: 300-307.

Lieber CS (1991) Alcohol, liver, and nutrition. *J Am Coll Nutr* 10: 602-632

Lorenzo C, Williams K, Hunt KJ, Haffner SM (2007) Program-Adult Treatment Panel III, International Diabetes Federation, and World Health Organization Definitions of the Metabolic Syndrome as Predictors of Incident Cardiovascular Disease and Diabetes. *Diabetes Care* 30: 8 –13



Lowe JB, Sacchettini JC, Laposata M, McQuillan JJ, Gordon JI (1987) Expression of rat intestinal fatty acid-binding protein in *Escherichia coli*. Purification and comparison of ligand binding characteristics with that of *Escherichia coli*-derived rat liver fatty acid-binding protein. *J Biol Chem* 262: 5931-5937

Mangroo D, Trigatti BL, Gerber GE (1995) Membrane permeation and intracellular trafficking of long-chain fatty acids: insights from *Escherichia coli* and 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Cell Biol* 73: 223-234

Marín C, Pérez-Jiménez F, Gómez P, Delgado J, Paniagua JA, Lozano A, Cortés B, Jiménez-Gómez Y, Gómez MJ, López-Miranda J (2005) The Ala54Thr polymorphism of the fatty acid-binding protein 2 gene is associated with a change in insulin sensitivity after a change in the type of dietary fat. *Am J Clin Nutr* 82: 196-200

Nabeyrat E, Corroyer S, Epaud R, Besnard V, Cazals V, Clement A (2000) Retinoic acid-induced proliferation of lung alveolar epithelial cells is linked to p21 (CIP1) downregulation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 278: L42-50

Nagpal S, Cai J, Zheng T, Patel S, Masood R, Lin GY (1997) Retinoid antagonism of NF-IL6: insights into the mechanism of antiproliferative effects of retinoids in Kaposi's sarcoma. *Mol Cell Biol* 17: 4159-4168

Nagpal S, Chandraratna RAS (1996) Retinoids as anti-cancer agents. *Curr Pharmaceut Design* 2: 295-316

Nagpal S, Chandraratna RAS (1997) New dermatological agents for the treatment of psoriasis. A comprehensive review regarding the mechanism of retinoid action in psoriasis. *Annu Rep Med Chem* 32: 201-210

Nagpal S, Chandraratna RAS (1998) Tazarotene and other novel receptor- and function-selective retinoids. *Retinoids* 14: 2-6

Nagpal S, Chandraratna RAS (1998) Vitamin A and regulation of gene expression. *Clinical Nutrition and Metabolic Care* 4: 341-346

Nosedá A, Adler M, Ketelbant P, Baran D, Winand J (1985) Massive Vitamin A intoxication with ascites and pleural effusions. *J Clin Gastroenterol* 7: 344-349

Okosun IS, Prewitt TE, Cooper RS (1999) Abdominal obesity in the United States: prevalence and attributable risk of hypertension. *J Hum Hypertens* 13: 425-430

Penn R, Worthington DJ (1983) Is serum gamma-glutamyltransferase a misleading test? *BMJ* 286:531-535

Petkovich M, Brand NJ, Krust A, Chambon P (1987) A human retinoid acid receptor which belongs to the family of nuclear receptors. *Nature* 330: 444-450

Pietiläinen KH, Rissanen A, Kaprio J, Mäkimattila S, Häkkinen A-M, Westerbacka J, Sutinen J, Vehkavaara S, Yki-Järvinen H (2005) Acquired obesity is associated with increased liver fat, intra-abdominal fat, and insulin resistance in young adult monozygotic twins. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288: E768-774

Pratley RE, Baier L, Pan DA, Salbe AD, Storlien L, Ravussin E, Bogardus C (2000) Effects of an Ala54Thr polymorphism in the intestinal fatty acid-binding protein on responses to dietary fat in humans. *J Lipid Res* 41: 2002-2008

