

Aus der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg
Prof. Dr. Marcus Fischer
Kardiologie

Was unterscheidet metabolisch gesunde Adipositas von metabolisch
ungesunder Adipositas? Ein Fokus auf miRNA- und Lipidomics-Analysen

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Antonia Bauer

05.12.2025

Aus der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg
Prof. Dr. Marcus Fischer
Kardiologie

Was unterscheidet metabolisch gesunde Adipositas von metabolisch
ungesunder Adipositas? Ein Fokus auf miRNA- und Lipidomics-Analysen

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Antonia Bauer

05.12.2025

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Marcus Fischer

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Ralph Burkhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 19.05.2026

Inhalt

INHALT	1
1. EINLEITUNG	3
1.1 ADIPOSITAS, METABOLISCHES SYNDROM ALS RISIKOCLUSTER, METABOLISCH GESUNDE ADIPOSITAS...	3
1.1.1 Adipositas	3
1.1.2 Metabolisches Syndrom	4
1.1.3 Metabolisch gesunde Adipositas	7
1.2. MICRORNA	9
1.2.1 MicroRNA allgemein	9
1.2.2 MicroRNAs bei MetS	9
1.3 LIPIDOMICS	10
1.3.3 Lipidomics allgemein	10
1.3.2 Lipidomics bei MetS	11
1.4 ZIEL DER ARBEIT	12
2. MATERIAL UND METHODEN	14
2.1 STUDIENTEILNEHMER:INNEN UND EXPERIMENTELLES DESIGN	14
2.2 MICRORNA ANALYSE	15
2.2.1 DNA-Isolation und Qualitätskontrolle	15
2.2.2 PCR Screening-Panels	16
2.2.3 Präprozessierung der qPCR Daten	16
2.2.4 Umgang mit fehlenden Datenpunkten	17
2.2.5 Normalisierung	19
2.3 LIPIDOMICS	19
2.3.1 Lipidextraktion	19
2.3.2 Massenspektrometrische Analyse	20
2.3.3 Umgang mit Nullwerten	21
3. ERGEBNISSE	22
3.1 STICHPROBENPOPULATION	22
3.2 MIRNA	23
3.2.1 Technische Qualität der Ergebnisse	23
3.2.2 Normalisierung	23
3.2.3 Deskriptive Statistik und univariate Datenanalyse	23
3.3 LIPIDOMICS	29
3.3.1 Auswertungskonzept	29
3.3.2 Univariate Datenanalyse (erster Schritt)	30
3.3.3 Multivariate Datenanalyse mit partiellen kleinsten Quadraten (zweiter Schritt)	38

4. DISKUSSION	47
4.1 MHO ALS INSTABILER ÜBERGANGSZUSTAND?	47
4.2 KLINISCHE OUTCOMES BEI MHO	48
4.2.1 Diabetes Mellitus Typ 2	48
4.2.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen	48
4.2.3 Andere Erkrankungen und Gesamtmortalität	50
4.2.4 Notwendigkeit von weiterer Forschung und besserer Definition	51
4.3 MiRNA.....	52
4.3.1 hsa-miR-495-3p.....	52
4.3.2 hsa-miR-144-3p.....	54
4.3.3 hsa-miR-140-3p.....	56
4.4 LIPIDOMICS.....	58
4.4.1 Allgemeines	58
4.4.2 Phosphatidylcholin-ether	58
4.4.3 Lysophosphatidylcholine	59
4.4.4 Sphingomyeline	60
4.4.5 Hexosylceramide	62
4.4.6 Diglyceride	65
4.4.7 Triglyceride	65
4.4.8 Partielle kleinste Quadrate	70
4.5 STÄRKEN DER ARBEIT	70
4.6 LIMITATIONEN DER ARBEIT.....	70
4.6.1 Allgemeine Limitationen	70
4.6.2 Limitationen miRNA.....	71
4.6.3 Limitationen Lipidomics	72
5. ZUSAMMENFASSUNG	73
6. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	75
7. LITERATURE CITED	77
8. DANKSAGUNG	86

1. Einleitung

1.1 Adipositas, Metabolisches Syndrom als Risikocluster, metabolisch gesunde Adipositas

1.1.1 Adipositas

Die Relevanz von Adipositas (Body Mass Index (BMI) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) ergibt sich aus ihrer hohen Prävalenz und dem begleitenden Komplikationsrisiko. Weltweit sind mehr als 890 Millionen Erwachsene (16%) von Adipositas betroffen. Laut WHO hat sich die weltweite Inzidenz von Adipositas bei Erwachsenen seit 1990 mehr als verdoppelt, bei Jugendlichen sogar vervierfacht (Obesity and overweight 2025). Der Anteil adipöser Personen nimmt mit steigendem sozioökonomischem Status ab (Kurth 2013).

Adipositas wird als chronische Erkrankung mit einer komplexen Pathogenese aus genetischen Faktoren in Interaktion mit Umwelt- und Lebensstilfaktoren verstanden (Wirth et al. 2014). Ein BMI-Anstieg um 5 kg/m^2 ist mit einer circa 30% höheren Gesamtmortalität assoziiert (Collaboration 2009). Im Jahr 2021 verursachte ein erhöhter BMI schätzungsweise 3,7 Millionen Todesfälle aufgrund nichtübertragbarer Krankheiten wie kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes, verschiedener Malignome, neurologischen Erkrankungen, chronische Atemwegserkrankungen sowie gastrointestinalen Erkrankungen (GBD 2021 Risk Factor Collaborators).

Adipositas ist zudem mit erhöhten C-reaktiven Protein (CRP)-Werten und einem proinflammatorischen Zustand assoziiert (Choi et al. 2013). Eine erhöhte Sekretion proinflammatorischer Zytokine im Fettgewebe bei Adipositas führt zu einer systemischen Entzündungsreaktion, die Insulinresistenz und kardiovaskuläre Erkrankungen begünstigt (Chait und Hartigh 2020). Obwohl ein erhöhter CRP-Wert nicht in die Definition des Metabolischen Syndroms (MetS) eingeht, ist er häufig bei Menschen mit MetS vorhanden (Malavazos et al. 2007). Es wird eine signifikante Beziehung zwischen Plasma CRP-Spiegel und Messgrößen für Adipositas und Insulinresistenz in der Literatur beschrieben (Lemieux et al. 2001).

Diese Erkenntnisse verdeutlichen die komplexen Wechselwirkungen zwischen Adipositas und metabolischen Störungen. Angesichts der hohen Prävalenz und der damit verbundenen Risiken ist ein tieferes Verständnis dieser Zusammenhänge

entscheidend, um effektive klinische Strategien zur Prävention und Behandlung zu entwickeln.

1.1.2 Metabolisches Syndrom

Adipositas gilt neben Insulinresistenz als einer der wichtigsten Faktoren für die Ätiopathogenese des MetS, sodass der starke Anstieg der Adipositasprävalenz auch zu einem starken Anstieg der Prävalenz des MetS geführt hat (Grundy et al. 2004). Das MetS wird als Risikocluster verstanden, dessen Faktoren häufiger zusammen auftreten als durch Zufall erklärbar. Menschen mit dem MetS haben ein verdoppeltes Risiko, in den nächsten fünf bis zehn Jahren kardiovaskulär zu erkranken und ein fünffach erhöhtes Risiko für Diabetes Mellitus Typ 2 (T2DM) (Alberti et al. 2009).

Das National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III), die International Diabetes Federation (IDF) und die WHO haben die am häufigsten verwendeten Definitionen für das MetS etabliert (Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III) 2001; Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes ... 1999; Consensus statements 2022) (NCEP APT III Kriterien, siehe Tabelle 1)

Während die drei Definitionen für das metabolische Syndrom sich in den Details unterscheiden, besteht Einigkeit über die generellen Komponenten (Alberti et al. 2006). Im Folgenden werden die generellen Komponenten genauer erläutert und bei den jeweiligen Komponenten auf die Unterschiede in den Definitionen (NCEP ATP III, IDF, WHO) hingewiesen.

NCEP ATP III Kriterien für das metabolische Syndrom		
Taillenumfang	Frauen	≥ 88 cm
	Männer	≥ 102 cm
Triglyceride		≥ 150 mg/dl (oder Medikation)
Blutdruck		≥130/85 mmHg (oder ein erhöhter Wert oder Medikation)
HDL Cholesterin	Frauen	≤ 50 mg/dl (oder Medikation)
	Männer	≤ 40 mg/dl (oder Medikation)
Nüchternglucose		≥ 110 mg/dl

Tabelle 1: ≥3 Kriterien erfüllt= MetS

Abdominelle Adipositas

Unabhängig vom BMI erhöht eine erhöhte Waist-to-hip Circumference Ratio das Risiko für koronare Herzkrankheit (KHK) und T2DM (Rexrode et al. 1998; Ohlson et al. 1985). Daher geht in alle drei Definitionen (NCEP ATP III, IDF, WHO) der Bauchumfang als einfach ermittelbarer Surrogat-Parameter mit ein. Es besteht allerdings Unklarheit bezüglich einheitlicher Cut-Off Werte, welche den jeweiligen Ethnizitäten angepasst werden sollten, um zum Beispiel dem bei asiatischen Personen bei deutlich niedrigerem BMI bereits steigenden T2DM Risiko Rechnung zu tragen (Kassi et al. 2011). Die IDF schlägt populationsspezifische Grenzwerte vor, für Europäer:innen sind diese ≥94 cm bei Männern und ≥80cm bei Frauen, was in etwa einem BMI von 25 kg/m² entspricht. Die IDF verlangt außerdem abdominelle Adipositas als notwendigen Faktor zur Diagnose eines MetS (Alberti et al. 2009). Laut NCEP ATP III betragen die Grenzwerte für Männer ≥102 cm und für Frauen ≥88 cm, was in etwa einem BMI von 30 kg/m² entspricht (Alberti et al. 2009).

Insulinresistenz

Insulinresistenz ist der wichtigste alleinstehende Risikofaktor für KHK (Adeva-Andany et al. 2019) und korreliert univariat mit dem Risiko für T2DM und KHK (Alberti et al. 2006). Vor allem die WHO legt in ihrer ursprünglichen Definition großen Wert auf Insulinresistenz als den hauptsächlichen zugrunde liegenden Risikofaktor (Alberti et al. 2009; Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes ... 1999). Daher wird von der WHO 1999 auch obligat einer von verschiedenen Markern für Insulinresistenz zusammen mit zwei weiteren Risikofaktoren zur Diagnose eines MetS verlangt. IDF und NCEP ATP III verwenden

zur Diagnose eine erhöhte Nüchternglucose oder einen diagnostizierten T2DM wobei die IDF als strengeren Grenzwert ≥ 100 mg/dl und das NCEP ATP III ≥ 110 mg/dl verwendet.

Atherogene Dyslipidämie

Bei abdomineller Adipositas zeigen sich verschiedene Veränderungen des Lipid- und Lipoproteinprofils, unter anderem erhöhte Triglyceride, erniedrigtes HDL-Cholesterin, erhöhtes VLDL und erhöhtes small dense LDL (sd-LDL), allerdings ohne regelhafte Erhöhung des Gesamt LDLs. Diese Faktoren beeinflussen sich gegenseitig, zum Beispiel führen erhöhte Fettsäurekonzentrationen in der Pfortader bei Insulinresistenz zu vermehrter Produktion von Apolipoprotein B enthaltenden Partikeln wie IDL und VLDL (Carr und Brunzell 2004). In die Definitionen für das MetS gehen als Parameter für die Dyslipidämie bei MetS die Triglyceride im Plasma (alle drei Definitionen: ≥ 150 mg/dL) und ein erniedrigtes HDL-Cholesterin (IDF und NCEP ATP III: Männer ≤ 40 mg/dl, Frauen ≤ 50 mg/dl, WHO: Männer ≤ 35 mg/dL, Frauen ≤ 39 mg/dL) oder eine medikamentöse Behandlung dieser Dyslipidämien ein.

Erhöhter Blutdruck

Fast 80 % der Menschen mit MetS haben erhöhten Blutdruck (Katsimardou et al. 2020) und es gibt einige pathophysiologische Ansätze, die Insulinresistenz und Adipositas mit der Entwicklung von arterieller Hypertonie in Verbindung bringen, darunter erhöhte Leptin-Level, eine verstärkte Aktivierung des sympathischen Nervensystems und des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems (Landsberg et al. 2013). Daher geht ein erhöhter Blutdruck oder dessen medikamentöse Therapie mit in die Kriterien des MetS ein. Die WHO gibt einen Grenzwert von $\geq 140/90$ mmHg an, NCEP ATP II und IDF einen strengeren Wert von $\geq 130/85$ mmHg.

Vergleich der Definitionen (WHO, IDF, NCEP ATP III)

Insgesamt wird das Vorhandensein von mindestens drei aus fünf der oben genannten Faktoren zur Diagnose eines MetS benötigt, wobei die WHO die Insulinresistenz und die IDF die abdominelle Adipositas als immer notwendiges Kriterium festlegen. Durch den unterschiedlichen Fokus der Definitionen ergibt sich in Studien je nach angewandter Definition ein etwas unterschiedliches Kollektiv an Personen mit MetS, bei jedoch meist ähnlicher Gesamtprävalenz (Kassi et al. 2011). In einer Metaanalyse zur Prävalenz des MetS in der mexikanischen Bevölkerung ergab sich aber zum

Beispiel eine deutlich höhere Prävalenz durch die Verwendung der Definition der IDF, welche sich unter anderem durch den strengeren Grenzwert der IDF zum Bauchumfang begründet sein könnte (Gutiérrez-Solis et al. 2018).

1.1.3 Metabolisch gesunde Adipositas

Trotz der oben aufgeführten Assoziation von Adipositas und verschiedenen Erkrankungen scheint es einen geringen Anteil an Personen mit Adipositas zu geben, die keine metabolischen Auffälligkeiten aufweist. Diese Gruppe wird als metabolisch gesunde Adipositas (metabolically healthy obesity, MHO) bezeichnet. Es gibt keine universell akzeptierte Definition von MHO. Meist wird diese als das Vorhandensein von null, einem oder zwei MetS Komponenten definiert, oder aber über die Ausprägung der Insulinresistenz mithilfe des Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR). Dies ist gleichzeitig auch einer der Kritikpunkte dieses Konzepts, da zum Beispiel das alleinige Nichterfüllen von mindestens drei MetS Kriterien nicht mit metabolischer Gesundheit gleichzusetzen ist, sondern teilweise lediglich weniger kardiometabolische Auffälligkeiten vorhanden sind (Smith et al. 2019).

Je nach angewandter Definition schwankt die Prävalenz der MHO sehr von 6- 7% bei einer strengen Definition von MHO als 0 von 5 MetS Kriterien und einem HOMA IR $\leq 2,5$, bis ca. 50% bei einer weniger strengen Definition von MHO als ≤ 2 MetS Komponenten (Abbildung 1) (Kuk und Arden 2009; Smith et al. 2019). Die Autor:innen dieser Studien merken allerdings ein mögliches Überschätzen der Prävalenz aufgrund des regelhaften Ausschlusses von Patient:innen mit bestehender KHK und T2DM als Endpunkten des MetS in den analysierten Studien an.

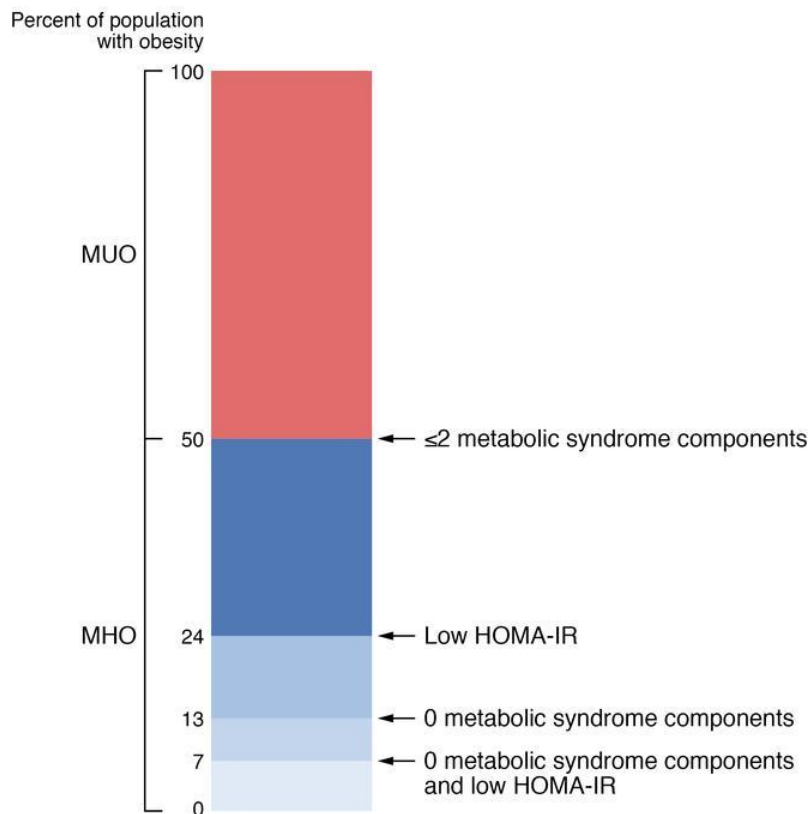


Abbildung 1: geschätzte Prävalenz von metabolisch gesunder und metabolisch ungesunder Adipositas in einer nordamerikanischen und europäischen Population mit Adipositas basierend auf der Anzahl an erfüllten Kriterien für das MetS und der Insulinsensitivität (anhand HOMA-IR). Daten aus 33 Studien mit insgesamt 123.548 Personen mit Adipositas. Mit Genehmigung von The Journal of Clinical Investigation, aus (Smith et al. 2019).

Unterschiede zwischen MHO und MUO

Die Prävalenz von MHO wird von einigen Faktoren beeinflusst: So ist der Trend zu einem höheren Anteil von MHO bei Frauen im Vergleich zu Männern in einer Analyse von 10 großen Kohortenstudien in fast allen Studien sichtbar, genauso wie eine verminderte Prävalenz von MHO mit steigendem Alter, unabhängig von Geschlecht und den jeweiligen verwendeten MetS Kriterien (van Vliet-Ostaptchouk et al. 2014). Frauen mit MHO zeigen im Gegensatz zu Frauen mit MUO einen signifikant höheren Anteil an Beinfett. Außerdem wird bei sowohl Männern als auch Frauen mit MHO ein signifikant niedrigerer Bauchumfang als bei Männern und Frauen mit MUO bei insgesamt nicht bestehenden signifikanten Unterschieden in BMI und Körperfettanteil beschrieben (Appleton et al. 2013). Neben der unterschiedlichen Verteilung des Körperfetts scheint es auch Unterschiede bei dem Anteil des braunen Fettgewebes zu geben. So findet sich bei MHO in einer Kohorte mit jungen Erwachsenen im Vergleich zu MHO ein signifikant erhöhter Anteil von braunen Fettgewebe mit einer höheren Aktivität (Jurado-Fasoli et al. 2024). In einer Kohorte älterer Erwachsener aus den

Vereinigten Staaten zeigen Personen mit MHO in Vergleich zu Personen mit MUO eine höhere körperliche Aktivität, höhere Bildung und weniger depressive Symptome (Ojalehto Lindfors et al. 2025).

1.2. MicroRNA

1.2.1 MicroRNA allgemein

MicroRNAs (miRNAs) sind kurze, durchschnittlich 23 Nucleotide lange RNA-Moleküle. Diese beeinflussen über die Bindung an komplementären mRNAs Protein kodierender Gene deren posttranskriptionelle Regulation (David P. Bartel 2009), indem sie die Expression von mRNA-Targets durch translationale Repression und Förderung des mRNA-Abbaus unterdrücken (Huntzinger und Izaurralde 2011). MiRNA-Gene machen im Menschen etwa 1% des Genoms aus, ein Anteil ähnlich zu dem anderer regulatorischer Genfamilien (Bartel 2004). Zirkulierende miRNAs können in Serum und Plasma nachgewiesen werden. Außerdem zeigen sich die Levels zirkulierender miRNAs sowohl bei längerer Lagerung bei Raumtemperatur als auch nach wiederholtem Gefrieren und wieder Auftauen stabil und miRNAs werden nicht signifikant von im Blut vorhandenen RNAsen degradiert (Mitchell et al. 2008). Zirkulierende miRNAs haben Potenzial sowohl als endokrine Signalmoleküle als auch als Biomarker. Eine Dysregulation von miRNAs kann zu metabolischen Anomalien beitragen, sodass miRNAs möglicherweise auch als therapeutische Ziele kardiometabolischer Störungen dienen könnten (Rottiers und Näär 2012).

1.2.2 MicroRNAs bei MetS

MiRNAs regulieren verschiedene Signalwege der Entzündungsreaktion, Adipogenese und des Glukose- und Fettstoffwechsels, die für das metabolische Syndrom relevant sind (Brandão-Lima et al. 2022). In einem Vorprojekt der Arbeitsgruppe wurde zum Beispiel eine Einzelnukleoid-Polymorphismen (single nucleotide polymorphism, SNP) abhängige Reduktion im Plasma zirkulierender miRNAs des miR25/93/106 Clusters während Gewichtsverlust adipöser Patient:innen festgestellt (Müller et al. 2020).