Reaven GM (1988) Banting lecture: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595-1607

Roche HM, Gibney MJ (1995) Postprandial triacylglycerolaemia: nutritional implications. *Prog Lipid Res* 34: 249-266

Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM (2000) Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev* 14: 1293-1307

Ross, R (1986): The pathogenesis of atherosclerosis: an update. *N. Engl J Med* 314: 488-500

Ross, R (1993) The pathogenesis of arteriosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362: 801-809

Rottmann JN, Gordon JI (1993) Comparison of the patterns of expression of rat intestinal fatty acid binding protein / human growth hormone fusion genes in cultured intestinal epithelial cell lines and in the gut epithelium of transgenic mice. *J Biol Chem* 268: 11994-12002

Rubin D, Helwig U, Pfeuffer M, Schreiber S, Boeing H, Fisher E, Pfeiffer A, Freitag-Wolf S, Foelsch UR, Doering F, Schrezenmeir J (2006) A common functional exon polymorphism in the microsomal triglyceride transfer protein gene is associated with type 2 diabetes, impaired glucose metabolism and insulin levels. *J Hum Genet* 51: 567-574

Rubin D, Helwig U, Pfeuffer M, Auinger A, Ruether A, Matusch D, Darabaneanu S, Freitag-Wolf S, Nothnagel M, Schreiber S, Schrezenmeir J (2012) The effect of FABP2 promoter haplotype on response to a diet with medium-chain triacylglycerols. *Genes Nutr* 7: 437-445.

Rubin DC, Ong DE, Gordon JI (1989) Cellular differentiation in the emerging fetal rat small intestinal epithelium: mosaic patterns of gene expression *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 1278-1282

Ruchat SM, Vohl MC, Weisnagel SJ, Rankinen T, Bouchard C, Pérusse L (2010) Combining genetic markers and clinical risk factors improves the risk assessment of impaired glucose metabolism. *Ann Med* 42: 196-206.

Schachtrup C, Emmler T, Bleck B, Sandquist A, Spener F (2004) Functional analysis of peroxisome-proliferator-response element motifs in genes of fatty acid-binding proteins. *Biochem J* 382: 239-245

Schmidt E, Schmidt FW (1990) Progress in the enzyme diagnosis of liver disease. Reality or illusion? *Clin Biochem* 23: 375-382

Schrezenmeir J (1996) Hyperinsulinemia, hyperproinsulinemia and insulin resistance in the metabolic syndrome. *Experientia* 5: 426-432

Schrezenmeir J, Fenselau S, Keppler I, Abel J, Orth B, Laue Ch, Stürmer W, Fauth U, Halmagyi M, März W (1997) Postprandial triglyceride high response and the metabolic syndrome. *Ann NY Acad Sci* 827: 353-368

Schrezenmeir J, Weber P, Probst R, Biesalski HK, Luley C, Prellwitz W, Krause U, Beyer J (1992) Postprandial pattern of triglycerid-rich lipoprotein in normal-weight humans after an oral lipid load: exaggerated triglycerides and altered insulin response in some subjects. *Ann Nutr Metab* 36: 186-196

Schwarz EJ, Reginato MJ, Shao D, Krakow SL, Lazar M (1997) Retinoic acid blocks adipogenesis by inhibiting C/EBP(beta)-mediated transcription. *Mol Cell Biol* 17: 1552-1561

Senoo H (2004) Structure and function of hepatic stellate cells. *Med Electron Microsc.* 37: 3-15

Shafir E, Bermann M, Felig P (1987) The endocrine pancreas: Diabetes mellitus. In: Felig P, Baxter JD, Broadus AE, Frohmann LA (eds): *Endocrinology and Metabolism*, 2<sup>nd</sup> ed, McGraw-Hill Book Company, New York, pp 1054

Sladek FM, Zhong WM, Lai E, Darnell JE Jr. (1990) Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily. *Genes Dev* 12B: 2353-2365

Sladek FM (1993) Orphan receptor HNF-4 and liver-specific gene expression. *Receptor* 3: 223-232

Soska V (2003) Dyslipidemia and the metabolic syndrome. *Vnitr Lek* 49: 943-947

Steinmetz A, Fenselau S, Schrezenmeir J (2001) Treatment of dyslipoproteinemia in the metabolic syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 109: 548-559

Stout, R.W., E.L. Bierman, R. Riess (1975) Effect of insulin on the proliferation of cultured primate arterial smooth muscle cells. *Circ Res* 36: 319-327

Stout RW (1979) Diabetes and atherosclerosis, the role of insulin. *Diabetologia* 16: 141-150

Stout RW (1990) Insulin and atheroma: 20-years perspective. *Diab Care* 13: 631-654

Sweetser DA, Birkenmeier EH, Klisak IJ, Zollmann S, Sparkes RS, Mohandas T, Lusa AJ, Gordon JI (1987) The human and rodent intestinal fatty acid-binding protein genes. A comparative analysis of their structure, expression and linkage relationships. *J Biol Chem* 262: 16060-16071

Sweetser DA, Heuckeroth RO, Gordon JI (1987) The metabolic significance of mammalian fatty-acid-binding proteins: abundant proteins in search of a function. *Ann Rev Nutr* 7: 337-359

Taborsky GJ, Ahren B, Havel PJ (1998) Autonomic mediation of glucagon secretion during hypoglycaemia: implications for impaired alpha cell responses in type 1 diabetes. *Diabetes* 47: 995-1005

Vassileva G, Huwyler L, Poirier K, Agellon LB, Toth MJ (2000) The intestinal fatty acid binding protein is not essential for dietary fat absorption in mice. *FASEB J* 14: 2040-2046

Vidal-Puig A, Jimenez-Linan M, Lowell B, Hamann A, Hu E, Spiegelmann B, Flier JS, Moller DE (1996) Regulation of PPAR $\gamma$  gene expression by nutrition and obesity in rodents. *Am Soc Clin Invest* 97: 2553-2561

Villarroya F, Giralt M and Iglesias R (1999) Retinoids and adipose tissue: metabolism, cell differentiation and gene expression. *Int J Obes Relat Metab Disord* 23: 1-6

Vojarova B, Stefan N, Lindsay RS, Saremi A, Pratley RE, Bogardus C, Tataranni PA (2002) High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 51: 1889-1895

Weir GC, Halban PA (2002) Disorders of fuel metabolism. In: Becker KL (ed): Principles and practices of endocrinology and metabolism, 3<sup>rd</sup> ed, Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 1298

Weiss EP, Brandauer J, Kulaputana O, Ghiu IA, Wohn CR, Phares DA, Shuldiner AR, Hagberg JM (2007) FABP2 Ala54Thr genotype is associated with glucoregulatory function and lipid oxidation after a high-fat meal in sedentary nondiabetic men and women. *Am J Clin Nutr* 85: 102-108

Weiss EP, Brown MD, Shuldiner AR, Hagberg JM (2002) Fatty acid binding protein-2 gene variants and insulin resistance : gene and gene-environment interaction effects. *Physiol Genomics* 10: 145-157

Weston AD, Blumberg B, Underhill TM (2003) Active repression by unliganded retinoid receptors in development: less is sometimes more. *J Cell Biol* 161: 223-228

Wilson A, Calvert RJ, Geoghegan H (1952) Plasma cholinesterase activity in liver disease: its value as a diagnostic test of liver function compared with flocculation test and plasma protein determination. *J Clin Invest* 31: 815-823

Zhao T, Nzekebaloudou M, Lv J (2010) Ala54Thr polymorphism of fatty acid-binding protein 2 gene and fasting blood lipids: a meta-analysis. *Atherosclerosis* 210: 461-467.