Außerdem haben sich mehrere miRNAs als kritische Regulatoren des Cholesterinmetabolismus herausgestellt (Aryal et al. 2017). MiR-33 zum Beispiel moduliert die Expression von Genen, die am zellulären Cholesterintransport beteiligt

sind und scheint sowohl für die HDL-Biogenese in der Leber als auch für den zellulären Cholesterin-Efflux eine Rolle zu spielen (Rayner et al. 2010).

In einem systematischen Review von 2022 merken die Autor:innen jedoch limitierend an, dass zwar eine beträchtliche Anzahl an miRNAs in Studien analysiert wurden, die Ergebnisse jedoch sehr heterogen sind. Es wird angemerkt, dass nur wenige Studien ähnliche zirkulierende miRNAs in Verbindung mit den gleichen klinischen Bedingungen bringen (Brandão-Lima et al. 2022).

1.3 Lipidomics

1.3.3 Lipidomics allgemein

Lipide umfassen circa ein Drittel aller Metaboliten und haben ihre Hauptfunktionen in den drei Bereichen Energiestoffwechsel, Struktur- und Signalfunktionen. Durch die Erforschung von Lipidomics sollen alle Arten von Lipidmolekülen beschrieben und quantifiziert werden sowie ihre biologischen Funktionen verstanden werden (O'Donnell et al. 2020).

Der Metabolismus der existierenden Lipidspezies ist über zahlreiche Stoffwechselwege miteinander verbunden. Durch die Kenntnis dieser Stoffwechselwege und Netzwerke des Lipidmetabolismus können Veränderungen der Lipidkonzentration Hinweise auf Änderungen von Enzymaktivitäten oder Genexpression geben. So können pathophysiologische Mechanismen aufgedeckt werden (Han 2016).

Aufgrund der Entwicklung neuer massenspektrometrischer Methoden und Protokolle zur Identifizierung und Quantifizierung molekularer Lipide gab es zuletzt deutliche Fortschritte auf dem Gebiet der Lipidomics (Blanksby und Mitchell 2010).

Hauptsächlich werden der direkte Injektionsansatz und die Flüssig/Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS) als Methoden verwendet (Han et al. 2012).

Auf Massenspektrometrie basierende Lipidomics können entweder mit ungezielten (Shotgun Lipidomics) oder gezielten Ansätzen (Targeted Lipidomics) durchgeführt werden. Bei einem ungezielten Ansatz kann zwar eine breite Abdeckung der in der Probe enthaltenen Lipide erzielt werden, der Ansatz liefert aber häufig nur semiquantitative Ergebnisse. Bei einem gezielten Ansatz ist eine absolute

Quantifizierung genau vordefinierter Lipide unter Verwendung isotoopenmarkierter interner Standards möglich (Contrepois et al. 2018). Aufgrund des Vorteils der hohen Genauigkeit in der Messung der einzelnen vordefinierten Lipide wurde in dieser Arbeit mit einem gezielten Ansatz mittels Targeted Lipidomics gearbeitet.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die verschiedenen Lipidkategorien und -klassen und deren Funktionen.

Lipidkategorie	Funktion	Lipidklassen
Sphingolipide SP	Membranbestandteile Signalfunktionen	Sphingomyeline SM Hexosylceramide HexCer Dihexosylceramide Hex2Cer Ceramide Cer Sphingosin-1-phosphate S1P
	Energiestoffwechsel Signalfunktionen	Monoglyceride MG Diglyceride DG* Triglyceride TG*
Sterol Lipide ST	Membranbestandteile Substrat für Hormone, Gallensäuren, Vitamine (Cortes et al. 2014)	Cholesteryl Ester CE Free Cholesterol FC
Glycerophospholipide GP	Hauptbestandteil von Zellmembranen Signalfunktionen Sonderfunktionen: Antioxidantien (PE P) mitochondriale Atmung (CL) Cofaktor (PS)	Phosphatidylcholin-ether PC O Phosphatidylcholine PC PE Phosphatidylethanolamine PE PE basierte Plasmalogene PE P Phosphatidylinositol PI Lysophosphatidylcholine LPC Lysophosphatidylsäure LPA Lysophosphatidylethanolamine LPE Lysophosphatidylglycerol LPG Lysosphingomyelin LSM Cardiolipin CL Phosphatidylsäure PA Phosphatidylglycerol PG Phosphatidylserine PS
Fettsäuren FA	Energiestoffwechsel, Signalfunktionen Membranbestandteil	

Fettdruck: in dieser Arbeit gemessen

Nicht explizit zitierte Inhalte der Tabelle in Anlehnung (Han 2016) , Box 1
Tabelle 2: Lipidkategorien, Funktionen, Einzelspezies

1.3.2 Lipidomics bei MetS

In einer Metaanalyse von 31 Artikeln zwischen 2005 und 2019 werden einige Ergebnisse zu Lipidomics bei MetS zusammengefasst: So werden über 150 signifikant unterschiedliche Lipidspezies bei Personen mit MetS im Gegensatz zu Personen ohne MetS beschrieben. Außerdem gibt es viele Metaboliten und Lipidspezies, die mit einzelnen MetS Kriterien korrelieren, hier wurden zum Beispiel bei dem Kriterium Glucose über 200 Lipidspezies zusammengefasst. Anzumerken ist hierbei, dass die

eingeschlossenen Studien nur MetS als Gruppenauswahlkriterium hatten, daher weder die Fall- noch die Kontrollgruppen notwendigerweise adipös waren. Außerdem merken die Autor:innen eine schwierige Vergleichbarkeit aufgrund des Mangels an methodischer Standardisierung an (Monnerie et al. 2020).

Verschiedene Lipidklassen und -spezies werden außerdem im Zusammenhang mit Insulinresistenz (IR) als wichtiges Unterscheidungskriterium zwischen MHO und metabolisch ungesunder Adipositas (metabolically unhealthy obesity, MUO, Definition siehe Material und Methoden) beschrieben (Yang et al. 2018).

1.4 Ziel der Arbeit

MHO in ihrer bisherigen Definition scheint nicht klar als benigner Zustand definierbar und weitere Forschung zu deren besserer Definition wird als notwendig angesehen (38, 36). Während Einigkeit in den Grundkomponenten des metabolischen Syndroms besteht, ist dessen präzise Diagnose und Einschätzung des Risikos für die Entwicklung von Folgeerkrankungen nach wie vor schwierig, was die Notwendigkeit der weiteren Suche nach besseren Biomarkern in diesem Gebiet verdeutlicht (Sadhbh O'Neill et al. 2016).

Außerdem vergleichen viele Studien lediglich Menschen mit MetS mit Menschen ohne MetS ohne speziellen Fokus auf ein adipöses Gesamtkollektiv (Monnerie et al. 2020). Die global stark steigende Adipositasprävalenz, die uneinheitliche Definition und kontroversen gesundheitlichen Outcomes von MHO machen eine exakte Beschreibung und expliziten Vergleich von Risikofaktoren im Sinne des MetS innerhalb einer gesamtheitlich adipösen Kohorte so wichtig.

Ziel der Arbeit ist die Analyse von miRNAs und Lipidomics im Plasma als potenzielle Unterscheidungskriterien für MHO und MUO in einem adipösen Grundkollektiv. In einem Screening-Ansatz wurden 179 häufig im Plasma vorkommende miRNAs bestimmt. Außerdem wurden insgesamt 217 Lipidspezies massenspektrometrisch erhoben. Die ausgewählte Stichprobe enthält die verschiedenen Ausprägungen der für die vorliegende Arbeit interessanten Phänotypen, zum einen Teilnehmende mit Adipositas mit möglichst wenig metabolischen Einschränkungen (Metabolically healthy obese, MHO) und zum anderen Teilnehmende mit Adipositas und verschiedenen starken Ausprägungen des metabolischen Syndroms (Metabolically unhealthy obese, MUO).

Folgende Fragen werden im Folgenden betrachtet:

Welche Unterschiede bestehen im Lipid- und miRNA-Profil im Plasma von Personen mit metabolisch gesundem Übergewicht (MHO) und metabolisch ungesundem Übergewicht (MUO)?

Lassen sich diese Unterschiede durch spezifische miRNAs und Lipidspezies oder durch Cluster innerhalb dieser Gruppen erklären?

2. Material und Methoden

2.1 Studienteilnehmer:innen und experimentelles Design

Es wurden Blutproben von adipösen Personen (BMI ≥ 30) gewonnen, die an dem Optifast®52 Programm zum Gewichtsverlust teilnahmen (Nestle Health Care Nutrition GmbH Germany). Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission geprüft (Referenznummer 05/001) und die Teilnehmer:innen gaben eine schriftliche Einwilligung zur Teilnahme. Genauere Angaben zum Ablauf des Programmes wurden bereits detailliert beschrieben (Wallmeier et al. 2013).

Die verwendeten EDTA-Plasma Samples (n=40) wurden vor Beginn des Gewichtsabnahmeprogrammes gesammelt (Visite 1). Die untersuchte Population wurde anhand der Kriterien des NCEP ATP III für das metabolische Syndrom (Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III) 2001) in die Untergruppen metabolisch gesunde Adipositas (MHO: 0-2 NCEP ATP III Kriterien) und HOMA IR <5) und metabolisch ungesunde Adipositas mit metabolischen Syndrom (MUO: 3-5 NCEP ATP III Kriterien) unterteilt.

Folgende Störfaktoren wurden in der Auswahl der Stichprobe ausgeschlossen: Gewichtsverlust um mehr als zehn Prozent des Körpergewichts in den vergangenen sechs Monaten, Schwangerschaft, schwere psychische Erkrankungen, Krebserkrankungen, Demenz. Folgende Störfaktoren wurden in der Stichprobe nach Möglichkeit und Probenverfügbarkeit ausgeschlossen und falls ein vollständiger Ausschluss nicht möglich war in den Untergruppen möglichst gematched: Rauchen, Einnahme von Psychopharmaka, kardiovaskuläre Ereignisse, pAVK, Neuropathie, Nephropathie, Retinopathie und Lungenembolie.

Um sicherzustellen, dass die Gruppe der gesunden Adipösen auch bestmöglich metabolisch gesund ist, galten für diese Gruppe zusätzlich die Kriterien: HOMA-IR <5 , keine bekannte pAVK, Neuropathie, Retinopathie, Nephropathie, Lungenembolie sowie kein T2DM und keine bekannten kardiovaskulären Ereignisse im Sinne von Endpunkten des metabolischen Syndroms.

2.2 MicroRNA Analyse

2.2.1 DNA-Isolation und Qualitätskontrolle

Die RNA wurde aus 200 µL EDTA-Plasma mit dem *miRNeasy Serum/Plasma Kit* (Qiagen, Hilden, Deutschland) unter Verwendung des *miRNeasy Serum/Plasma Kit Handbooks* isoliert. Als Qualitätskontrolle der RNA Isolation wurden die synthetischen RNA Spike-ins UniSp2, UniSp4 und UniSp5 in jeweils um 1:1000 sinkender Konzentration aus dem *Spike-in Kit, for RT* (Qiagen) verwendet.

Die isolierte RNA wurde mit dem *miRCURY LNA RT Kit* (Qiagen) nach den Angaben des *miRCURY LNA miRNA PCR Handbooks* in cDNA umgeschrieben. Es wurde 1 µL isolierte RNA in einem 20 µl Reaktionsansatz eingesetzt und die cDNA anschließend 1:40 verdünnt. Als Qualitätskontrolle der Reversen Transkription wurden dem Reaktionsansatz die synthetischen RNA Spike-ins UniSp6 und cel-miR-39-3p zugesetzt.

Der miRNA Gehalt der Proben und die Effizienz der Reversen Transkriptase wurden in einer qPCR von UniSp6, miR-103a-3p, hsa-miR-451a und hsa-miR-23a-3p kontrolliert. Während miR-23a im Plasma relativ stabil ist findet sich miR-451a in Erythrozyten und die Differenz der beiden miRNAs kann als Hämolysekontrolle verwendet werden. 6 von 54 analysierten Proben mit $\Delta Ct(23a-3p-451a) > 6$ wurden aufgrund von hoher Wahrscheinlichkeit von Hämolyse aus den weiteren Experimenten ausgeschlossen, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch miterfasste erythrozytäre miRNAs zu vermeiden (Blondal et al. 2013). MiR-103a-3p wird als potenzielle stabile endogene Kontrolle beschrieben (Qiagen *miRCURY LNA miRNA PCR Starter Kit Handbook*, (*miRCURY LNA miRNA PCR Starter Kit* 2023)). Von den verbliebenen 48 Proben wurden diejenigen 40 Proben mit dem höchsten Gehalt an miR-103a-3p für die Analyse anhand der *miRCURY-NA miRNA Focus PCR Panels* (Qiagen) ausgewählt. Dadurch sollte die Auswahl von Proben mit insgesamt höherem miRNA Gehalt und dadurch höherer Wahrscheinlichkeit zum Nachweis auch gering konzentrierter miRNAs gewährleistet werden. Jede Reaktion wurde als Triplikat durchgeführt.

2.2.2 PCR Screening-Panels

Nach dem Ausschluss hämolytischer Proben wurden bei den 40 Proben mit der größten Menge an miR-103a-3p anhand einer qPCR mit *Human Serum/Plasma Focus miRCURY LNA miRNA Focus PCR Panels* (Qiagen) 179 regelmäßig im Plasma vorkommende miRNAs quantifiziert.

In allen PCR Reaktionen wurden jeweils 3 µL 1:40 verdünnte cDNA und Reagenzien aus dem *miRCURY LNA miRNA PCR Starter Kit Human* (Qiagen) oder *miRCURY LNA SYBR Green PCR Kit (4000)* (Qiagen) in einem Reaktionsvolumen von 10 µL pro well verwendet. Alle PCR Reaktionen wurden mit einem Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex PCR System unter folgenden von Qiagen im Handbuch aufgeführten Bedingungen durchgeführt: 2 Minuten initiale Hitzeaktivierung bei 95 Grad gefolgt von 40 Zyklen von 10 Sekunden Denaturierung bei 95 Grad und 60 Sekunden kombinierten Annealing und Verlängerung bei 56 Grad mit abschließender Analyse der Schmelzkurve.

2.2.3 Präprozessierung der qPCR Daten

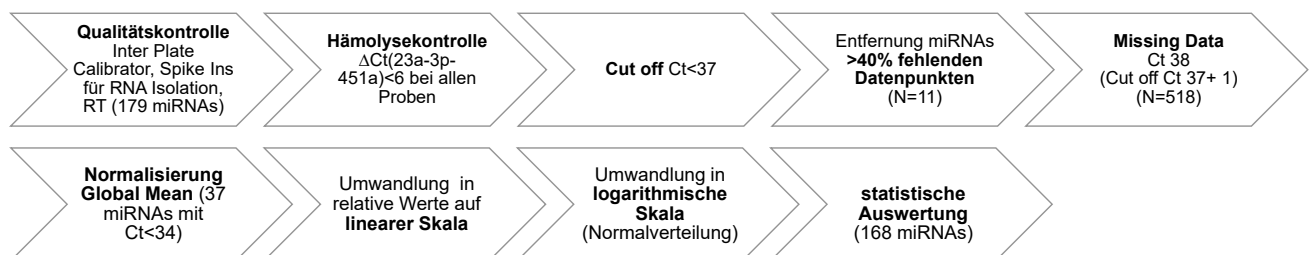


Abbildung 2: Flowchart miRNA Präprozessierung, Vorgehen nach (Blaga Bego)

Die Präprozessierung der qPCR Daten aus den PCR Screening-Panels erfolgte mit dem Programm *GenExTM* (multiD Analyses), Abbildung 2 gibt einen Überblick über das erfolgte Vorgehen. Schwankungen innerhalb der verschiedenen PCR Platten und PCR Läufe wurden anhand des in den Platten bereits vorgelegten Inter-plate Calibrators UniSp3 ausgeglichen. Es folgte die Qualitätskontrolle der oben beschriebenen RNA-Spike-ins für RNA Isolation und Reverse Transkription und eine erneute Kontrolle der Hämolyse, bei der $\Delta Ct(23a-3p-451a)$ bei allen Proben kleiner 6 war.

Da die RT-PCR mit 40 Zyklen durchgeführt wurde liegt der maximale, die kleinstmögliche detektierbare miRNA-Konzentration anzeigende Ct-Wert bei 39,99. Mit steigendem Ct-Wert ist allerdings auch mit einer steigenden Schwankung durch

Pipettierfehler und einer größeren Ungenauigkeit aufgrund Schwankungen der PCR Effizienz zu rechnen. Außerdem werden mit hohen Ct-Werten auch unabhängig von diesen Faktoren äußerst kleine Mengen an miRNAs nachgewiesen. Ein Ct-Wert von 35 entspricht ungefähr dem Nachweis von 10 Kopien im eingesetzten Probenvolumen (Huggett et al. 2013), weshalb dieser Wert zum Beispiel von Ronde et al. (2017) (Ronde et al. 2017) als geeigneter Cut-off Wert vorgeschlagen wird. Da sich im erhobenen Datensatz ein großer Teil der erhobenen Ct- Werte zwischen 30 und 40 befindet und bei einem Cut-off von 35 potenziell wertvolle Datenpunkte verloren gehen würden, wurde in dieser Arbeit ein Cut-off von 37 festgelegt.

2.2.4 Umgang mit fehlenden Datenpunkten

Es waren aus zwei Gründen eine hohe Anzahl an fehlenden Messpunkten zu erwarten. Zum einen, weil allgemein bekannt ist, dass zirkulierende miRNAs in sehr geringen, Konzentrationen vorkommen können. Zum anderen, weil die Verwendung der *Human Serum/Plasma Focus miRCURY LNA miRNA Focus PCR Panels* (Qiagen) im Sinne eines Screening-Ansatzes die Zielsetzung hatte, einen Überblick über die Mengen der häufig im Serum vorkommenden miRNAs zu erhalten. Aufgrund dieser Zielsetzung war jedoch keine gleichzeitige spezifische Anpassung an Stichprobencharakteristika möglich, sodass hierdurch anzunehmend weitere fehlende Messpunkte bei in der analysierten Kohorte nicht so abundant vorkommenden miRNAs entstanden sind.

Die in dieser Arbeit verwendete Methode zum Umgang mit fehlenden Datenpunkten beruhte auf folgenden Grundsätzen:

Um eine valide Datenauswertung zu gewährleisten, sollten möglichst nur Datenpunkte verwendet werden, deren Werte mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht durch oben beschriebene Faktoren verfälscht oder beeinflusst wurden. Aus diesem Grund wurde ein Cut-off bei einem Ct-Wert von 37 festgelegt. Gleichzeitig sind für einige statistische Methoden jedoch vollständige Datensätze nötig, die keine fehlenden Daten tolerieren. Durch einen einfachen Ausschluss von hohen Ct-Werten würden zum Beispiel für eine multivariate Regressionsanalyse mittels partiellen kleinsten Quadranten (Partial Least Squares, PLS) gesamte Proben inklusive deren Werte für andere miRNAs wegfallen. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, durch den Cut-off entfernte Werte möglichst adäquat zu ersetzen.

Im vorhandenen Datensatz gibt es zwei Arten von fehlenden Ct-Werten: Solche, die bereits von vornherein nicht detektierbar waren und solche, deren Ct-Wert zwischen 37 und 40 lag und daher als nicht aussagekräftig eingestuft wurden. Da die Messungen als Einfachbestimmungen durchgeführt wurden, war es nicht möglich, technisch ungültige von aufgrund niedriger eingesetzter miRNA Konzentration nicht detektierbaren Werten zu unterscheiden. Technisch ungültige Messungen könnten bei Zweifach- oder Dreifachmessungen an innerhalb der Duplikate oder Triplikate zu stark voneinander abweichenden Ct-Werten erkannt werden, Ronde et al. (2013) schlägt hier einen Ausschluss und Ersatz durch multiple Imputationen von Werten ab einem Unterschied größer als 0,5 Ct vor. Da in der untersuchten Stichprobe aber insgesamt die Mengen der detektierten miRNAs eher gering waren, was an den insgesamt hohen Ct-Werten erkennbar ist und außerdem die Auswertung der Kontrollen einen sehr stabilen und reproduzierbaren Verlauf der Experimente anzeigt ist hier anzunehmen, dass die fehlenden Werte aufgrund zu geringer eingesetzter Konzentration nicht detektierbar waren.

Leider gibt es kein standardmäßiges, etabliertes Verfahren zum Umgang mit fehlenden Datenpunkten bei RT-PCR Experimenten. Manche Autor:innen setzen nicht messbare Werte standardmäßig auf Ct=40 (Schulte et al. 2015), andere werten nach der Verwendung der gleichen Screening-Panels nur miRNAs mit vollständigen Datensätzen aus (Bryant et al. 2012).

In dieser Arbeit erfolgte die Auswertung einem Vorschlag von Ronde et al. (2017) folgend. Die Autor:innen schlagen hier vor, den jeweils niedrigsten gemessenen Ct-Wert einer miRNA zu erfassen, und alle für diese miRNA fehlenden Werte mit diesem Ct +1 zu ersetzen. So bleibt gewährleistet, dass allen nicht messbaren Datenpunkten, ein niedriger, an die jeweilige miRNA angepasster Wert zugeteilt wird (Ronde et al. 2017). Hierdurch wird die Auswertung wertvoller Datenpunkte von miRNAs, welche nur in einem Teil der Proben detektiert wurden, gewährleistet. Dies ist in dieser Arbeit gerade vor dem Hintergrund relevant, dass ansonsten Gruppenunterschiede, wenn beispielweise eine miRNA in einer Gruppe in hohen Mengen und in der anderen Gruppe nicht nachgewiesen würde, nicht detektiert werden könnten, da die betroffene miRNA aus der Analyse ausgeschlossen worden wäre. Daher wurden im analysierten Datensatz zunächst alle gemessenen Datenpunkte, die über dem Cut-off von Ct=37 lagen entfernt. Im Sinne einer restriktiven Datenanalyse bei geringer Stichprobenzahl,

einem explorativen Screening-Ansatz und insgesamt geringen nachgewiesenen miRNA-Mengen sollte zudem eine Überinterpretation möglicher Unterschiede vermieden werden. Daher wurden im Folgenden 11 miRNAs, die mehr als 40% fehlende Datenpunkte hatten, von der Analyse ausgeschlossen. Den Wert der verbliebenen 518 Messpunkte mit Ct-Wert >37 wurden wie oben erläutert auf $Ct_{\max}+1$, also auf Ct=38 gesetzt.

2.2.5 Normalisierung

Ähnlich wie bei dem Umgang mit fehlenden Datenpunkten und dem Setzen eines Cut-offs für hohe Ct-Werte gibt es auch für die Normalisierung von qPCR miRNA Daten bisher keinen wissenschaftlichen Konsens (Santovito und Weber 2017). Ein großer Teil der Studien arbeitet aktuell aber mit dem Vergleich der zu analysierenden miRNAs mit stabilen endogenen miRNAs (Schwarzenbach et al. 2015) und generell anderen nicht-kodierenden RNAs als konstante Kontrollgrößen zur Normalisierung (Chugh und Dittmer 2012b). Es wird eine Normalisierung zum globalen Mittelwert empfohlen, mindestens jedoch die Verwendung von drei stabilen Referenzgenen bzw. endogenen miRNAs (Chugh und Dittmer 2012a; Vandesompele et al. 2002).

Die Normalisierung der Daten erfolgte hier nach Empfehlung des GenEx Data Analysis Guide (Blaga Bego) aufgrund des ungezielten Versuchsformats mit der Analyse von >100 einzelnen Genen anhand des globalen Mittelwert aller 37 stabil exprimierten Gene mit einem mittleren Ct Wert <34 (Tabelle 4). Abschließend erfolgte die Umwandlung in relative Größen auf der linearen Skala und dann die Umwandlung in eine logarithmische Skala, um eine Normalverteilung für weitere statistische Analysen zu erhalten.

2.3 Lipidomics

2.3.1 Lipidextraktion

Die Lipidextraktion wurde mit 10 µL EDTA-Plasma gemäß dem Verfahren von Bligh und Dyer (BLIGH und DYER 1959) in Gegenwart nicht natürlich vorkommender Lipidspezies als interne Standards durchgeführt. Die folgenden Lipidspezies wurden als interne Standards hinzugefügt: PC 14:0/14:0, PC 22:0/22:0, PE 14:0/14:0, PE 20:0/20:0 (Di-Phytanoyl), PI 17:0/17:0, LPC 13:0, LPC 19:0, Cer d18:1/14:0, Cer d18:1/17:0, D7-FC, CE 17:0, CE 22:0, TG 51:0, TG 57:0, DG 28:0 und DG 40:0.

Gewebehomogenisate mit einem Nassgewicht von 2 mg wurden extrahiert. Die Chloroformphase wurde mit einem Pipettierroboter (Tecan Genesis RSP 150) gewonnen und vakuumgetrocknet. Die Rückstände wurden entweder in 10 mM Ammoniumacetat in Methanol/Chloroform (3:1, Vol./Vol.) (für Tandem-Massenspektrometrie mit niedriger Massenauflösung) oder Chloroform/Methanol/2-Propanol (1:2:4, Vol./Vol./Vol.) mit 7,5 mM Ammoniumformiat (für hochauflösende Massenspektrometrie) gelöst.

2.3.2 Massenspektrometrische Analyse

Die Analyse der Lipide wurde anhand direkter Fließinjektionsanalyse (FIA) mit einem Dreifach-Quadrupol-Massenspektrometer (FIA-MS/MS; QQQ-Dreifach-Quadrupol) und einem Hybrid-Quadrupol-Orbitrap-Massenspektrometers (FIA-FTMS; hohe Massenauflösung) durchgeführt.

FIA-MS/MS (QQQ) wurde in positivem Ionenmodus unter Verwendung des bereits beschriebenen analytischen Aufbaus und Strategie durchgeführt (Liebisch et al. 2006; Liebisch et al. 2004). Ein Fragment-Ion mit m/z 184 wurde für PC, SM (Liebisch et al. 2004) und LPC (Liebisch et al. 2002) verwendet. Die folgenden Neutralverluste wurden angewendet: PE 141, Phosphatidylglycerol (PG) 189 und PI 277 (Matyash et al. 2008). PE P wurden nach den von Zemski-Berry (Zemski Berry und Murphy 2004) beschriebenen Prinzipien analysiert. Cer und HexCer auf Sphingosinbasis wurden unter Verwendung eines Fragment-Ions von m/z 264 analysiert (Liebisch et al. 1999).

Der Aufbau der Fourier-Transformations-Massenspektrometrie (FIA-FTMS) ist in Höring et al. (2019) ausführlich beschrieben (Höring et al. 2019). TG, DG und CE wurden im positiven Ionenmodus FTMS im m/z -Bereich von 500-1000 für 1 Minute mit einer maximalen Injektionszeit (IT) von 200 ms, einer automatisierten Verstärkungsregelung (AGC) von 1×10^6 , drei Mikroskans und einer Zielauflösung von 140.000 (bei 200 m/z) gemessen. Der Massenbereich des negativen Ionenmodus wurde in zwei Teile aufgeteilt. LPC wurde im Bereich von 400 bis 600 m/z analysiert. PC, PE, SM und Cer wurden im m/z Bereich von 520 bis 960 gemessen. Die Multiplex-Erfassung (MSX) wurde für die $[M+NH_4]^+$ von freiem Cholesterin (411,43 m/z) und D7-Cholesterin (411,43 m/z) 0,5 min Erfassungszeit mit einer normalisierten Kollisionsenergie von 10%, einer IT von 100 ms, einer AGC von 1×10^5 , einem Isolationsfenster von 1 m/z und einer Zielauflösung von 140.000 verwendet. Die

Details der Datenprozessierung wurden bereits bei Höring et. al unter der Verwendung der ALEX-Software (Husen et al. 2013) beschrieben, die eine Peakzuweisung und eine Intensitätsauswahl umfasst. Die extrahierten Daten wurden mit Hilfe von selbstprogrammierten Makros in Microsoft Excel 2019 weiterverarbeitet.

Die Lipidspezies wurden gemäß dem Vorschlag zur Kurzschreibweise von Lipidstrukturen, die aus der Massenspektrometrie abgeleitet sind, bezeichnet (Liebisch et al. 2013). Für die QQQ-Glycerophospholipid-Spezies basierte die Annotation auf der Annahme von ausschließlich geradzahlig Kohlenstoffketten. Die Annotation der SM-Spezies beruht auf der Annahme, dass eine Sphingoidbase mit zwei Hydroxylgruppen vorhanden ist.

2.3.3 Umgang mit Nullwerten

Bei vier Lipidklassen (DG, TG, CE, PE) wurden bei den Einzelspezies Nullwerte gemessen. Um durch diese in der Auswertung potenzielle Unterschiede nicht zu überschätzen, wurden in Lipidspezies mit Nullwerten diese im Rahmen eines Imputings durch 2/3 des jeweils kleinsten gemessenen Werts ersetzt. In der Addition der Werte zu den Gesamtwerten der jeweiligen Lipidklasse wurden die angepassten Werte jeweils berücksichtigt. Durch dieses Vorgehen soll eine Überschätzung der Unterschiede der Gruppen durch starke Beeinflussung der Mittelwerte durch Nullwerte vermieden werden. Auf ein alternatives restriktiveres Verfahren mit Entfernung aller Lipidspezies aus der Auswertung, deren Anteil an der Lipidklasse weniger als 1% betrug wurde verzichtet, um den Verlust einer ganzen Reihe von Spezies für die Auswertung in den Lipidklassen mit der höchsten Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied, nämlich der Di- und Triglyceride zu vermeiden. Lipidklassen mit geringen Anteilen von weniger als 1% und weniger als 0,1% wurden aber in der folgenden Graphik zur relativen Abweichung der Triglyceride (Abbildung 15) entsprechend gekennzeichnet.

3. Ergebnisse

3.1 Stichprobenpopulation

Von den oben beschriebenen 56 Proben sind 40 Proben von verschiedenen Studienteilnehmer:innen als Stichprobe zur Analyse in den PCR Screening-Panels und des Lipidprofils eingegangen. Hierbei wurden 16 Proband:innen (11 Frauen, 5 Männer) der Gruppe der MHO und 24 Proband:innen (13 Frauen, 11 Männer) der Gruppe der MUO zugeteilt. Gemäß der NCEP ATP 3 Kriterien (Tabelle 1) wurden auch eine medikamentöse Therapie eines bestehenden erhöhten Blutdrucks, erhöhter Nüchtern-glucose, erhöhten Triglyzeriden oder HDL-Cholesterin als positives Kriterium gewertet (Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III) 2001).

	metabolisch gesunde Adipositas (MHO)	metabolisch ungesunde Adipositas (MUO)
N (gesamt)	16	24
N (weiblich/ männlich)	11/5	13/11
Alter (Jahre)	41,64±8,95	46,77±8,40
BMI (kg/m ²)	35,56±3,59	44,59±7,03**
Taillenumfang (cm)	106,8±16,2	127,6±13,8**
Blutdruck systolisch (mmHg)	130,4±14,7	150,9±17,7**
Blutdruck diastolisch (mmHg)	82,9 ±7,2	97,6±11,6**
HDL Cholesterin (mg/dl)	65±14	40±9**
Triglyceride (mg/dl)	90±35	219±116**
Nüchtern-glucose (mg/dl)	86±9	129±52**
Insulin basal (mU/L)	9,73±3,61	29,14±17,15**
HOMA IR	2,10±0,91	9,37±6,76**
LDL Cholesterin (mg/dl)	111±29	131±36
Gesamtcholesterin (mg/dl)	196±31	202±41
CRP sensitiv (mg/dL)	5,81±4,40	8,20±5,69
Raucher (%)	18,75	20

Fettdruck: Gruppenauswahlkriterien

*p<0,05 MHO zu MUO

**p<0,001 MHO zu MUO

Tabelle 3: Ausgangsmerkmale beider Gruppen MHO und MUO (MW±1SD)

Bei der Analyse weiterer Stichprobenmerkmale fällt eine ähnliche Altersverteilung in den Untergruppen auf, der durchschnittliche BMI ist als mögliche abhängige Variable in der Gruppe der MHO signifikant geringer. Weitere, mit metabolischer Gesundheit in Verbindung gebrachte Werte, wie das basale Insulin, das LDL-Cholesterin und das CRP, zeigen eine zu den definierten Gruppen passende unterschiedliche Ausprägung mit jedoch nicht signifikanten Unterschieden zwischen MHO und MUO (Tabelle 3).

3.2 MiRNA

3.2.1 Technische Qualität der Ergebnisse

Die in den Methoden beschriebenen synthetischen Spike-Ins für RNA Isolation sowie Reverse Transkription wurden im interexperimentellen Vergleich der PCR-Durchläufe sehr stabil nachgewiesen. Hierdurch zeigt sich die gute technische Qualität der Experimente und damit die gute Vergleichbarkeit dieser zwischen den einzelnen durchgeführten PCR-Durchläufen.

3.2.2 Normalisierung

Es erfolgte die Normalisierung wie in Kapitel 2.2.5 der Methoden beschrieben (Tabelle 4).

Normalisierung zum globalen Mittelwert folgender miRNAs				
miRNAs	hsa-let-7a-5p	hsa-let-7b-5p	hsa-let-7i-5p	hsa-miR-103a-3p
mit Ct<34	hsa-miR-106a-5p	hsa-miR-107	hsa-miR-126-3p	hsa-miR-142-3p
N=37	hsa-miR-146a-5p	hsa-miR-15a-5p	hsa-miR-15b-5p	hsa-miR-16-5p
	hsa-miR-17-5p	hsa-miR-185-5p	hsa-miR-191-5p	hsa-miR-19a-3p
	hsa-miR-19b-3p	hsa-miR-20a-5p	hsa-miR-21-5p	hsa-miR-221-3p
	hsa-miR-223-3p	hsa-miR-23a-3	hsa-miR-23b-3p	hsa-miR-24-3p
	hsa-miR-25-3p	hsa-miR-30d-5p	hsa-miR-320a	hsa-miR-320b
	hsa-miR-423-5p	hsa-miR-484	hsa-miR-92a-3p	hsa-miR-93-5p
	hsa-miR 122-5p	hsa-1260a	hsa-miR 150-5p	hsa-miR-451a
	hsa-miR-486-5p			

Tabelle 4

3.2.3 Deskriptive Statistik und univariate Datenanalyse

Im Folgenden (Tabelle 5) sind die Mittelwerte der Ct-Werte der analysierten miRNAs der beiden Gruppen jeweils vor und nach Normalisierung dargestellt. Die miRNAs sind nach dem kleinsten p-Wert und damit der höchsten Wahrscheinlichkeit auf einen Unterschied sortiert. Lediglich hsa-miR-495-3p zeigt einen p-Wert <0,05, es wurde

nicht für multiples Testen adjustiert. Die drei miRNAs mit der höchsten Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied zwischen den Gruppen zeigen allesamt höhere nachgewiesene Mengen bei MHO.

MicroRNA	Ct vor Normalisierung		Ct Normalisiert		p-Wert
	MHO	MUO	MHO	MUO	
hsa-miR-495-3p	35 ± 1,7	36 ± 1,9	-4,9 ± 1,5	-6,1 ± 1,6	0,033
hsa-miR-144-3p	31,7 ± 1,1	32,3 ± 1,7	-1,6 ± 1,1	-2,3 ± 1,2	0,051
hsa-miR-140-3p	32 ± 1,3	32,3 ± 1,7	-1,9 ± 0,6	-2,4 ± 0,8	0,053
hsa-let-7b-5p	30,9 ± 1,4	30,5 ± 1,4	-0,8 ± 0,5	-0,5 ± 0,6	0,056
hsa-miR-766-3p	33,3 ± 1,5	33,8 ± 2	-3,2 ± 1	-3,9 ± 1,2	0,066
hsa-miR-30a-5p	34,5 ± 1,6	33,8 ± 1,1	-4,4 ± 0,8	-3,8 ± 1,3	0,067
hsa-miR-324-3p	34,1 ± 1,5	33,4 ± 1,6	-4 ± 0,8	-3,4 ± 1,0	0,083
hsa-miR-122-5p	31,4 ± 1,8	30,7 ± 1,5	-1,3 ± 0,9	-0,7 ± 1,3	0,09
hsa-miR-18a-5p	32,9 ± 1,5	33,1 ± 1,6	-2,8 ± 0,6	-3,1 ± 0,7	0,09*
hsa-miR-199a-5p	33,1 ± 1,6	33,6 ± 2,2	-3 ± 0,7	-3,6 ± 1,4	0,1002
hsa-miR-877-5p	36,3 ± 1,9	35,3 ± 1,8	-6,3 ± 1,7	-5,3 ± 1,7	0,108
hsa-miR424-5p	34,4 ± 1,5	33,7 ± 1,2	-4,3 ± 1	-3,7 ± 1,2	0,109
hsa-miR-140-5p	35,2 ± 1,9	34,4 ± 1,8	-5,1 ± 1,3	-4,4 ± 1,4	0,114
hsa-miR-136-5p	34,7 ± 1,8	35,3 ± 1,8	-4,6 ± 1,5	-5,3 ± 1,5	0,143
hsa-miR-376c-3p	33,7 ± 1,5	34,2 ± 2,1	-3,6 ± 1,1	-4,2 ± 1,5	0,148
hsa-miR-125b-5p	34,1 ± 1,8	33,4 ± 1,7	-4 ± 1,1	-3,4 ± 1,4	0,151
hsa-miR-339-5p	33,9 ± 1,7	33,4 ± 1,8	-3,8 ± 0,8	-3,4 ± 1	0,162
hsa-miR-335-5p	34,4 ± 1,6	33,8 ± 1,6	-4,3 ± 1,2	-3,8 ± 1,1	0,169
hsa-miR-142-5p	32,2 ± 1,5	32,4 ± 1,6	-2,1 ± 1	-2,4 ± 0,6	0,175
hsa-miR-133b	34,2 ± 1,8	34,7 ± 1,8	-4,1 ± 1,3	-4,7 ± 1,5	0,175
hsa-miR-30d-5p	30,6 ± 1,6	30,3 ± 1,7	-0,5 ± 0,4	-0,3 ± 0,5	0,184
hsa-miR-23b-3p	30,8 ± 1,6	30,9 ± 1,7	-0,7 ± 0,7	-0,9 ± 0,5	0,191
hsa-let-7f-5p	34,6 ± 1,3	34 ± 1,7	-4,5 ± 1,1	-4 ± 1,0	0,194
hsa-miR-143-3p	35,1 ± 2,1	34,4 ± 1,9	-5 ± 1,6	-4,4 ± 1,4	0,194
hsa-miR-15b-3p	35,1 ± 1,4	34,4 ± 1,3	-5 ± 1,5	-4,4 ± 1,3	0,199
hsa-miR-93-5p	30,4 ± 1,4	30,5 ± 1,6	-0,3 ± 0,5	-0,5 ± 0,5	0,213
hsa-miR-376a-3p	34,1 ± 1,9	34,6 ± 2	-4 ± 1,5	-4,6 ± 1,4	0,214

MicroRNA	Ct vor Normalisierung		Ct Normalisiert		p-Wert
	MHO	MUO	MHO	MUO	
hsa-miR-425-3p	34,9 ± 2,1	34,1 ± 2,1	-4,8 ± 1,8	-4,2 ± 1,6	0,216
hsa-miR-28-3p	33,8 ± 2	34,1 ± 2,1	-3,7 ± 1,4	-4,2 ± 1,1	0,223
hsa-miR-363-3p	34,2 ± 1,5	33,6 ± 1,9	-4,1 ± 0,9	-3,6 ± 1,3	0,224
hsa-miR-193a-5p	34,2 ± 1,5	33,5 ± 1,2	-4,1 ± 1,4	-3,6 ± 1,5	0,24
hsa-miR-130a-3p	32 ± 1,4	32,3 ± 1,9	-1,9 ± 0,9	-2,3 ± 0,9	0,244
hsa-miR-652-3p	31,8 ± 1,6	32,1 ± 2,0	-1,7 ± 0,7	-2,1 ± 1,2	0,245
hsa-miR-126-5p	33 ± 1,7	32,7 ± 1,7	-2,9 ± 0,5	-2,7 ± 0,6	0,246
hsa-miR-33a-5p	34 ± 1,3	33,5 ± 1,3	-3,9 ± 0,9	-3,6 ± 1,0	0,247
hsa-miR-483-5p	36,1 ± 1,8	35,1 ± 2,1	-6 ± 2,1	-5,2 ± 2,3	0,254
hsa-miR-365a-3p	35,4 ± 2,1	34,6 ± 1,9	-5,3 ± 1,9	-4,6 ± 1,8	0,257
hsa-miR-502-3p	34,5 ± 1,5	35 ± 1,8	-4,4 ± 1,5	-5 ± 1,6	0,265
hsa-miR-162-3p	34,7 ± 1,5	34 ± 1,8	-4,6 ± 1,6	-4 ± 1,4	0,273
hsa-miR-130b-3p	33,6 ± 1,3	34 ± 2,0	-3,5 ± 1,1	-4 ± 1,5	0,274
hsa-miR-23a-3p	29,3 ± 1,5	29,4 ± 1,7	0,7 ± 0,6	0,6 ± 0,5	0,282
hsa-miR-34a-5p	35,8 ± 1,6	35,1 ± 2,0	-5,7 ± 1,5	-5,1 ± 1,8	0,282
hsa-miR-885-5p	34,8 ± 2,1	34 ± 1,6	-4,8 ± 1,9	-4,1 ± 2	0,289
hsa-miR-501-3p	35,2 ± 1,4	35,6 ± 1,7	-5,1 ± 1,4	-5,7 ± 1,6	0,29
hsa-miR-145-5p	32,7 ± 1,7	33 ± 1,7	-2,7 ± 1,1	-3 ± 0,9	0,294
hsa-miR-128-3p	34,7 ± 2,0	34,1 ± 1,8	-4,6 ± 1,3	-4,1 ± 1,5	0,297
hsa-miR-99a-5p	34,3 ± 1,5	33,8 ± 1,2	-4,3 ± 1,1	-3,9 ± 1,2	0,3
hsa-miR-301a-3p	34,7 ± 2	35,1 ± 2,1	-4,6 ± 1,7	-5,1 ± 1,4	0,311
hsa-miR-20b-5p	35,5 ± 1,5	35,8 ± 1,8	-5,4 ± 1,0	-5,8 ± 1,4	0,323
hsa-miR505-3p	35 ± 1,7	35,3 ± 1,8	-4,9 ± 1,3	-5,3 ± 1,3	0,324
hsa-miR-222-3p	32,6 ± 1,4	32,6 ± 1,6	-2,5 ± 0,4	-2,6 ± 0,5	0,327
hsa-miR-361-5p	33,1 ± 1,6	32,7 ± 1,7	-3 ± 0,8	-2,8 ± 0,8	0,33
hsa-miR-155-5p	35,2 ± 1,5	35,6 ± 2,1	-5,1 ± 1,9	-5,6 ± 1,5	0,35
hsa-let-7e-5p	33,7 ± 1,3	33,3 ± 1,6	-3,6 ± 1,1	-3,3 ± 1,0	0,35