Zimmermann AW and Veerkamp JH (2002) New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins. *Cell Mol Life Sci* 59: 1096-1116

---

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Hypothese der Entstehung des metabolischen Syndroms .....	2
Abb. 2: FABP2-Promoter Polymorphismus und putative Bindungsstellen für Vitamin A .....	11
Abb. 3: Reaktionsschritte der quantitativen in-vitro Bestimmung von Triglyceriden ..	18
Abb. 4: Reaktionsschritte der quantitativen in-vitro Bestimmung von Glukose .....	19
Abb. 5: Reaktionsschritte der quantitativen in-vitro Bestimmung von freien Fett- Säuren .....	19
Abb. 6: Triglycerid-Verlauf während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenz- intervall) .....	27
Abb. 7: Verlauf der freien Fettsäuren während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall) .....	29
Abb. 8: Verlauf der Glukose-Werte während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall) .....	31
Abb. 9: Verlauf der Insulin-Werte während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall) .....	33
Abb.10: Verlauf der Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT (Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall) .....	35

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	FABP-Familie .....	7
Tab. 2:	Vergleich der Basisparameter der beiden Untersuchungsgruppen .....	15
Tab. 3:	Bestandteile des oMTT-Testtrunks .....	16
Tab. 4:	Nüchternparameter vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) .....	23
Tab. 5:	Nüchternparameter vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n = 21) .....	24
Tab. 6:	Nüchternparameter des FABP2-Promoter Haplotyps A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0) .....	25
Tab. 7:	Nüchternparameter des FABP2-Promoter Haplotyps A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	26
Tab. 8:	Verlauf der postprandialen Triglycerid-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	28
Tab. 9:	Verlauf der postprandialen Triglycerid-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	28
Tab.10:	Verlauf der postprandialen Triglycerid-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0) .....	28
Tab.11:	Verlauf der postprandialen Triglycerid-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	28
Tab.12:	Verlauf der postprandialen, freien Fettsäuren während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	30
Tab.13:	Verlauf der postprandialen, freien Fettsäuren während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	30



---

Tab.14: Verlauf der postprandialen, freien Fettsäuren während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0) .....	30
Tab.15: Verlauf der postprandialen, freien Fettsäuren während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	30
Tab.16: Verlauf der postprandialen Glukose-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	32
Tab.17: Verlauf der postprandialen Glukose-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	32
Tab.18: Verlauf der postprandialen Glukose-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0) .....	32
Tab.19: Verlauf der postprandialen Glukose-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	32
Tab.20: Verlauf der postprandialen Insulin-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	34
Tab.21: Verlauf der postprandialen Insulin-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	34
Tab.22: Verlauf der postprandialen Insulin-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0) .....	34
Tab.23: Verlauf der postprandialen Insulin-Werte während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	34
Tab.24: Verlauf der postprandialen Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	36

---

Tab.25: Verlauf der postprandialen Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp B (n =21) vor (Tag 0) versus nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	36
Tab.26: Verlauf der postprandialen Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) vor Vitamin A Gabe (Tag 0) .....	36
Tab.27: Verlauf der postprandialen Insulin-Resistenz (HOMA) während des oMTT für den FABP2-Promoter Haplotyp A (n = 19) versus B (n = 21) nach Vitamin A Gabe (Tag 56) .....	36

## Abkürzungsverzeichnis

ACS	Acyl-CoA-Synthetase
ACOD	Acyl-CoA-Oxydase
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
AOD	Ascorbat-Oxidase
ATP	Adenosintriphosphat
BFEL	Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel Kiel
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BMI	Body Mass Index
bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
CoA	Coenzym A
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FABP	Fatty acid-binding proteins
FFS	Freie Fettsäuren
HDL	High Density Lipoproteine
HNF-4 $\alpha$	Hepatocyte Nuclear Factor 4 $\alpha$
HOMA	Homeostatic Model Assessment (Insulinresistenz)
IQR	Interquartilabstand oder -distanz
KO	Knock-out
LDL	Low Density Lipoproteine
LPL	Lipoproteinlipase
MEHA	3-Methyl-N-Ethyl-N-( $\beta$ -hydroxyethyl)anilin
MICK	Metabolic Intervention Kohorte Kiel
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Hydrogen
NEFA	Non-esterified fatty acids
oGTT	oraler Glukose Toleranztest
oMTT	oraler Metabolischer Toleranztest
PBE	Institut für Physiologie und Biochemie der Ernährung Kiel
PEG	Polyethylenglykol

POD	Peroxydase
PPAR $\gamma$	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor $\gamma$
PPI	Pyrophosphat
RA	Retinsäure
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RAR	Retinoid Acid Receptor
RARES	RAR-Response-Elements
RIA	Radio-Immuno-Assay
ROR $\alpha$	Retinoid-related Orphan Receptor $\alpha$
RXR	Retinoid X Receptor
SNP	Single Nucleotid Polymorphismus
TG	Triglyceride
VLDL	Very Low Density Lipoproteine
WHR	Waist to Hip Ratio

## Danksagung

Ich möchte Herrn Priv. Doz. Dr. med. Ulf Helwig, und Herrn Prof. Dr. Schrezenmeir, herzlich danken, für die umfangreiche Betreuung und Möglichkeit diese Arbeit durchzuführen.

Ebenso danke ich den Mitarbeitern der Physiologie und Biochemie der Ernährung an der BfEL, sowie allen Probanden für ihre gute Mitarbeit.

Des Weiteren geht ein großer Dank an Susanne Angel, Grit Drechsler und Dennis Matusch für die äußerst produktiven Diskussionen und die gegenseitige Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Wolfram Ebell, ohne den ich niemals so weit gekommen wäre. Und natürlich meiner Mutter, Jutta Ebell, für Ihre Beharrlichkeit und liebevolle Unterstützung.

Ich widme diese Arbeit meinem Vater, Wolfhelm Bitter, in Liebe und Dankbarkeit.

## Lebenslauf

Wibke Bitter, geboren am 03.06.1980 in Neustadt am Rübenberge

### Ausbildung

Juni 1999	Erlangen der Allgemeinen Hochschulreife
Oktober 2000 bis Juni 2002	Studium der Medizin an der Semmelweis Universität Budapest Ärtliche Vorprüfung (Physikum)
ab Oktober 2002	Studium der Medizin an der Christian-Albrecht Universität zu Kiel
August 2003 August 2005	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung (1. Staatsexamen) Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (2. Staatsexamen)
ab Oktober 2005	Studium an der Bayrischen Julius-Maximilians Universität Würzburg zum Praktischen Jahr
Oktober 2006	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (3. Staatsexamen)
26.10.2006	Approbation als Ärztin

### Beruflicher Werdegang

02/2007 – 07/2007	Assistenzärztin im Klinikum Main-Spessart, Standort Lohr, Abteilung für Orthopädie und Unfallchirurgie unter der Leitung von Herrn Chefarzt Dr. S. Vögeli
08/2007 - 01/2010	Assistenzärztin in der Missionsärztlichen Klinik Würzburg, Abteilung für Chirurgie unter der Leitung von Herrn Chefarzt Prof. Dr. H.G. Koebe
seit 01.03.2010	Assistenärztin im DRK Klinikum Köpenick, Berlin, Abteilung für Orthopädie und Unfallchirurgie unter der Leitung von Herrn Chefarzt Dr. med. Falk Reuther

## Publikation

Helwig U, Rubin D, Kiosz J, **Bitter W**, Schreiber S, Döring F, Fölsch UR, Schrezenmeir J (2007) The effects of retinol on postprandial parameters in men with different FABP2 promoter haplotypes. *Horm Metab Res* 39: 237-243