MicroRNA	Ct vor Normalisierung		Ct Normalisiert		p-Wert
	MHO	MUO	MHO	MUO	
hsa-let-7a-5p	31 ± 1,7	30,7 ± 1,8	-1 ± 0,7	-0,8 ± 0,7	0,358
hsa-let-7i-5p	31 ± 1,7	30,7 ± 1,6	-0,9 ± 0,4	-0,8 ± 0,4	0,361
hsa-miR-26b-5p	33 ± 1,8	32,6 ± 1,5	-2,9 ± 1,0	-2,7 ± 0,7	0,367
hsa-miR-660-5p	35,1 ± 1,8	34,6 ± 1,6	-5 ± 1,3	-4,6 ± 1,2	0,374
hsa-miR-106b-5p	32,4 ± 1,8	32,5 ± 1,5	-2,4 ± 0,8	-2,6 ± 0,6	0,375
hsa-miR-126-3p	30,4 ± 1,6	30,1 ± 1,6	-0,3 ± 0,6	-0,1 ± 0,5	0,375
hsa-miR-423-5p	30,6 ± 1,3	30,7 ± 1,3	-0,5 ± 0,7	-0,7 ± 0,5	0,377
hsa-miR-22-3p	31,3 ± 1,8	31,3 ± 1,7	-1,2 ± 0,7	-1,4 ± 0,6	0,379
hsa-miR-18b-5p	33,5 ± 1,7	33,7 ± 2	-3,4 ± 1,0	-3,7 ± 1,1	0,381
hsa-miR-29a-3p	33,7 ± 1,4	33,3 ± 1,3	-3,7 ± 1,0	-3,3 ± 1,2	0,399
hsa-miR-375	35,1 ± 1,6	35,4 ± 1,7	-5 ± 1,4	-5,4 ± 1,7	0,4
hsa-miR-874-3p	35,1 ± 1,4	35,4 ± 1,8	-5 ± 1,5	-5,4 ± 1,6	0,404
hsa-miR-205-5p	34,9 ± 1,3	35,4 ± 2,7	-4,8 ± 1,8	-5,4 ± 2,3	0,409
hsa-miR-1260a	31,7 ± 0,7	31,3 ± 1,3	-1,7 ± 1,0	-1,4 ± 1,2	0,417
hsa-miR-139-5p	34,6 ± 1,3	34,2 ± 1,6	-4,5 ± 1,2	-4,2 ± 1,3	0,423
hsa-miR-148a-3p	33,1 ± 1,6	32,8 ± 1,4	-3 ± 0,7	-2,8 ± 0,8	0,427
hsa-miR-152-3p	33,5 ± 1,4	33,7 ± 2	-3,4 ± 1,0	-3,8 ± 1,6	0,437
hsa-miR-7-5p	35,3 ± 2,1	35,5 ± 1,8	-5,2 ± 1,9	-5,6 ± 1,4	0,44
hsa-miR-106a-5p	30,5 ± 1,5	30,5 ± 1,6	-0,4 ± 0,3	-0,5 ± 0,5	0,449
hsa-miR-26a-5p	31,3 ± 1,9	31,4 ± 1,8	-1,3 ± 1,0	-1,5 ± 0,6	0,458
hsa-miR-19b-3p	29,9 ± 1,7	29,9 ± 1,6	0,2 ± 0,7	0,1 ± 0,6	0,461
hsa-miR-338-3p	35,2 ± 1,8	34,7 ± 2,1	-5,1 ± 1,2	-4,7 ± 1,7	0,464
hsa-miR-133a-3p	34,5 ± 1,9	34,9 ± 2,1	-4,5 ± 1,7	-4,9 ± 1,9	0,466
hsa-miR-181a-5p	33,1 ± 1,5	33,2 ± 1,8	-3 ± 1,0	-3,2 ± 0,9	0,482
hsa-miR-324-5p	34,5 ± 2	34,1 ± 1,8	-4,4 ± 1,4	-4,1 ± 1,3	0,485
hsa-miR-320c	31,7 ± 1,3	31,7 ± 1,5	-1,6 ± 0,8	-1,8 ± 0,6	0,492
hsa-miR-2110	35,2 ± 1,4	34,8 ± 1,7	-5,1 ± 1,2	-4,8 ± 1,4	0,498
hsa-let-7d-5p	32,5 ± 1,7	32,2 ± 1,8	-2,4 ± 0,9	-2,2 ± 0,6	0,498
hsa-miR-10b-5p	33,7 ± 1,1	33,8 ± 1,4	-3,6 ± 0,8	-3,9 ± 1,1	0,501

MicroRNA	Ct vor Normalisierung		Ct Normalisiert		p-Wert
	MHO	MUO	MHO	MUO	
hsa-miR-15a-5p	30,9 ± 1,4	30,8 ± 1,5	-0,8 ± 0,4	-0,9 ± 0,4	0,504
hsa-miR-382-5p	34,5 ± 2,4	34,7 ± 2,0	-4,4 ± 2,0	-4,8 ± 1,4	0,513
hsa-miR-32-5p	34,2 ± 1,2	34,3 ± 1,1	-4,1 ± 1,1	-4,3 ± 1,1	0,519
hsa-miR-320a	29,3 ± 1,6	29 ± 1,5	0,8 ± 0,6	0,9 ± 0,4	0,527
mmu-miR-378a-3p	34,3 ± 1,5	34 ± 1,6	-4,2 ± 1,0	-4,0 ± 0,9	0,531
hsa-miR-486-5p	27,5 ± 1,6	27,6 ± 1,5	2,6 ± 1,3	2,4 ± 1	0,535
hsa-miR-99b-5p	33,8 ± 1,8	34 ± 1,9	-3,7 ± 1,3	-4 ± 1,4	0,535
hsa-miR-29b-3p	34,8 ± 1	34,5 ± 0,9	-4,7 ± 1,3	-4,5 ± 0,9	0,543
hsa-miR409-3p	34 ± 2,1	34,1 ± 1,8	-3,9 ± 1,3	-4,2 ± 1,2	0,544
hsa-miR-221-3p	30,3 ± 1,7	30,3 ± 1,8	-0,2 ± 0,5	-0,4 ± 0,8	0,549
hsa-miR-223-3p	27,6 ± 1,6	27,6 ± 1,8	2,4 ± 0,5	2,3 ± 0,5	0,553
hsa-miR-194-5p	34,3 ± 1,9	33,9 ± 1,7	-4,2 ± 1,7	-3,9 ± 1,5	0,572
hsa-miR-320d	32,6 ± 1,5	32,6 ± 1,4	-2,5 ± 0,8	-2,7 ± 0,5	0,592
hsa-miR-451a	26,3 ± 1,7	26,3 ± 1,9	3,8 ± 1,0	3,6 ± 1,2	0,605
hsa-miR-107	30,7 ± 1,6	30,7 ± 1,7	-0,6 ± 1,0	-0,8 ± 0,5	0,612
hsa-miR-27a-3p	31,4 ± 1,7	31,3 ± 1,6	-1,3 ± 0,6	-1,4 ± 0,6	0,625
hsa-miR-1	35,6 ± 1,9	35,3 ± 1,1	-5,5 ± 1,9	-5,3 ± 1,4	0,64
hsa-miR-106b-3p	35 ± 1,8	35,1 ± 2,0	-5 ± 1,4	-5,2 ± 1,4	0,656
hsa-miR-127-3p	34,9 ± 2,2	35 ± 2,1	-4,8 ± 1,7	-5,0 ± 1,5	0,663
hsa-miR-215-5p	34,9 ± 1,9	34,6 ± 1,8	-4,8 ± 1,3	-4,6 ± 1,5	0,666
hsa-miR-590-5p	35,2 ± 1,7	35,3 ± 1,5	-5,1 ± 1,6	-5,3 ± 1,2	0,675
hsa-miR-93-3p	35,1 ± 2,0	35,2 ± 2,0	-5,1 ± 1,7	-5,3 ± 1,5	0,685
hsa-miR-29c-3p	32,6 ± 1,6	32,7 ± 1,7	-2,6 ± 0,8	-2,7 ± 1	0,685
hsa-miR-574-3p	34,6 ± 1,0	34,6 ± 2,0	-4,5 ± 1,1	-4,7 ± 1,4	0,69
hsa-miR-103a-3p	30,5 ± 1,8	30,3 ± 1,7	-0,5 ± 0,7	-0,4 ± 0,6	0,691
hsa-let-7g-5p	31,9 ± 1,6	31,7 ± 1,6	-1,9 ± 0,7	-1,8 ± 0,6	0,691
hsa-miR-484	30,4 ± 1,6	30,4 ± 1,5	-0,4 ± 0,6	-0,4 ± 0,5	0,698
hsa-miR-339-3p	35,1 ± 1,9	35,2 ± 1,7	-5 ± 1,6	-5,2 ± 1,3	0,698
hsa-miR-27b-3p	31,6 ± 1,6	31,5 ± 1,6	-1,5 ± 0,6	-1,6 ± 0,7	0,705

MicroRNA	Ct vor Normalisierung		Ct Normalisiert		p-Wert
	MHO	MUO	MHO	MUO	
hsa-miR-146b-5p	34,5 ± 1,1	34,5 ± 1,6	-4,4 ± 1,1	-4,6 ± 1	0,706
hsa-miR-28-5p	34,9 ± 2,2	34,6 ± 2	-4,8 ± 1,7	-4,7 ± 1,4	0,72
hsa-miR-584-5p	33,5 ± 1,6	33,5 ± 1,7	-3,5 ± 1,3	-3,6 ± 1	0,73
hsa-miR-423-3p	31,6 ± 1,4	31,5 ± 1,7	-1,5 ± 0,3	-1,5 ± 0,7	0,759
hsa-miR-101-3p	32,0 ± 1,5	31,9 ± 1,5	-1,9 ± 0,7	-2,0 ± 0,6	0,763
hsa-miR-21-5p	29,6 ± 1,6	29,6 ± 1,7	0,5 ± 0,4	0,4 ± 0,5	0,767
hsa-miR-342-3p	32 ± 0,9	32 ± 1,4	-1,9 ± 0,9	-2,0 ± 0,7	0,769
hsa-miR-328-3p	32,7 ± 1,6	32,5 ± 1,7	-2,6 ± 0,8	-2,5 ± 1,0	0,77
hsa-miR-223-5p	35,7 ± 1,8	35,5 ± 1,8	-5,6 ± 1,5	-5,5 ± 1,3	0,771
hsa-miR-15b-5p	31,7 ± 1,6	31,6 ± 1,6	-1,6 ± 0,4	-1,6 ± 0,4	0,774
hsa-let-7c-5p	31,8 ± 1,5	31,6 ± 1,7	-1,7 ± 0,9	-1,7 ± 0,6	0,783
hsa-miR-485-3p	34,5 ± 2,1	34,3 ± 1,8	-4,4 ± 1,7	-4,3 ± 1,4	0,788
hsa-miR-30c-5p	32,6 ± 1,7	32,6 ± 1,7	-2,5 ± 1,0	-2,6 ± 0,7	0,793
hsa-miR-144-5p	35,9 ± 1,9	35,7 ± 1,8	-5,9 ± 2,1	-5,7 ± 1,8	0,8
hsa-miR-92b-3p	34,8 ± 1,7	34,5 ± 1,4	-4,7 ± 1,6	-4,6 ± 1,5	0,807
hsa-miR-192-5p	34,2 ± 1,8	33,9 ± 1,9	-4,1 ± 1,5	-4 ± 1,5	0,81
hsa-miR-151a-5p	32,3 ± 1,6	32,2 ± 1,8	-2,2 ± 0,6	-2,2 ± 0,8	0,813
hsa-miR-142-3p	30,6 ± 1,7	30,4 ± 1,7	-0,5 ± 0,9	-0,4 ± 0,7	0,813
hsa-miR-197-3p	32,3 ± 1,4	32,3 ± 1,4	-2,2 ± 0,7	-2,3 ± 0,8	0,813
hsa-miR-22-5p	35,8 ± 2	35,6 ± 2	-5,7 ± 1,4	-5,6 ± 1,9	0,829
hsa-miR-30e-5p	32,8 ± 1,9	32,6 ± 1,6	-2,7 ± 0,7	-2,6 ± 0,8	0,831
hsa-miR-17-5p	30,7 ± 1,6	30,6 ± 1,7	-0,6 ± 0,4	-0,7 ± 0,4	0,832
hsa-miR-30e-3p	34,9 ± 1,7	34,9 ± 1,6	-4,8 ± 1,3	-4,9 ± 0,9	0,835
hsa-miR-331-3p	33,7 ± 2,0	33,7 ± 1,7	-3,6 ± 1,2	-3,7 ± 0,9	0,848
hsa-miR-629-5p	35,4 ± 1,7	35,2 ± 1,9	-5,3 ± 1,1	-5,3 ± 1,6	0,852
hsa-miR-20a-5p	29,8 ± 1,7	29,7 ± 1,7	0,3 ± 0,4	0,3 ± 0,4	0,861
hsa-miR-16-5p	27,3 ± 1,5	27,2 ± 1,6	2,8 ± 0,6	2,8 ± 0,7	0,87
hsa-miR-532-3p	34,9 ± 1,1	34,8 ± 1,9	-4,8 ± 1,3	-4,9 ± 1,4	0,871
hsa-miR-199a-3p	31,9 ± 1,8	31,7 ± 1,8	-1,8 ± 0,8	-1,7 ± 0,9	0,879

MicroRNA	Ct vor Normalisierung		Ct Normalisiert		p-Wert
	MHO	MUO	MHO	MUO	
hsa-miR-146a-5p	31,4 ± 1,7	31,2 ± 1,6	-1,3 ± 1	-1,3 ± 0,6	0,882
hsa-miR-30b-5p	32,4 ± 1,7	32,3 ± 1,9	-2,3 ± 0,9	-2,3 ± 1	0,901
hsa-let-7b-3p	35,3 ± 1,4	35,1 ± 2	-5,2 ± 1,2	-5,1 ± 1,9	0,902
hsa-miR-425-5p	31,4 ± 1,6	31,3 ± 1,5	-1,3 ± 0,9	-1,3 ± 0,4	0,909
hsa-miR-125a-5p	32,4 ± 1,6	32,3 ± 1,5	-2,3 ± 0,9	-2,3 ± 0,6	0,909
hsa-miR-532-5p	34,8 ± 2	34,7 ± 1,9	-4,7 ± 1,4	-4,7 ± 1,5	0,91
hsa-miR-326	33,9 ± 1,6	33,9 ± 1,8	-3,9 ± 1,2	-3,9 ± 1,3	0,913
hsa-miR-19a-3p	29,9 ± 1,7	29,8 ± 1,5	0,2 ± 0,6	0,1 ± 0,6	0,915
hsa-miR-374a-5p	33,7 ± 2	33,5 ± 1,7	-3,6 ± 1,3	-3,6 ± 1,3	0,931
hsa-miR-454-3p	35,8 ± 1,8	35,7 ± 2,1	-5,7 ± 1,5	-5,8 ± 1,6	0,936
hsa-miR-210-3p	34,5 ± 2,0	34,4 ± 1,6	-4,5 ± 1,4	-4,4 ± 1,4	0,943
hsa-miR-185-5p	31,0 ± 1,5	30,9 ± 1,5	-0,9 ± 0,4	-0,9 ± 0,6	0,947
hsa-miR-92a-3p	27,0 ± 1,5	26,9 ± 1,4	3,1 ± 0,8	3,1 ± 0,6	0,949
hsa-miR-191-5p	30,8 ± 1,5	30,6 ± 1,7	-0,7 ± 0,6	-0,7 ± 0,5	0,949
hsa-miR-421	35,4 ± 1,6	35,3 ± 2,2	-5,3 ± 1,3	-5,4 ± 1,3	0,957
hsa-miR-24-3p	29,5 ± 1,7	29,4 ± 1,7	0,6 ± 0,5	0,6 ± 0,5	0,963
hsa-let-7d-3p	32,2 ± 1,5	32,1 ± 1,5	-2,2 ± 0,7	-2,1 ± 0,7	0,964
hsa-miR-374b-5p	34,4 ± 2,1	34,2 ± 1,9	-4,3 ± 1,4	-4,3 ± 0,9	0,971
hsa-miR-151a-3p	33,3 ± 2	33,2 ± 2,1	-3,2 ± 1,2	-3,2 ± 1	0,979
hsa-miR-150-5p	30,5 ± 1,2	30,4 ± 1,2	-0,4 ± 0,9	-0,4 ± 1,1	0,98
hsa-miR-100-5p	35,5 ± 1,6	35,4 ± 1,7	-5,4 ± 1,3	-5,4 ± 1,7	0,984
hsa-miR-25-3p	30,0 ± 1,6	29,9 ± 1,5	0,1 ± 0,7	0,1 ± 0,6	0,984
hsa-miR-497-5p	35,6 ± 1,6	35,5 ± 1,9	-5,5 ± 1,6	-5,5 ± 1,9	0,986
hsa-miR-543	35,5 ± 2,1	35,4 ± 2,0	-5,4 ± 1,6	-5,4 ± 1,5	0,991
hsa-miR-186-5p	34,7 ± 2,2	34,6 ± 1,9	-4,6 ± 1,5	-4,6 ± 1,3	0,991
hsa-miR-320b	31,4 ± 1,4	31,3 ± 1,4	-1,4 ± 0,7	-1,4 ± 0,6	0,994
hsa-miR-148b-3p	33,3 ± 1,8	33,2 ± 1,7	-3,3 ± 0,9	-3,3 ± 0,8	0,995
#cel-miR-39-3p	27,5 ± 0,3	27,5 ± 0,4	nicht normalisiert		0,964
#UniSp2	21,5 ± 1,1	21,8 ± 1,1	nicht normalisiert		0,292

MicroRNA	Ct vor Normalisierung		Ct Normalisiert		p-Wert
	MHO	MUO	MHO	MUO	
#UniSp4	28,8 ± 1,2	29,2 ± 1,1	nicht normalisiert		0,373
#UniSp5	33,9 ± 1,0	34,6 ± 1,6	nicht normalisiert		0,123
#UniSp6	19,0 ± 0,4	19,1 ± 0,7	nicht normalisiert		0,828

Tabelle 5: miRNA (MW± SD, vor und nach Normalisierung, T-Test)

3.3 Lipidomics

3.3.1 Auswertungskonzept

Es wurde ein schrittweises und strukturiertes Auswertungskonzept angewendet, um der Komplexität der Daten und deren Struktur Rechnung zu tragen. Im ersten Schritt wurden die einzelnen Lipide in ihrer individuellen, biologischen Funktion betrachtet.

Zuerst erfolgten eine Darstellung und Analyse der absoluten Mittelwerte der einzelnen analysierten Lipidklassen als übergeordnete Kategorien (Abbildung 3, Abbildung 4, Tabelle 6). Nachdem die einzelnen Lipidklassen in deutlich unterschiedlichen Mengen vorkommen, wurden einerseits die in größeren Mengen vorkommenden Lipidklassen (Abbildung 3) und die in geringeren Mengen vorkommenden Lipidklassen (Abbildung 4) jeweils in einer Abbildung dargestellt. Dadurch lassen sich die Gruppeunterschiede auch bei den in geringeren Mengen vorkommenden Lipidklassen besser visualisieren.

Im Weiteren folgt eine Darstellung der einzelnen Lipidspezies der signifikant ($p < 0,05$) unterschiedlichen Lipidklassen in absoluter (Abbildung 5, Abbildung 7, Abbildung 9, Abbildung 11, Abbildung 13, Abbildung 14) und in relativer Abweichung (Abbildung 6, Abbildung 8, Abbildung 10, Abbildung 12, Abbildung 15) der MUO von MHO. Eine Sortierung der Lipidspezies erfolgte jeweils nach Sättigungsgrad und innerhalb der Sättigung in aufsteigender Kettenlänge.

In einem zweiten Schritt erfolgte die multivariate Datenanalyse unter Beachtung einer potenziell auch regulatorischen Ebene. Hierzu wurden zuerst im Rahmen einer univariaten Datenanalyse T-Tests durchgeführt, um Lipidspezies mit tendenziell unterschiedlichen Mittelwerten in den beiden Gruppen für eine weitere Analyse zu identifizieren. Unter der Annahme, dass auch quantitativ gering vorhandene Lipidspezies eine relevante zum Beispiel regulatorische Rolle spielen können, wurden vor der weiteren Analyse alle Lipidspezies auf eine Bandbreite zwischen 0 und 1 normalisiert, um deren Unterschiede vergleichbar zu machen und dadurch allen ($N=216$) gemessenen Lipidspezies die gleiche Gewichtung zuzuweisen. Bei 93 Lipidspezies mit einem p-Wert kleiner oder gleich 0,1 wurde dann die multivariate Datenanalyse mit partiell kleinsten Quadraten durchgeführt.

3.3.2 Univariate Datenanalyse (erster Schritt)

Überblick

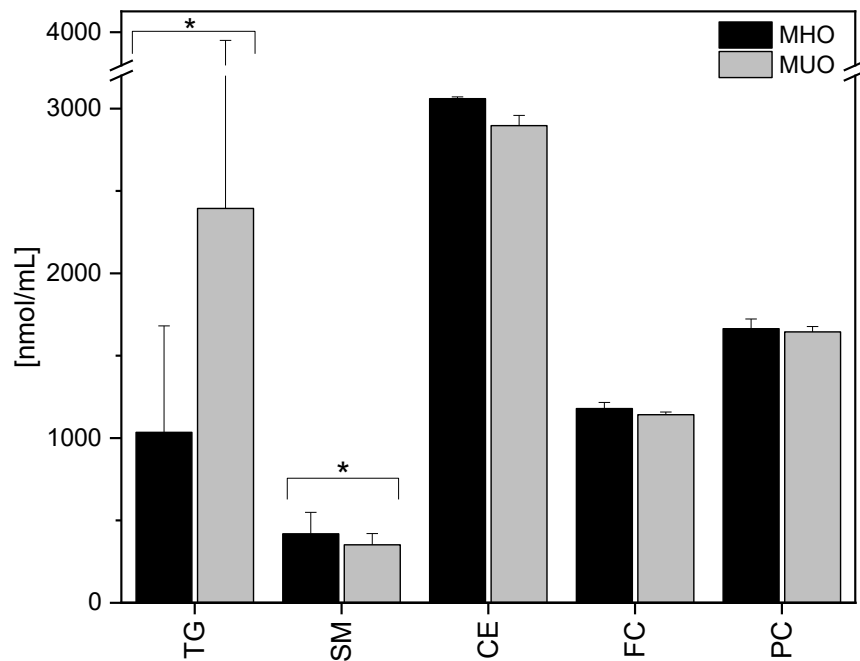


Abbildung 3: Mittelwerte Lipidklassen, Mittelwerte >250 nmol/mL, * $p < 0,05$

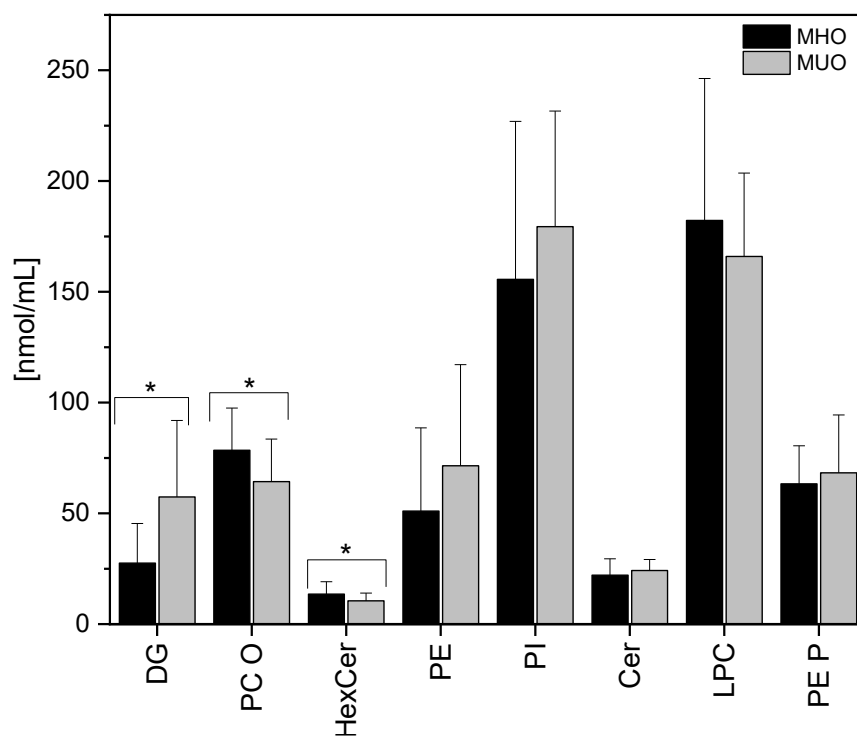


Abbildung 4: Mittelwerte Lipidklassen, Mittelwerte <250 nmol/mL, * $p < 0,05$

Lipidklasse	MHO	MUO	p-Wert
Triglyceride TG	1034,5 ± 646,3	2394,4 ± 1407,3	0,0002**
Diglyceride DG	27,5 ± 17,9	57,4 ± 34,5	0,003*
Phosphatidylcholin-ether PC O	78,5 ± 19	64,3 ± 19,2	0,027*
Sphingomyeline SM	418,8 ± 130,4	352,5 ± 67,6	0,041*
Hexosylceramide HexCer	13,5 ± 5,6	10,5 ± 3,5	0,045*
Phosphatidylethanolamine PE	51 ± 37,6	71,5 ± 45,6	0,144
Phosphatidylinositol PI	155,6 ± 71,3	179,4 ± 52,2	0,229
Ceramide Cer	22,1 ± 7,4	24,2 ± 5	0,282
Lysophosphatidylcholine LPC	182,2 ± 64,1	166 ± 37,6	0,322
PE based plasmalogens PE P	63,3 ± 17,2	68,3 ± 26,1	0,506
Cholesteryl Ester CE	3060,6 ± 1109,6	2896,5 ± 625,6	0,553
Free Cholesterol FC	1179,1 ± 371,2	1141,9 ± 165,4	0,668
Phosphatidylcholine PC	1664,2 ± 596,7	1644,5 ± 339,5	0,895

Tabelle 6: MW±1SD MHO und MUO, [nmol/ml]

Fettdruck: Signifikant unterschiedliche Lipidklassen

*p<0,05

**p<0,001

PC O Phosphatidylcholin-ether

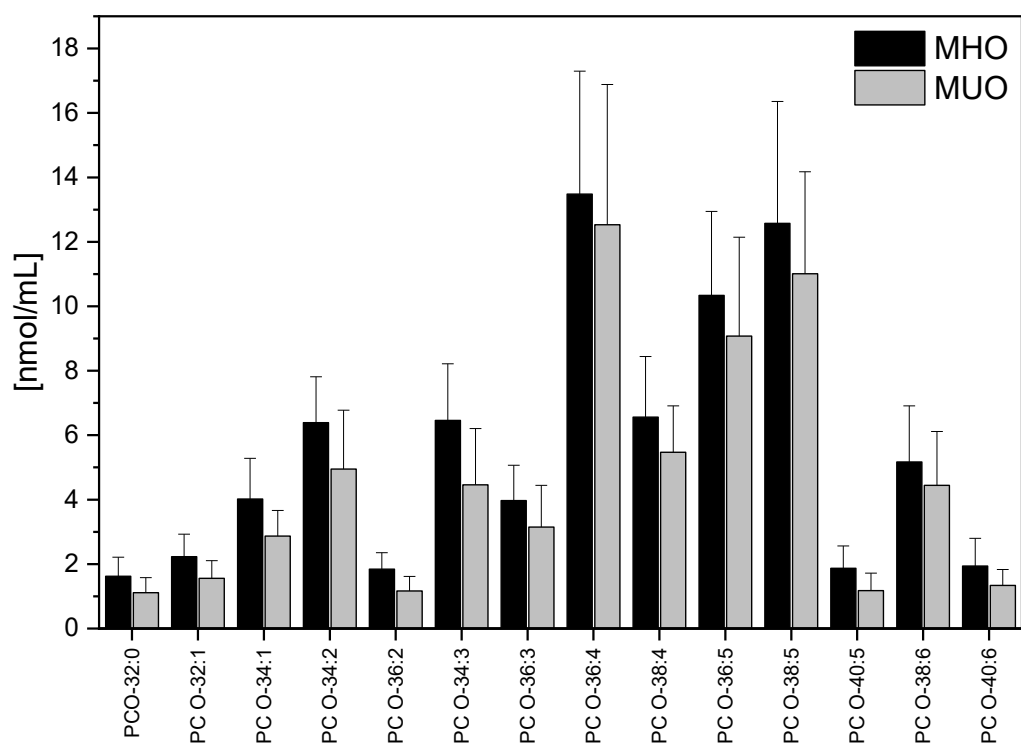


Abbildung 5: PC O Einzelspezies (MW+1SD), Signifikanzen nicht dargestellt

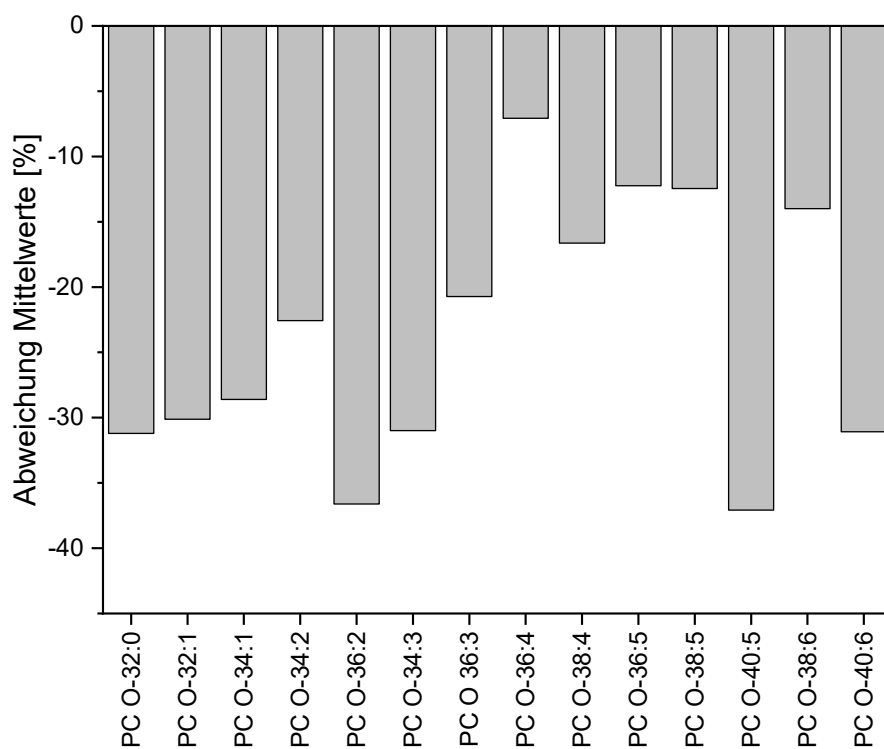


Abbildung 6: PC O relative Abweichung der Mittelwerte MUO von MHO, Signifikanzen nicht dargestellt

SM Sphingomyeline

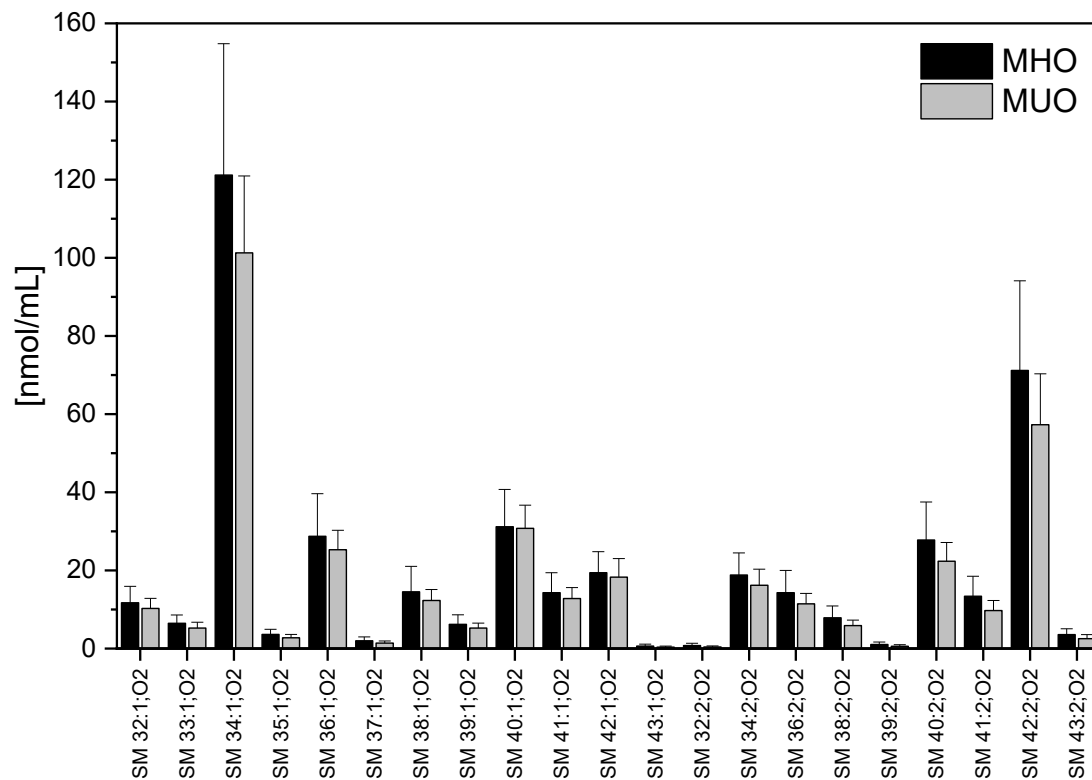


Abbildung 7: SM Einzelspesies (MW+1SD), Signifikanzen nicht dargestellt

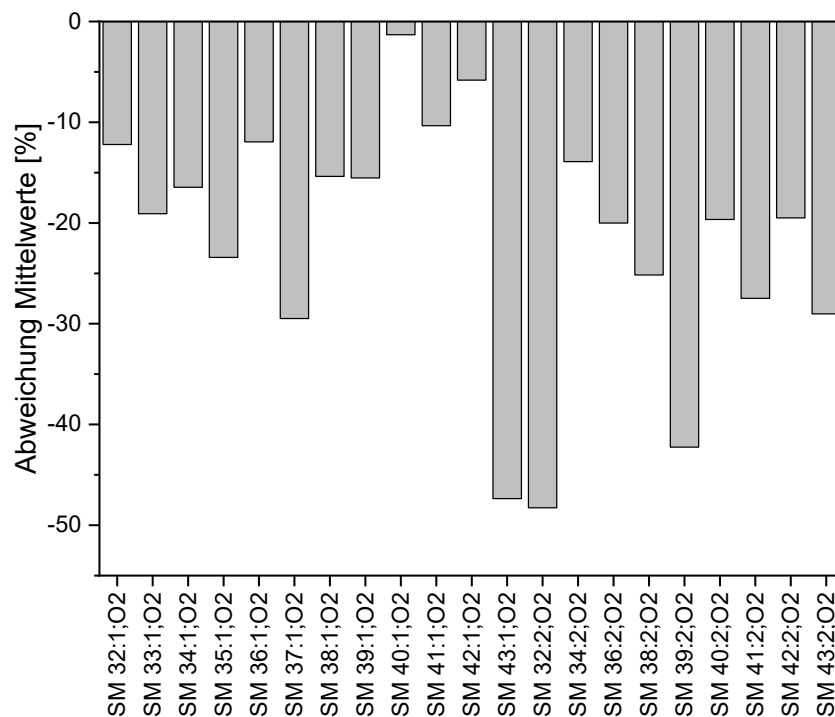


Abbildung 8: SM relative Abweichung der Mittelwerte MUO von MHO, Signifikanzen nicht dargestellt

HexCer Hexosylceramide

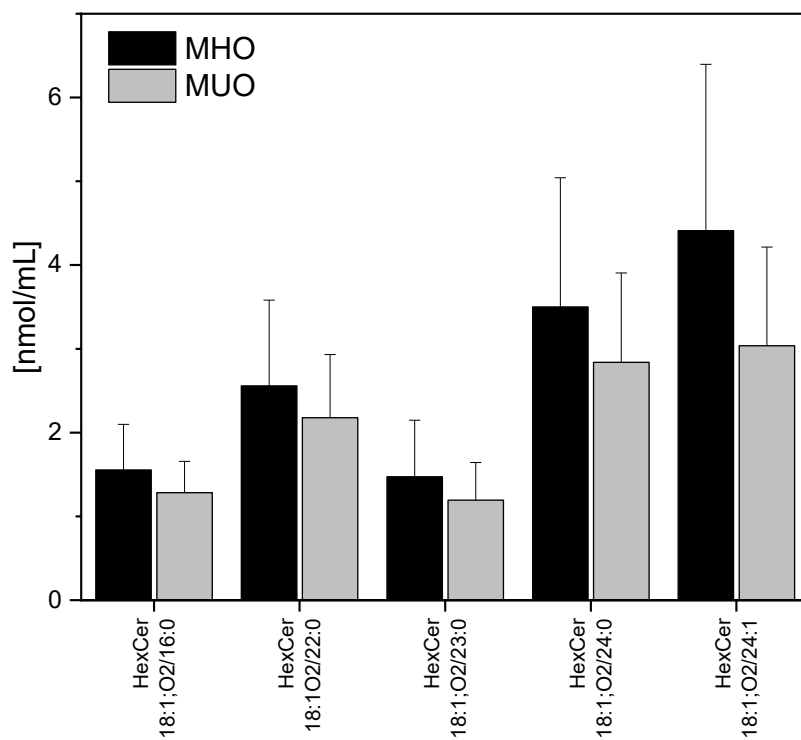


Abbildung 9: HexCer Einzelspezies (MW+1 SD); Signifikanzen nicht dargestellt

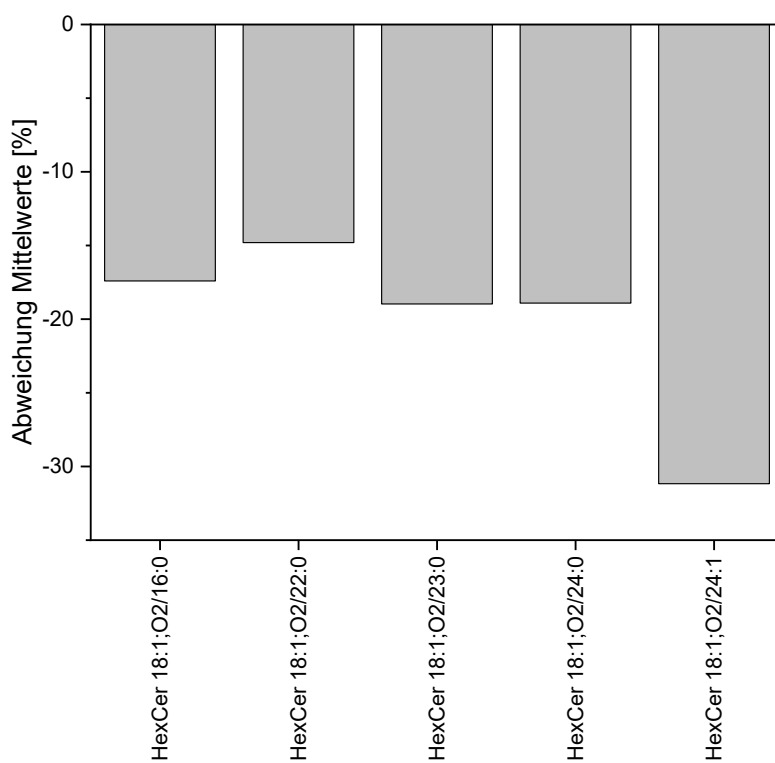


Abbildung 10: HexCer relative Abweichung der Mittelwerte MUO von MHO, Signifikanzen nicht dargestellt

DG Diglyceride

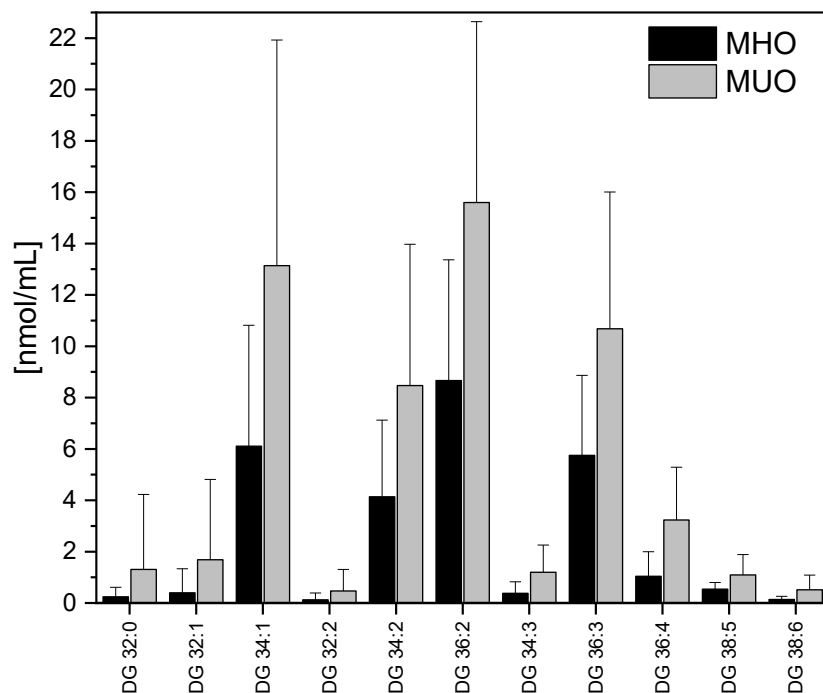


Abbildung 11: DG Einzelspezies (MW+1 SD), Signifikanzen nicht dargestellt

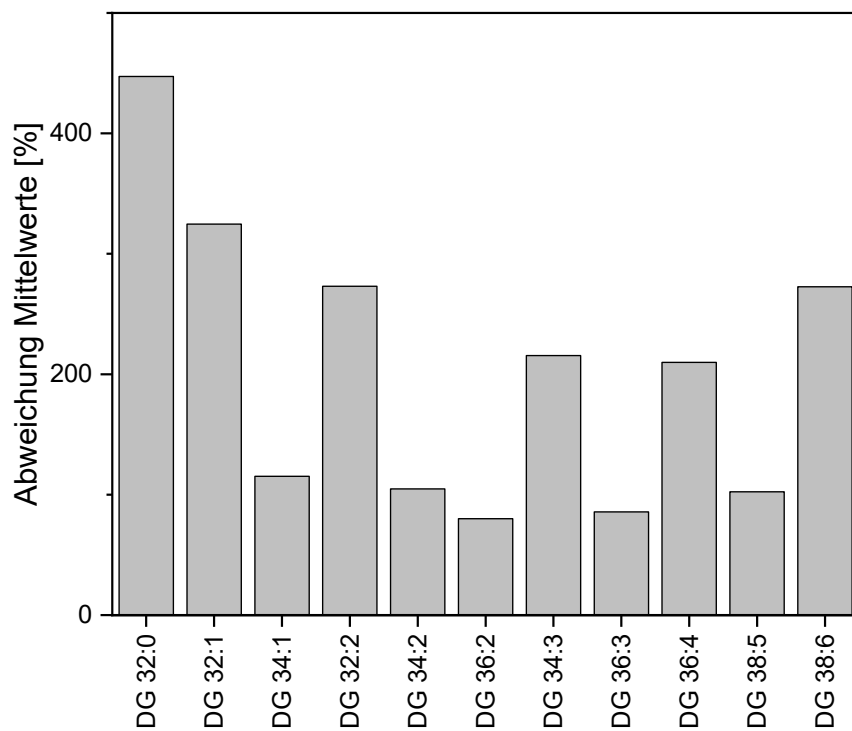


Abbildung 12: DG relative Abweichung der Mittelwerte MUO von MHO, Signifikanzen nicht dargestellt

TG Triglyceride

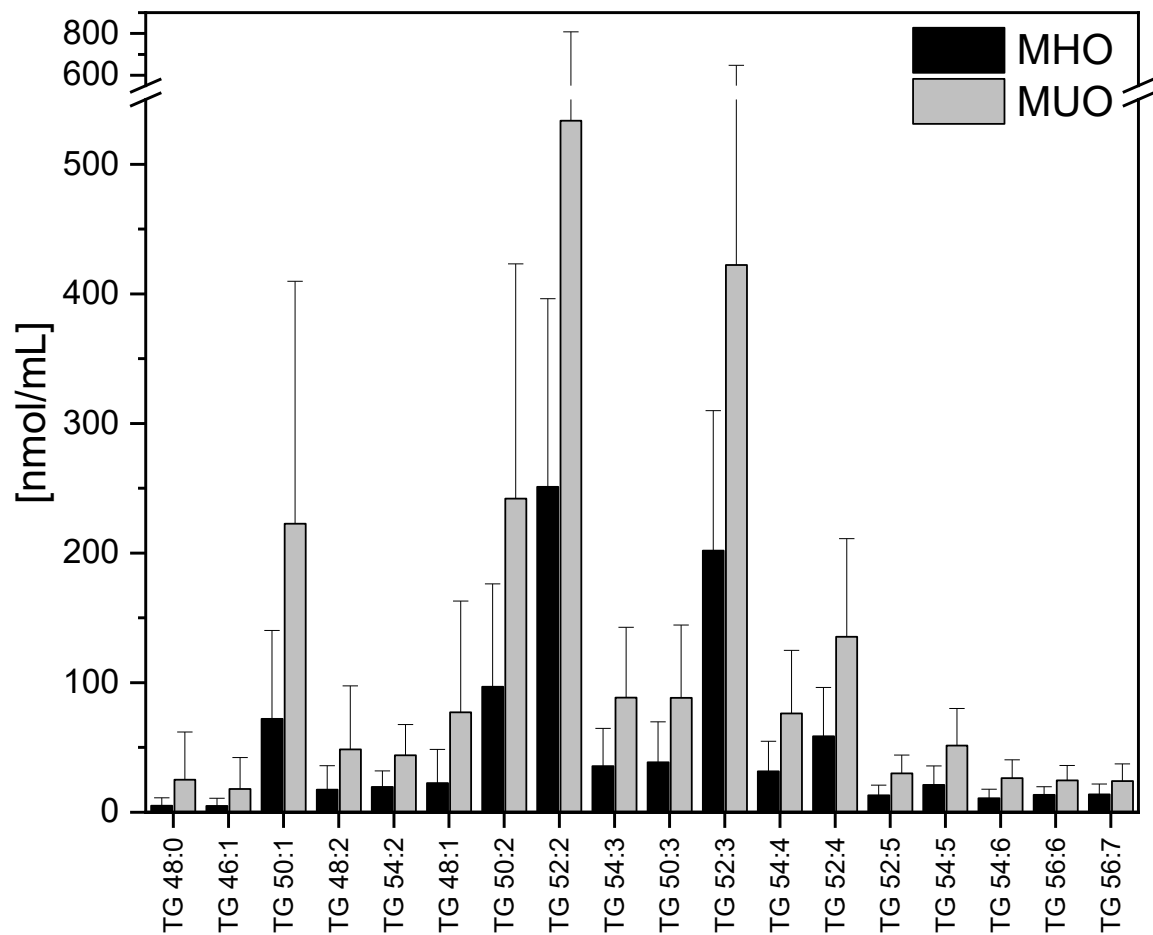


Abbildung 13: TG Einzelspesies, abundante Spezies, Signifikanzen nicht dargestellt

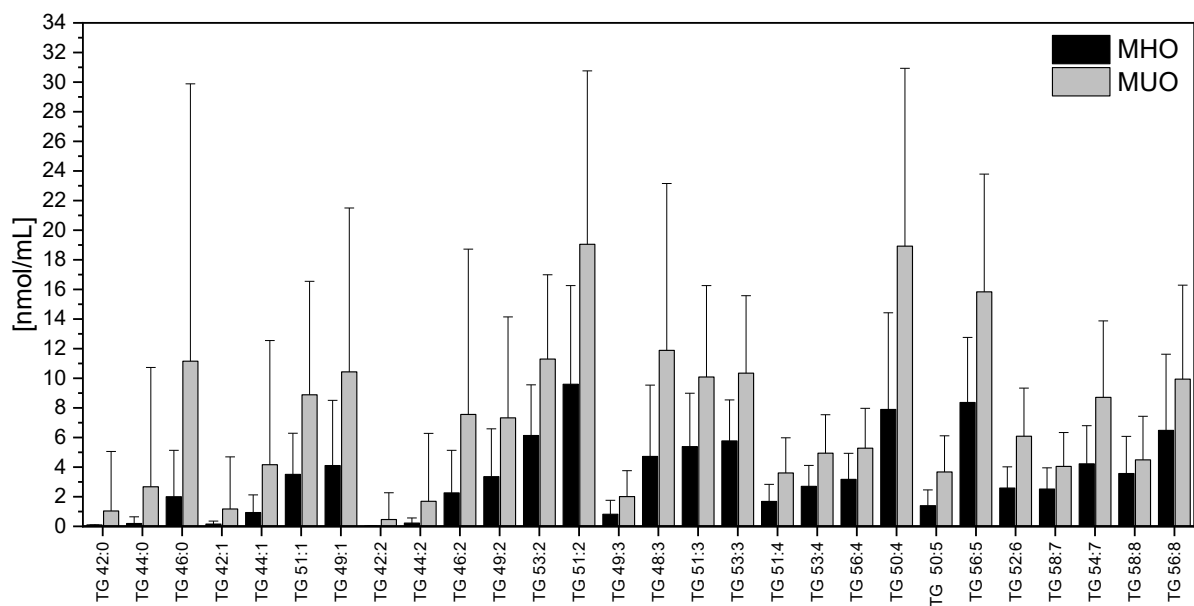


Abbildung 14: TG Einzelspesies, gering abundante Spezies, Signifikanzen nicht dargestellt

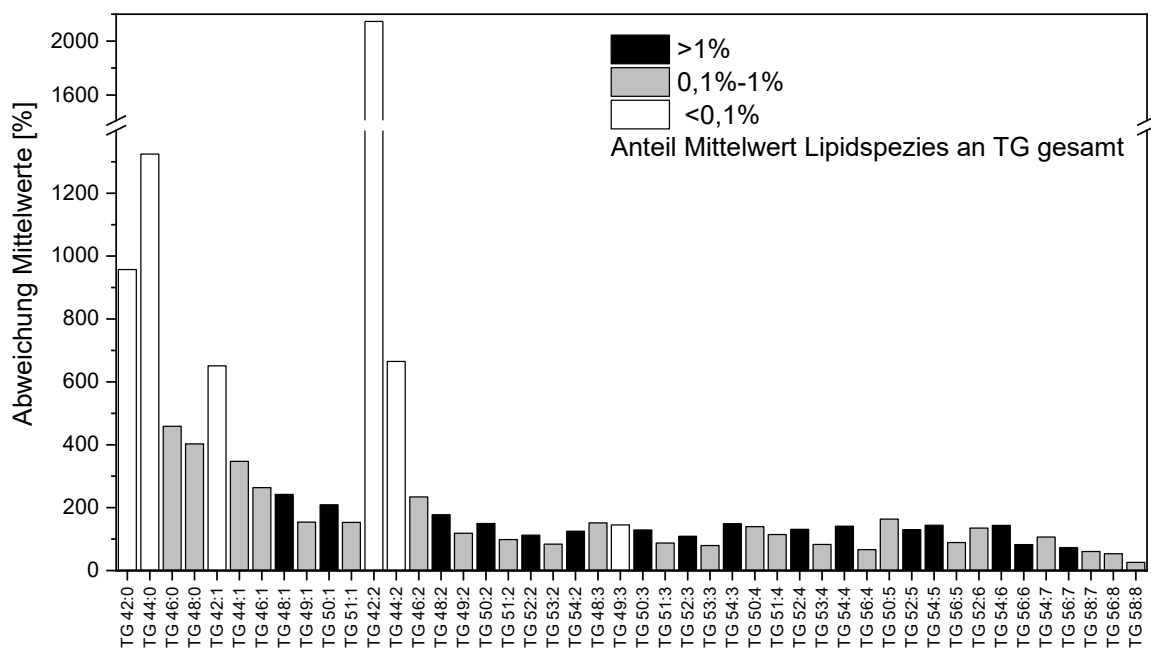


Abbildung 15: Abweichung Lipidspezies bei MUO (MHO=100%), graphisch angedeutete Abhängigkeit von Sättigung. Gering abundante Spezies weiß und hellgrau gekennzeichnet

In der Darstellung der Mittelwerte der relativen Abweichung bei MUO im Vergleich zu MHO der einzelnen Triglyceridspezies (Abbildung 15) zeigt sich eine sättigungsabhängige Erhöhung bestimmter Triglyceridspezies. Innerhalb der jeweiligen Sättigungsgrade deutet sich außerdem eine Erhöhung abhängig von der Kettenlänge an, mit der größten Erhöhung bei MUO im Vergleich zu MUO bei kürzeren Kettenlängen. Ausreißer sind lediglich Lipidspezies, welche einen sehr geringen Anteil an der Gesamtmenge der erfassten Triglyceride haben (leere Balken: Anteil <0,1%, graue Balken: Anteil <1%), diese Triglyceride liegen somit auch nahe der Nachweisgrenze der Messmethode. So zeigt sich graphisch der größte relative Unterschied bei MUO bei gesättigten und einfach ungesättigten Triglyceriden.

3.3.3 Multivariate Datenanalyse mit partiellen kleinsten Quadraten (zweiter Schritt)

In der Definition des MetS als Risikocluster mit verschiedenen beeinflussenden Faktoren bedingt sich auch eine komplexe und multifaktorielle Pathogenese. Mit einer multivariaten Datenanalyse können komplexe Zusammenhänge zwischen mehreren Variablen gleichzeitig untersucht werden.

Es erfolgte eine multivariate Regression mittels Analyse der partiellen kleinsten Quadrate (Partial Least Squares PLS) um ein zuverlässiges Unterscheidungsmodell zur Vorhersage der Einteilung in MHO und MUO zu erstellen, welches die Dimension der Daten reduziert und gleichzeitig die Multikollinearität zwischen den Prädiktoren berücksichtigt.

Zunächst wurden, um allen Lipiden die gleiche Gewichtung für die folgende Analyse zu geben, alle Lipidspezies jeweils auf eine Range von 0-1 normalisiert. Dies erfolgte, indem der jeweils höchste gemessene Wert auf 1 gesetzt wurde und die übrigen Messwerte dazu in Relation gebracht wurden. Lipidspezies, deren Mittelwerte sich (vor der Normalisierung) mit $p \leq 0,1$ unterschieden (N=93, Tabelle 8) wurden in die Analyse mit einbezogen. Ein p-Wert von $p \leq 0,1$ wurde ausgewählt, um einerseits nur Lipidspezies mit einer hohen Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied einzuschließen, andererseits jedoch einen hohen Datenverlust durch eine restriktivere Auswahl zu vermeiden. Es wurde nicht für multiples Testen adjustiert.

Laut RMSE (Root Mean Square Error) Analyse empfiehlt sich für die PLS-Regression mit unserer Stichprobe (N=40) und 93 einbezogenen Lipidspezies (unabhängige Variablen) eine Analyse mit 5 Komponenten. Auf eine Einteilung der vorliegenden Daten in ein Trainings- und ein Testset wurde bei insgesamt geringer Stichprobengröße verzichtet und der gesamte Datensatz als Trainingsset verwendet.

Latente Faktoren	X Varianz	Kumulative X Varianz	Y Varianz	Kumulative Y-Varianz (R-Quadrat)	Adjustiertes R-Quadrat
1	0,443	0,443	0,400	0,400	0,385
2	0,254	0,697	0,076	0,476	0,448
3	0,054	0,751	0,218	0,694	0,668
4	0,040	0,791	0,105	0,798	0,775
5	0,027	0,818	0,048	0,846	0,824

Tabelle 7: Anteil der erklärten Varianz, PLS Lipidomics

Die fünf errechneten Komponenten erreichen zusammen ein hohes adjustiertes R-Quadrat von 0,824 (Tabelle 7), was sich in der guten Trennschärfe durch die einzelnen X-Scores widerspiegelt (Abbildung 16). Das spricht dafür, dass das gewählte Regressionsmodell gut zum ausgewählten Datensatz passt.

Lipidspezies	MHO	MUO	MHO (norm)	MUO (norm)	p-Wert
TG 52:5	13 ± 7,8	29,9 ± 14,3	0,21 ± 0,13	0,48 ± 0,23	0,00002
TG 52:6	2,6 ± 1,4	6,1 ± 3,2	0,18 ± 0,1	0,43 ± 0,23	0,00005
TG 54:6	10,8 ± 6,9	26,3 ± 14,2	0,19 ± 0,12	0,45 ± 0,24	0,00005
DG 36:4	1,0 ± 1,0	3,2 ± 2,1	0,14 ± 0,13	0,45 ± 0,29	0,00007
PC O-36:2	1,8 ± 0,5	1,2 ± 0,4	0,65 ± 0,18	0,41 ± 0,16	0,00008
TG 54:5	21,1 ± 14,6	51,5 ± 28,7	0,19 ± 0,13	0,47 ± 0,26	0,00009
TG 52:2	251,1 ± 145,2	533,6 ± 274,2	0,23 ± 0,13	0,48 ± 0,25	0,0001
TG 54:2	19,6 ± 12,3	44 ± 23,7	0,18 ± 0,11	0,4 ± 0,22	0,0001
TG 52:3	201,9 ± 108,1	422,3 ± 224,7	0,23 ± 0,12	0,47 ± 0,25	0,0002
TG 52:4	58,7 ± 37,6	135,4 ± 75,8	0,19 ± 0,12	0,44 ± 0,24	0,0002
TG 50:5	1,4 ± 1,1	3,7 ± 2,4	0,12 ± 0,09	0,31 ± 0,2	0,0003
TG 54:3	35,5 ± 29,2	88,5 ± 54,2	0,17 ± 0,14	0,43 ± 0,26	0,0003
TG 54:4	31,6 ± 23,2	76,3 ± 48,6	0,18 ± 0,13	0,44 ± 0,28	0,0004
TG 56:6	13,5 ± 6,3	24,6 ± 11,6	0,28 ± 0,13	0,51 ± 0,24	0,0004
PC O-34:1	4,0 ± 1,3	2,9 ± 0,8	0,57 ± 0,18	0,41 ± 0,11	0,001
PC O-40:5	1,9 ± 0,7	1,8 ± 0,5	0,61 ± 0,23	0,38 ± 0,18	0,001
DG 36:2	8,7 ± 4,7	15,6 ± 7,0	0,28 ± 0,15	0,5 ± 0,22	0,001
DG 36:3	5,8 ± 3,1	10,7 ± 5,3	0,28 ± 0,15	0,52 ± 0,26	0,001
TG 53:3	5,8 ± 2,8	10,3 ± 5,2	0,22 ± 0,11	0,4 ± 0,2	0,001
TG 53:4	2,7 ± 1,4	4,9 ± 2,6	0,21 ± 0,11	0,38 ± 0,2	0,001
TG 54:7	4,2 ± 2,6	8,7 ± 5,2	0,19 ± 0,11	0,39 ± 0,23	0,001
TG 56:5	8,4 ± 4,4	15,8 ± 8	0,25 ± 0,13	0,46 ± 0,23	0,001
PC O-34:3	6,5 ± 1,8	4,5 ± 1,7	0,6 ± 0,16	0,42 ± 0,16	0,001
PC O-32:1	2,2 ± 0,7	1,6 ± 0,5	0,55 ± 0,17	0,39 ± 0,13	0,002
CE 22:4	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,53 ± 0,24	0,27 ± 0,23	0,002
TG 50:4	7,9 ± 6,5	18,9 ± 12	0,14 ± 0,12	0,34 ± 0,21	0,002
TG 53:2	6,1 ± 3,4	11,3 ± 5,7	0,21 ± 0,12	0,38 ± 0,19	0,002
TG 50:3	38,5 ± 31,3	88,3 ± 56,2	0,16 ± 0,13	0,36 ± 0,23	0,003
DG 38:5	0,5 ± 0,3	1,1 ± 0,8	0,14 ± 0,07	0,29 ± 0,21	0,004
DG 38:6	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,6	0,06 ± 0,05	0,22 ± 0,25	0,004
TG 50:1	72 ± 68,3	222,7 ± 187,2	0,09 ± 0,08	0,27 ± 0,22	0,004
PC O-32:0	1,6 ± 0,6	1,1 ± 0,5	0,53 ± 0,2	0,37 ± 0,15	0,005
SM 41:2;O2	13,4 ± 5,1	9,7 ± 2,6	0,5 ± 0,19	0,36 ± 0,1	0,005
TG 50:2	96,9 ± 79,3	242,1 ± 181,1	0,11 ± 0,09	0,28 ± 0,21	0,005
TG 51:4	1,7 ± 1,2	3,6 ± 2,4	0,13 ± 0,09	0,29 ± 0,19	0,005
TG 56:7	13,9 ± 8	24 ± 13,4	0,26 ± 0,15	0,45 ± 0,25	0,005
DG 34:1	6,1 ± 4,7	13,1 ± 8,8	0,14 ± 0,11	0,29 ± 0,2	0,006
DG 34:3	0,4 ± 0,4	1,2 ± 1,1	0,08 ± 0,09	0,24 ± 0,21	0,006
TG 51:2	9,6 ± 6,7	19 ± 11,7	0,16 ± 0,11	0,32 ± 0,19	0,006
DG 34:2	4,1 ± 3,0	8,5 ± 5,5	0,15 ± 0,11	0,31 ± 0,2	0,007
SM 38:2;O2	7,9 ± 3,0	5,9 ± 1,4	0,51 ± 0,2	0,38 ± 0,09	0,008
TG 51:3	5,4 ± 3,6	10,1 ± 6,2	0,16 ± 0,11	0,31 ± 0,19	0,009
TG 56:4	3,2 ± 1,8	5,3 ± 2,7	0,28 ± 0,15	0,46 ± 0,23	0,009
SM 39:2;O2	1,0 ± 0,7	0,6 ± 0,4	0,42 ± 0,27	0,25 ± 0,15	0,01
PC O-34:2	6,4 ± 1,4	4,9 ± 1,8	0,65 ± 0,14	0,5 ± 0,19	0,011
SM 43:2;O2	3,6 ± 1,5	2,5 ± 1,0	0,47 ± 0,19	0,33 ± 0,13	0,011
TG 51:1	3,5 ± 2,8	8,9 ± 7,7	0,09 ± 0,07	0,22 ± 0,19	0,011

Lipidspezies	MHO	MUO	MHO (norm)	MUO (norm)	p-Wert
TG 58:7	2,5 ± 1,4	4 ± 2,3	0,25 ± 0,14	0,41 ± 0,23	0,013
TG 48:0	5 ± 6,1	25,2 ± 36,8	0,03 ± 0,04	0,17 ± 0,24	0,014
PE 36:1	0,9 ± 0,5	1,5 ± 0,8	0,25 ± 0,15	0,41 ± 0,22	0,016
TG 46:1	4,9 ± 5,9	17,9 ± 24,3	0,05 ± 0,06	0,17 ± 0,23	0,018
TG 49:3	0,8 ± 0,9	2 ± 1,8	0,09 ± 0,11	0,23 ± 0,2	0,018
PC O-40:6	1,9 ± 0,9	1,3 ± 0,1	0,58 ± 0,26	0,4 ± 0,15	0,019
SM 42:2;O2	71,2 ± 23	57,3 ± 13	0,51 ± 0,17	0,41 ± 0,09	0,019
TG 48:1	22,5 ± 26	77,1 ± 85,9	0,06 ± 0,07	0,21 ± 0,23	0,019
TG 48:2	17,5 ± 18,4	48,5 ± 49,1	0,09 ± 0,09	0,24 ± 0,24	0,021
HexCer 18:1;O2/24:1	4,4 ± 2,0	3,0 ± 1,2	0,44 ± 0,2	0,31 ± 0,12	0,021
TG 48:3	4,7 ± 4,8	11,9 ± 11,3	0,09 ± 0,09	0,22 ± 0,21	0,022
Cer 18:1;O2/22:0	2,3 ± 0,8	2,8 ± 0,7	0,48 ± 0,17	0,6 ± 0,16	0,022
PC 37:4	4,0 ± 1,6	3,0 ± 0,8	0,52 ± 0,21	0,38 ± 0,1	0,023
SM 34:1;O2	121,2 ± 33,6	101,2 ± 19,7	0,61 ± 0,17	0,51 ± 0,1	0,023
SM 40:2;O2	27,8 ± 9,7	22,3 ± 4,8	0,49 ± 0,17	0,39 ± 0,08	0,023
SM 32:2;O2	0,8 ± 0,6	0,4 ± 0,3	0,35 ± 0,26	0,18 ± 0,12	0,025
TG 46:0	2 ± 3,1	11,2 ± 18,7	0,02 ± 0,04	0,13 ± 0,22	0,027
PE 36:2	4,1 ± 2,8	6,9 ± 4,1	0,21 ± 0,14	0,35 ± 0,21	0,027
SM 35:1;O2	3,6 ± 1,3	2,8 ± 0,8	0,58 ± 0,21	0,45 ± 0,13	0,032
PC 35:2	8,5 ± 3,5	6,5 ± 2,3	0,54 ± 0,22	0,41 ± 0,14	0,036
TG 49:1	4,1 ± 4,4	10,4 ± 11,1	0,08 ± 0,08	0,19 ± 0,2	0,036
TG 49:2	3,4 ± 3,2	7,3 ± 6,8	0,1 ± 0,1	0,22 ± 0,2	0,036
SM 43:1;O2	0,6 ± 0,5	0,3 ± 0,3	0,35 ± 0,27	0,19 ± 0,17	0,037
PE 40:4	0,2 ± 0,4	0,5 ± 0,5	0,1 ± 0,15	0,23 ± 0,21	0,037
SM 33:1;O2	6,5 ± 2,1	5,2 ± 1,5	0,61 ± 0,2	0,49 ± 0,14	0,039
SM 36:2;O2	14,3 ± 5,7	11,4 ± 2,7	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,09	0,04
SM 37:1;O2	2,0 ± 1,0	1,4 ± 0,6	0,48 ± 0,23	0,34 ± 0,13	0,041
PC O-36:3	4,0 ± 1,1	3,1 ± 1,3	0,6 ± 0,16	0,47 ± 0,19	0,043
LPC 15:0	1,0 ± 4,2	0,7 ± 0,2	0,58 ± 0,25	0,43 ± 0,14	0,044
PC O-38:4	6,6 ± 1,9	5,5 ± 1,4	0,64 ± 0,18	0,53 ± 0,14	0,045
PC 33:2	3,1 ± 1,5	2,3 ± 0,8	0,43 ± 0,21	0,32 ± 0,11	0,049
LPC 18:2	26,4 ± 9,8	21,2 ± 7,2	0,57 ± 0,21	0,46 ± 0,16	0,059
PC 35:1	3,5 ± 1,6	2,7 ± 0,6	0,52 ± 0,23	0,4 ± 0,1	0,065
HexCer 18:1;O2/16:0	1,6 ± 0,5	1,3 ± 0,4	0,52 ± 0,18	0,43 ± 0,13	0,070
TG 46:2	2,3 ± 2,9	7,6 ± 11,2	0,04 ± 0,05	0,14 ± 0,21	0,072
TG 56:8	6,5 ± 5,1	9,9 ± 6,4	0,27 ± 0,22	0,42 ± 0,27	0,078
PE 40:6	5,7 ± 4,7	9,0 ± 6,2	0,17 ± 0,14	0,27 ± 0,19	0,082
LPC 18:1	23,3 ± 8,6	19,0 ± 4,8	0,56 ± 0,21	0,46 ± 0,12	0,084
PE 38:4	14,2 ± 9,1	20,8 ± 12,9	0,2 ± 0,13	0,3 ± 0,18	0,087
PC 38:3	37,0 ± 21	47,7 ± 17,8	0,36 ± 0,21	0,47 ± 0,17	0,088
DG 32:0	0,2 ± 0,4	1,3 ± 2,9	0,02 ± 0,03	0,12 ± 0,26	0,089
PE 40:5	1,3 ± 1,2	2,1 ± 1,6	0,15 ± 0,14	0,25 ± 0,19	0,089
CE 15:0	12,5 ± 6,5	9,5 ± 3,2	0,4 ± 0,21	0,3 ± 0,1	0,096
SM 34:2;O2	18,8 ± 5,6	16,2 ± 4,1	0,59 ± 0,18	0,51 ± 0,13	0,097
PI 36:4	5,3 ± 4,4	7,4 ± 3,7	0,27 ± 0,22	0,38 ± 0,18	0,099
PE P-16:0/22:5	1,5 ± 0,6	2,0 ± 0,9	0,4 ± 0,16	0,51 ± 0,23	0,100

Tabelle 8: zwischen MHO und MUO unterschiedliche Lipidspezies ($p \leq 0,1$), Mittelwerte ± 1 Standardabweichung vor und nach Normalisierung (norm), sortiert nach p-Wert

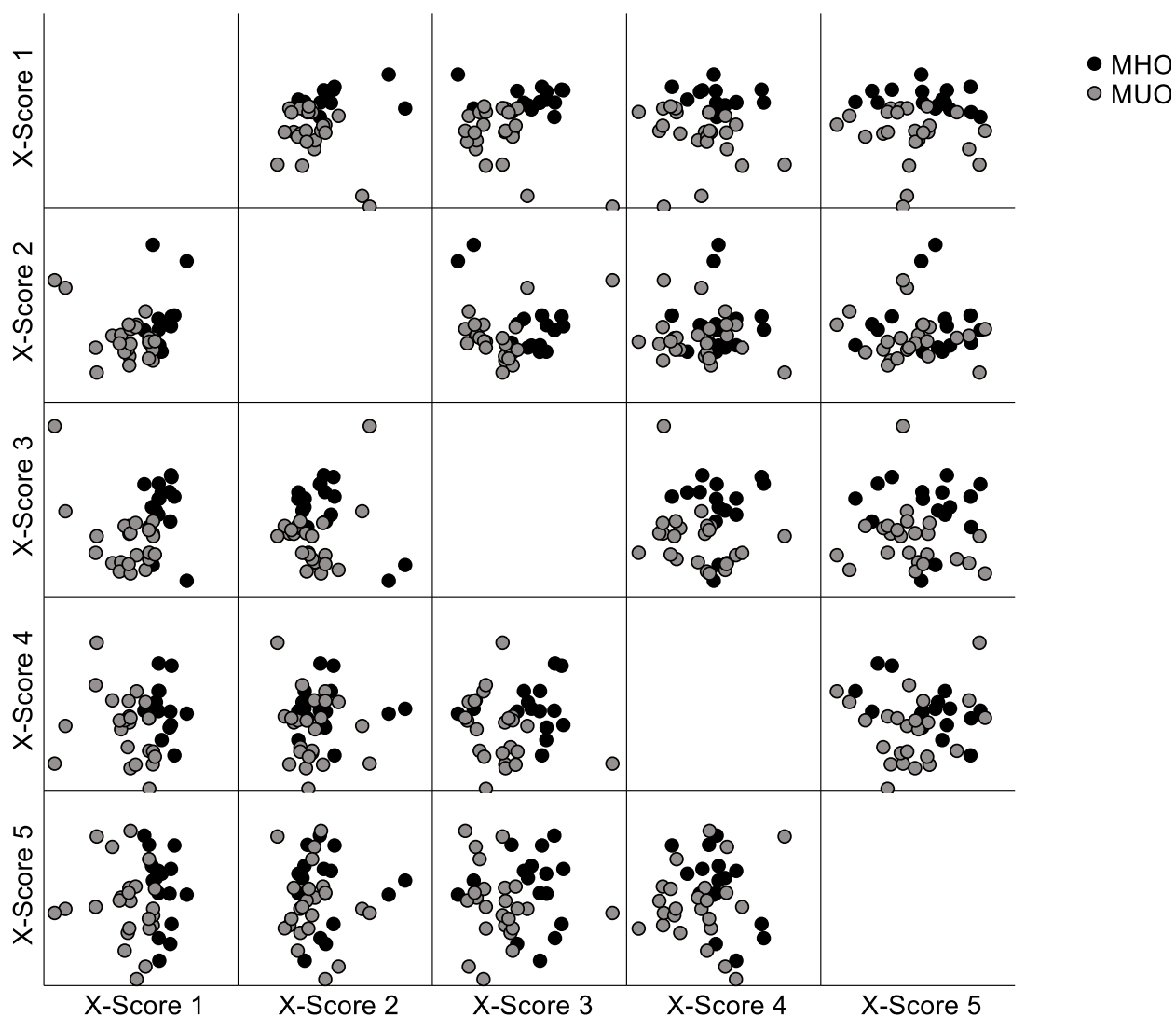


Abbildung 16: Darstellung der einzelnen Scores und wie gut diese die einzelnen Gruppen auftrennen können

Im Folgenden werden die für die jeweiligen Komponenten wichtigen Variablen (Variable Importance in Projection) tabellarisch nach Relevanz dargestellt (Tabelle 9)

Lipidspezies	VIP 1	Lipidspezies	VIP_2	Lipidspezies	VIP 3	Lipidspezies	VIP 4	Lipidspezies	VIP 5
PC O 36:2	1,43	PC O 36:2	1,47	PC 38:3	2,67	PC 38:3	2,86	PC 38:3	2,78
TG 52:5	1,41	PC 37:4	1,38	PEP-16:0/22:5	2,50	PEP-16:0/22:5	2,69	PEP-16:0/22:5	2,62
TG 54:6	1,35	TG 52:5	1,32	Cer 18:1;O2/22:0	2,15	Cer 18:1;O2/22:0	2,12	Cer 18:1;O2/22:0	2,07
TG 52:6	1,35	PC O 40:5	1,32	DG 32:0	1,87	PC 37:4	2,01	PC 37:4	1,96
DG 36:4	1,33	PC O 34:3	1,31	PC 37:4	1,82	PI 36:4	1,87	PI 36:4	1,85
TG 54:5	1,31	PC O 34:1	1,27	PI 36:4	1,66	DG 32:0	1,79	DG 32:0	1,75
TG 54:2	1,29	PC O 32:1	1,26	TG 52:5	1,60	PC O 40:6	1,60	LPC 18:2	1,61
TG 52:2	1,28	TG 54:6	1,25	LPC 18:2	1,56	CE 22:4	1,58	PC O 40:6	1,56
TG 52:4	1,27	TG 52:6	1,25	PC O 36:2	1,44	TG 52:5	1,56	CE 22:4	1,55
TG 52:3	1,25	DG 36:4	1,23	CE 22:4	1,42	LPC 18:2	1,54	TG 52:5	1,54
TG 54:3	1,23	CE 22:4	1,22	TG 48:0	1,41	PC O 40:5	1,47	PC O 40:5	1,46
PC O 34:1	1,22	TG 54:5	1,21	TG 46:0	1,40	TG 52:6	1,41	SM 34:2;O2	1,42
PC O 34:3	1,22	PC O 40:6	1,19	PC O 40:5	1,38	PC O 36:2	1,37	TG 52:6	1,41
PC O 40:5	1,22	TG 54:2	1,18	TG 52:6	1,37	SM 34:2;O2	1,37	PC O 34:3	1,40
TG 56:6	1,21	TG 52:2	1,17	PC O 40:6	1,35	TG 48:0	1,32	TG 56:4	1,39
TG 50:5	1,21	TG 52:4	1,17	DG 36:4	1,30	TG 46:0	1,31	PC O 36:2	1,34
DG 36:2	1,20	TG 52:3	1,14	PC 33:2	1,29	PC O 34:3	1,31	TG 50:5	1,32
PC O 32:1	1,19	TG 54:3	1,13	PC O 34:3	1,28	TG 50:5	1,30	TG 48:0	1,28
TG 56:5	1,19	PC O 32:0	1,12	SM 34:2;O2	1,27	TG 56:4	1,29	TG 46:0	1,27
TG 54:4	1,19	TG 56:6	1,11	TG 54:6	1,24	PC 33:2	1,26	PC 33:2	1,26
CE 22:4	1,18	TG 50:5	1,11	TG 46:2	1,20	DG 36:4	1,21	SM 43:1;O2	1,26
TG 50:4	1,17	DG 36:2	1,10	TG 46:1	1,19	SM 43:1;O2	1,18	SM 39:2;O2	1,22
DG 36:3	1,17	PC 33:2	1,10	TG 54:7	1,14	TG 54:6	1,15	DG 36:4	1,20
TG 53:2	1,15	TG 56:5	1,09	TG 52:4	1,13	TG 46:2	1,15	PC O 34:2	1,19
TG 50:3	1,14	TG 54:4	1,09	PC 35:2	1,13	TG 46:1	1,12	TG 46:2	1,13
TG 54:7	1,13	SM 32:2;O2	1,08	TG 54:5	1,13	PC 35:2	1,11	TG 54:6	1,13
TG 53:3	1,13	TG 50:4	1,08	SM 40:2;O2	1,12	SM 40:2;O2	1,09	PC 35:1	1,12
TG 53:4	1,12	SM 41:2;O2	1,07	PC O 32:1	1,11	SM 39:2;O2	1,08	TG 54:3	1,10
TG 50:1	1,09	PC 35:2	1,07	TG 50:5	1,09	PC O 32:1	1,08	PC 35:2	1,09
SM 41:2;O2	1,08	SM 38:2;O2	1,07	PC O 34:1	1,09	TG 54:5	1,07	TG 54:7	1,09

Lipidspezies	VIP 1	Lipidspezies	VIP_2	Lipidspezies	VIP 3	Lipidspezies	VIP 4	Lipidspezies	VIP 5
PC O 32:0	1,08	DG 36:3	1,07	TG 49:1	1,08	TG 54:7	1,07	TG 46:1	1,09
TG 51:4	1,08	TG 50:1	1,06	TG 48:1	1,06	TG 58:7	1,06	PC O 34:1	1,06
TG 50:2	1,08	TG 50:3	1,06	SM 43:1;O2	1,01	TG 52:4	1,06	TG 49:3	1,06
DG 34:1	1,05	TG 53:2	1,06	TG 50:1	1,01	TG 54:3	1,06	SM 40:2;O2	1,06
TG 51:2	1,05	HexCer 18::1O2/24:1	1,05	TG 52:3	0,99	TG 49:1	1,03	TG 54:5	1,05
DG 34:3	1,05	TG 54:7	1,05	TG 56:6	0,99	TG 54:4	1,03	PC O 32:1	1,04
DG 34:2	1,04	TG 53:3	1,04	TG 50:4	0,99	TG 56:5	1,03	DG 36:2	1,04
PC 37:4	1,02	TG 50:2	1,03	TG 54:2	0,98	TG 50:4	1,02	TG 52:2	1,03
SM 32:2;O2	1,02	LPC 18:2	1,03	TG 52:2	0,98	PC O 34:1	1,02	TG 54:4	1,03
PC O 40:6	1,02	TG 53:4	1,03	PC 35:1	0,98	TG 52:2	1,01	TG 52:4	1,03
SM 38:2;O2	1,01	LPC 15:0	1,03	TG 54:3	0,98	TG 56:6	1,01	TG 58:7	1,03
TG 56:4	1,00	PC 35:1	1,02	TG 56:5	0,98	DG 36:2	1,00	TG 56:5	1,01
HexCer 18::1O2/24:1	1,00	PC O 34:2	1,01	TG 48:2	0,98	TG 52:3	0,99	TG 49:1	1,01
TG 51:3	1,00	DG 34:1	1,01	SM 39:2;O2	0,97	TG 48:1	0,99	SM 43:2;O2	1,01
TG 56:7	0,99	TG 51:4	1,01	LPC 15:0	0,97	SM33:1;O2	0,99	PC O 32:0	1,00
SM 39:2;O2	0,98	DG 34:2	1,01	SM 43:2;O2	0,96	DG 36:3	0,97	TG 50:4	1,00
TG 51:1	0,98	TG 51:2	1,00	PC O 32:0	0,95	TG 49:3	0,97	SM 32:2;O2	0,98
DG 38:5	0,98	DG 34:3	0,98	DG 36:3	0,95	PC 35:1	0,97	TG 56:6	0,98
SM 43:2;O2	0,97	DG 32:0	0,98	TG 51:1	0,94	TG 50:1	0,96	TG 51:4	0,98
PC O 34:2	0,97	TG 51:1	0,97	SM 34:1;O2	0,94	SM 43:2;O2	0,95	TG 48:1	0,97
DG 38:6	0,95	TG 48:0	0,96	TG 54:4	0,94	TG 54:2	0,95	TG 52:3	0,97
PE 36:1	0,93	Cer 18:1;O2/22:0	0,96	SM 32:2;O2	0,93	DG 38:5	0,94	SM33:1;O2	0,97
SM 35:1;O2	0,92	TG 48:1	0,95	PC O 34:2	0,93	PC O 34:2	0,94	TG 50:1	0,95
TG 49:3	0,92	TG 56:4	0,95	SM 42:2;O2	0,93	SM 38:2;O2	0,93	DG 36:3	0,95
TG 48:1	0,91	TG 51:3	0,94	SM33:1;O2	0,92	TG 51:1	0,93	TG 54:2	0,95
SM 42:2;O2	0,90	TG 48:2	0,94	DG 36:2	0,92	TG 48:2	0,92	HexCer 18::1O2/24:1	0,93
SM 37:1;O2	0,90	DG 38:5	0,93	TG 49:2	0,92	HexCer 18::1O2/24:1	0,92	LPC 15:0	0,92
SM 43:1;O2	0,90	PEP-16:0/22:5	0,92	SM 41:2;O2	0,91	TG 49:2	0,91	SM 38:2;O2	0,92
TG 48:2	0,89	TG 46:0	0,92	TG 50:2	0,90	LPC 15:0	0,91	TG 49:2	0,91
TG 48:3	0,89	SM 43:2;O2	0,92	DG 34:1	0,90	TG 51:4	0,91	DG 38:5	0,91

Lipidspezies	VIP 1	Lipidspezies	VIP_2	Lipidspezies	VIP 3	Lipidspezies	VIP 4	Lipidspezies	VIP 5
Cer 18:1;O2/22:0	0,89	SM 39:2;O2	0,92	TG 53:3	0,90	SM 34:1;O2	0,91	TG 51:1	0,91
LPC 15:0	0,88	TG 49:1	0,91	HexCer 18;;1O2/24:1	0,90	PC O 32:0	0,90	TG 48:2	0,90
TG 58:7	0,88	TG 46:1	0,91	TG 53:4	0,90	SM 32:2;O2	0,89	SM 34:1;O2	0,89
SM 34:1;O2	0,88	TG 56:7	0,91	SM 38:2;O2	0,90	TG 56:7	0,89	SM 42:2;O2	0,88
SM 40:2;O2	0,88	TG 48:3	0,91	DG 34:2	0,89	SM 42:2;O2	0,86	DG 34:1	0,87
PE36:2	0,86	SM 35:1;O2	0,90	DG 38:5	0,89	TG 48:3	0,86	TG 56:7	0,87
PC 35:1	0,85	PE 36:1	0,89	TG 50:3	0,88	DG 34:1	0,86	DG 34:2	0,85
PC 35:2	0,82	TG 49:2	0,89	TG 53:2	0,88	SM 41:2;O2	0,85	TG 50:2	0,85
TG 49:2	0,81	PC 38:3	0,89	TG 56:4	0,87	DG 34:2	0,85	SM 41:2;O2	0,84
TG 49:1	0,81	TG 49:3	0,88	TG 48:3	0,85	TG 50:2	0,85	TG 48:3	0,84
PE 40:4	0,81	SM 37:1;O2	0,87	SM 35:1;O2	0,85	TG 53:3	0,84	PE 40:5	0,84
TG 48:0	0,81	PE36:2	0,87	SM 37:1;O2	0,84	TG 53:4	0,84	TG 53:4	0,83
SM33:1;O2	0,81	TG 46:2	0,87	TG 51:4	0,84	TG 50:3	0,83	TG 53:3	0,82
SM 36:2;O2	0,80	DG 38:6	0,87	TG 51:2	0,83	PE 38:4	0,83	SM 36:2;O2	0,82
PC O 36:3	0,79	SM 42:2;O2	0,85	DG 34:3	0,81	TG 53:2	0,82	PE 38:4	0,82
TG 46:1	0,79	SM 34:1;O2	0,85	PE36:2	0,79	TG 51:2	0,80	DG 38:6	0,81
PC O 38:4	0,78	SM 36:2;O2	0,83	TG 56:7	0,79	PE 40:5	0,80	TG 50:3	0,81
PC 33:2	0,77	TG 58:7	0,83	TG 51:3	0,78	SM 35:1;O2	0,80	TG 51:3	0,80
LPC 18:1	0,76	CE 15:0	0,82	PE 40:5	0,78	SM 36:2;O2	0,79	TG 53:2	0,80
CE 15:0	0,75	SM 43:1;O2	0,82	PE 36:1	0,76	SM 37:1;O2	0,79	TG 51:2	0,79
LPC 18:2	0,74	PC O 38:4	0,82	PE 38:4	0,76	TG 51:3	0,77	SM 35:1;O2	0,78
TG 46:0	0,73	SM 40:2;O2	0,82	TG 49:3	0,73	DG 34:3	0,76	SM 37:1;O2	0,77
HexCer 18:1;O2/16:0	0,71	LPC 18:1	0,81	PC O 36:3	0,73	PC O 38:4	0,75	PC O 36:3	0,77
TG 46:2	0,71	SM33:1;O2	0,78	SM 36:2;O2	0,73	PE36:2	0,74	PE36:2	0,75
TG 56:8	0,69	PE 40:4	0,75	TG 58:7	0,72	TG 56:8	0,73	TG 56:8	0,75
PE 40:6	0,68	PC O 36:3	0,75	DG 38:6	0,72	PE 36:1	0,71	DG 34:3	0,74
PE 38:4	0,67	PE 40:5	0,75	PE 40:4	0,72	PE 40:4	0,70	PC O 38:4	0,74
PC 38:3	0,67	HexCer 18:1;O2/16:0	0,74	LPC 18:1	0,70	HexCer 18:1;O2/16:0	0,69	LPC 18:1	0,74
PE 40:5	0,67	PE 38:4	0,74	CE 15:0	0,69	PC O 36:3	0,69	PE 36:1	0,71
SM 34:2;O2	0,65	PE 40:6	0,67	PC O 38:4	0,68	DG 38:6	0,68	PE 40:4	0,70

Lipidspezies	VIP 1	Lipidspezies	VIP_2	Lipidspezies	VIP 3	Lipidspezies	VIP 4	Lipidspezies	VIP 5
PI 36:4	0,65	PI 36:4	0,64	HexCer 18:1;O2/16:0	0,68	CE 15:0	0,68	HexCer 18:1;O2/16:0	0,70
PEP-16:0/22:5	0,65	TG 56:8	0,64	PE 40:6	0,56	LPC 18:1	0,68	CE 15:0	0,68
DG 32:0	0,56	SM 34:2;O2	0,60	TG 56:8	0,53	PE 40:6	0,63	PE 40:6	0,62

Tabelle 9, Variable Importance in Projection (VIP) der einzelnen Lipidspezies für die einzelnen Komponenten, sortiert jeweils nach VIP-Werten

4. Diskussion

4.1 MHO als instabiler Übergangszustand?

In dieser Arbeit wurden Unterschiede im miRNA- sowie Lipidprofil einer gesamtheitlich adipösen Kohorte zwischen MHO und MUO zu einem Untersuchungszeitpunkt analysiert. Die vorliegenden Daten können zu einer besseren Beschreibung sowie Unterscheidung beider Gruppen beitragen. Dies ist in Anbetracht der Heterogenität der Definition von metabolisch gesunder Adipositas relevant. Insbesondere die prognostische Aussagekraft für das Risiko für die Entwicklung von Folgeerkrankungen ist Gegenstand der Diskussion in der aktuellen Forschung. Von der Frage, ob MHO als Dauerzustand oder als möglicherweise instabiler Übergangszustand verstanden werden kann hängt die damit verbundene Notwendigkeit einer Empfehlung zur Gewichtsabnahme oder zu anderen Interventionen zum aktiven Erhalt der metabolischen Gesundheit ab.

Mehrere longitudinale Studien beschreiben den Übergang von MHO zu MUO, unter anderem mit einer Vier-Jahres Wahrscheinlichkeit von 43% bei Frauen und 46% bei Männern (Echouffo-Tcheugui et al. 2019) und einem Anteil von 48% bei einem 12-Jahres Follow-up (Mongraw-Chaffin et al. 2018).

Zudem ist eine höhere Wahrscheinlichkeit für das Einsetzen eines MetS bei steigendem Grad der Adipositas und bei längerer Dauer des Bestehens beschrieben, weshalb die Autor:innen MHO als Übergangszustand auf dem Weg zu kardiometabolischen Erkrankungen werten (Mongraw-Chaffin et al. 2016). Ebenfalls wurde ein linearer Anstieg der bestehenden MetS-Komponenten bei steigendem BMI beschrieben, mit einer weiteren Zunahme bei höherem Alter, wobei MetS-Komponenten bei Frauen mit dem gleichen BMI erst in höherem Alter auftraten (Marcus et al. 2023).

Einerseits wird in der Literatur daher geschlussfolgert, dass eine Gewichtsabnahme allen Personen mit Adipositas, auch bei aktueller MHO empfohlen werden sollte (Mongraw-Chaffin et al. 2016).

Mathis et al. schlagen in ihrer narrativen Übersichtsarbeit aber auch in Anbetracht der Schwierigkeit, mit Empfehlungen zur Gewichtsreduktion die Prävalenz von MUO zu reduzieren einen anderen Ansatz vor. Es wird vorgeschlagen, den Fokus nicht auf die

Gewichtsreduktion, sondern auf den Erhalt der metabolischen Gesundheit und die Vermeidung eines Übergangs von MHO zu MUO mittels ganzheitlicher Ansätze (Lebensstiländerung, körperliche Aktivität, begleitende verhaltenstherapeutische Interventionen, sowie pharmakologische Therapie) zu legen (Mathis et al. 2023).

4.2 Klinische Outcomes bei MHO

4.2.1 Diabetes Mellitus Typ 2

Eine Metaanalyse mit sieben eingeschlossenen, prospektiven Studien sowie eine später publizierte prospektive Kohortenstudie zeigen in allen eingeschlossenen Studien bei MHO ein erhöhtes Risiko, einen T2DM zu entwickeln. Während dieses Risiko bei MHO deutlich geringer als bei MUO ist, ist es dennoch im Vergleich zu metabolisch gesunden normalgewichtigen Personen (metabolically healthy lean, MHL) circa 4-fach erhöht (Bell et al. 2014; Hinnouho et al. 2015). Allerdings erschwert die oben beschriebene Instabilität der MHO mit Progression in MUO bei einem Teil der Personen die Analyse.

So zeigen zwei große Kohortenstudien mit medianem Follow-up von 6 und 8,2 Jahren jeweils nur ein erhöhtes Risiko für T2DM bei MHO zur Baseline, wenn die Personen im Follow-Up zu MUO übergegangen waren. Die Autor:innen berichten dass das Risiko nicht erhöht ist, solange der metabolische Status erhalten bleibt (weiterhin MHO) (Appleton et al. 2013; Wang et al. 2018a).

4.2.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Bei kardiovaskulären Erkrankungen (Cardio vascular diseases CVD) zeigt sich ein ähnliches Muster. So zeigen mehrere große Studien und Metaanalysen bei MHO ein im Vergleich zu MUO niedrigeres Risiko für CVD (KHK, zerebrovaskuläre Erkrankungen, Herzinsuffizienz, kardiovaskuläre Mortalität). Dieses Risiko wird aber nichtsdestotrotz im Vergleich zu MHL als erhöht beschrieben (Kramer et al. 2013; Eckel et al. 2016; Caleyachetty et al. 2017; Arnlöv et al. 2010). Interessanterweise zeigt die Metaanalyse von Eckel et al, dass MHO ein niedrigeres Risiko für kardiovaskuläre Events haben als metabolisch ungesunde normalgewichtige Personen (metabolically unhealthy lean, MUL) (Eckel et al. 2016). Es ist anzumerken, dass in den beschriebenen Studien meist die Definitionen von MHO und MUO zur Baseline erfolgte, sodass eine Konversion von MHO zu MUO das gesteigerte

kardiovaskuläre Risiko mitunter erklären könnte. Hierzu passt, dass das Risiko von Personen mit MHO vor allem bei längerem Follow-Up als erhöht beschrieben wird (Eckel et al. 2016) und die Kaplan-Meier-Kurve der relevanten kardiovaskulären Ereignisse (major cardiovascular events) in einer Studie erst ab einem Follow Up von 10 Jahren bei MHO von MHL divergiert (Arnlöv et al. 2010). In der Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA Studie) wird ein um 60% erhöhtes kardiovaskuläres Risiko ausschließlich bei Personen mit instabiler MHO berichtet, während für stabil gebliebene MHO über den 12-jährigen Beobachtungszeitraum kein Unterschied im Vergleich zu MHL festgestellt wird (Mongraw-Chaffin et al. 2018).

In der Metaanalyse von Eckel et al. hat auch die Definition von MHO einen Einfluss, bei Menschen mit MHO ohne jegliche metabolische Erkrankung, also ohne MetS Komponenten, wird kein signifikant erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen festgestellt (Eckel et al. 2016). Außerdem ist ein steigendes KHK-Risiko mit steigender Anzahl an MetS Komponenten sowohl bei Normal- als auch bei Übergewicht und Adipositas beschrieben (Caleyachetty et al. 2017). Im Gegensatz dazu findet die Metaanalyse von Opio et al. ein von der Anzahl der zur Definition von MHO verwendeter Risikofaktoren unabhängiges, erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen. Dieses Risiko bleibt auch in der Gruppe von MHO ohne metabolische Risikofaktoren bestehen. Die Autor: innen geben jedoch einschränkend an, dass in vielen der analysierten Studien keine Differenzierung zwischen den Outcomes von Teilnehmenden mit MHO mit 0,1 oder 2 MetS Kriterien getroffen wurde, was die Detektion eines möglichen Unterschiedes zwischen diesen Gruppen erschweren könnte (Opio et al. 2020).

Mediationsanalysen dreier großer Studien (Stichprobengröße zusammen 69000 Teilnehmende) fassen zusammen, dass sich 44% (Metabolic mediators of the effects of body-mass index, overweight, and obesity on coronary heart disease and stroke: a pooled analysis of 97 prospective ... 2014), 62 % (Mongraw-Chaffin et al. 2018) und 71% (Dhana et al. 2016) der Effekte von Adipositas und BMI auf kardiovaskuläre Erkrankungen durch die Anwesenheit des metabolischen Syndroms bzw. dessen Komponenten erklären, wodurch jedoch nicht die Gesamtheit des Risikos erklärt ist.

In einer großen französischen Kohortenstudie (N= 2.873.039) nehmen Fauchier et al. eine Differenzierung zwischen den verschiedenen kardiovaskulären Outcomes sowie

Geschlecht vor. Es zeigt sich bei MHO, definiert als Abwesenheit von DM, arHT und Hyperlipidämie, ein erhöhtes Risiko für neu auftretende Herzinsuffizienz und neu auftretendes Vorhofflimmern, jedoch nicht für Herzinfarkt, ischämischen Schlaganfall und kardiovaskuläre Mortalität im Vergleich zu MHL. Zudem zeigt sich bei Frauen für die meisten Ereignisse, im Gegensatz zu Männern sogar ein geringeres Risiko als bei stoffwechselgesunden, normalgewichtigen Frauen (Fauchier et al. 2021).

4.2.3 Andere Erkrankungen und Gesamtmortalität

Übergewicht und Adipositas zeigen unabhängig von der Anwesenheit eines MetS ein erhöhtes Risiko für Gesamtmortalität, nicht kardiovaskulären Tod und eine erhöhte Malignominzidenz (Arnlöv et al. 2010). Das Risiko für verschiedene Malignome wird bei MHO zwar niedriger als bei MUO angegeben, jedoch höher als bei MHL beschrieben. Die Autor:innen schlussfolgern daher, dass das durch Adipositas bereits erhöhte Krebsrisiko durch metabolische Störungen weiter erhöht wird (Sun et al. 2023). MHO ist auch in Abwesenheit von metabolischen Auffälligkeiten mit einer erhöhten Gesamtmortalität assoziiert (Kuk und Arden 2009) vor allem bei einem Follow Up von ≥ 10 Jahren (Kramer et al. 2013).

Allerdings gilt es, weitere Faktoren zu berücksichtigen. Zum Beispiel ergibt sich in einer amerikanischen Metaanalyse, dass kardiorespiratorisch fitte übergewichtige und adipöse Personen ein ähnliches Mortalitätsrisiko wie normalgewichtige fitte Personen haben, während nicht fitte Personen ein im Vergleich zu normalgewichtigen fitten Personen unabhängig vom BMI ein verdoppeltes Gesamtmortalitätsrisiko zeigen (Barry et al. 2014). Abbildung 17 gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Merkmale von Personen mit MUO im Gegensatz zu Personen mit MHO.

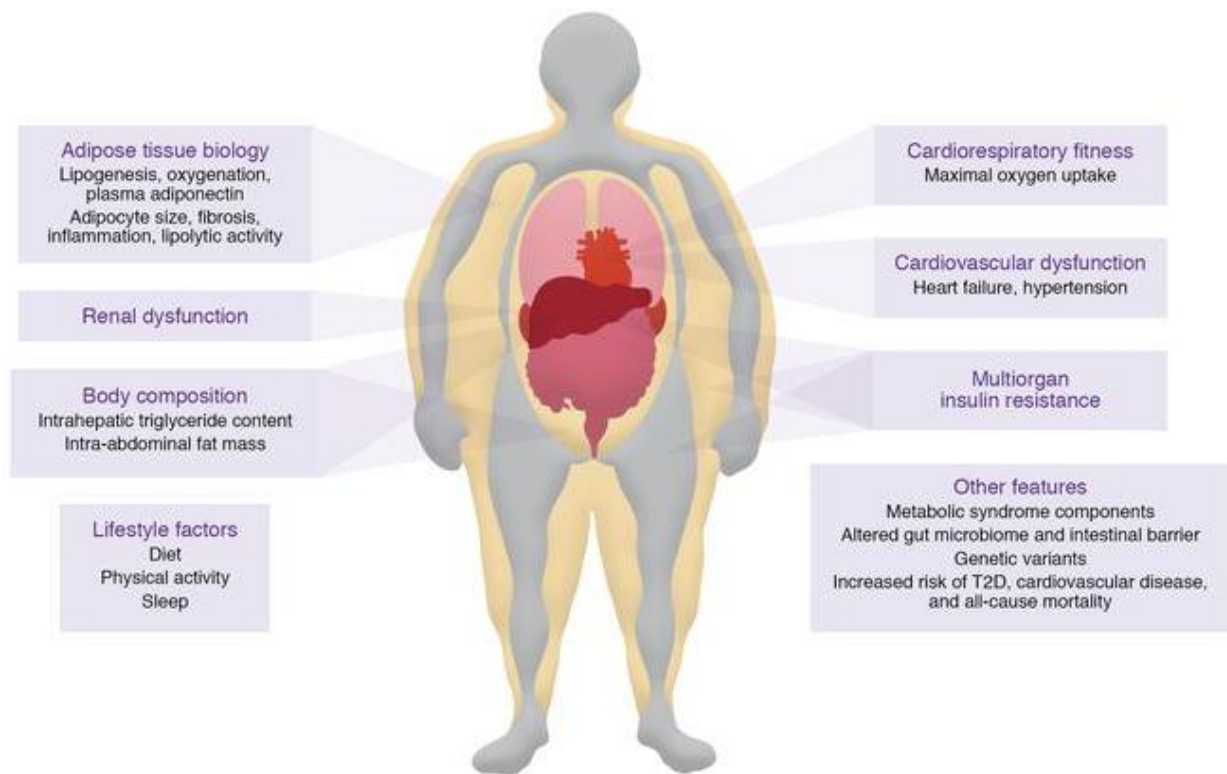


Abbildung 17: mutmaßliche Merkmale von Menschen mit MUO, die sich von denen von Menschen mit MHO unterscheiden Aufgrund unzureichender Daten oder widersprüchlicher Ergebnisse verschiedener Studien sind die aufgeführten Punkte als vorläufig zu betrachten. Mit Genehmigung von The Journal of Clinical Investigation, aus (Smith et al. 2019)

4.2.4 Notwendigkeit von weiterer Forschung und besserer Definition

Die Heterogenität der als MHO definierten Kohorten aufgrund der häufigen Definition durch ≤ 2 MetS Komponenten erschwert die Vergleichbarkeit von Ergebnissen. Ein großer Teil der vorhandenen Studien deutet auf ein erhöhtes CVD und T2DM Risiko bei MHO hin, was der ursprünglich intendierten Definition als gesunde adipöse Subkohorte widerspricht. Dennoch scheint eine strengere Definition das KHK-Risiko und das Gesamtmortalitätsrisiko zu beeinflussen. Außerdem zeigt eine Subanalyse der Metaanalyse von Eckel et al. kein signifikant erhöhtes CVD Risiko bei MHO im Vergleich zu MHL, wenn eine strenge MHO Definition inklusive CRP als Kriterium Anwendung findet (Eckel et al. 2016). Die zusätzliche Bestimmung des CRP in einer weiblichen Kohorte mit MetS trägt zur Prognostizierbarkeit des späteren Risikos für kardiovaskuläre Ereignisse bei (Ridker et al. 2003). Bereits 2004 wurde vorgeschlagen, CRP in die Diagnosekriterien des MetS aufzunehmen (Ridker et al. 2004), teilweise wird es in der Literatur auch bereits als zusätzliches Kriterium zur Unterteilung von Studienpopulationen in MHO und MUO verwendet (Zhou et al. 2021). Die Rolle der Inflammation bei Pathogenese und prognostischer Information einer

Zuteilung in Untergruppen bei Adipositas (MUO, MHO) scheint ein weiterer wichtiger Einflussfaktor zu sein. Am Beispiel des CRP zeigt sich die Relevanz der Betrachtung von Biomarkern, welcher über die klassische Definition des MetS hinausgeht, wie sie auch in dieser Arbeit erfolgt ist.

In dieser Arbeit ist eine Querschnittsanalyse erfolgt. Ein longitudinaler Vergleich der detektierten Unterschiede im miRNA- und Lipidprofil unter Betrachtung der Entwicklung der etablierten MetS-Kriterien sowie Folgeerkrankungen wäre eine wertvolle Folgeuntersuchung. Zum einen könnte an einem größeren, auch zeitlich versetzten Testset die Generalisierungsfähigkeit des PLS-Modells, also dessen Anwendbarkeit auf neue Daten, getestet werden. Zum anderen könnten einzelne miRNAs oder Lipidspezies oder Cluster von miRNAs oder Lipidspezies detektiert werden, welche bereits zu einem früheren Zeitpunkt- trotz Einordnung des Teilnehmenden in die Gruppe der MHO- eine prognostische Information zu einem späteren Übergang zu MUO geben könnten.

4.3 MiRNA

Im Folgenden werden die drei miRNAs mit der höchsten Wahrscheinlichkeit eines Unterschieds zwischen MUO und MHO im Zusammenhang mit der bestehenden Literatur diskutiert.

4.3.1 hsa-miR-495-3p

Erhöhte miR-495-3p Level im Zusammenhang mit besserer metabolischer Gesundheit
Zirkulierende miR-495-3p wurde bereits im Zusammenhang mit DM und Folgeerkrankungen wie der diabetischen Retinopathie untersucht. Hier zeigte sich Serum hsa-miR-495-3p bei Patient:innen mit Diabetes sowohl mit als auch ohne diabetischer Retinopathie erniedrigt im Vergleich zu gesunden Kontrollen (N=45) (Mastropasqua et al. 2021). In einer anderen Studie war die diabetische Retinopathie unter anderem signifikant assoziiert mit niedrigeren Levels von Plasma miR-495-3p verglichen mit Patient:innen mit T2DM ohne diabetische Retinopathie und gesunden Vergleichspersonen. Zusätzlich korrelierte die Konzentration von miR-495-3p auch mit der Schwere der Erkrankung (Santovito et al. 2021). Auch wenn hier nicht explizit MHO und MUO untersucht wurde zeigen diese Ergebnisse, dass miR-495-3p eine Rolle im Kontext von metabolischen Erkrankungen wie T2DM und seinen Folgeerkrankungen

spielen könnte, wobei höhere Level an miRNA-495-3p eher in einem gesünderen metabolischen Zustand aufzutreten scheinen.

MiR-495-3p wurde ebenfalls im Kontext des Östrogensystems im Fettgewebe beschrieben. So zeigten sich bei Adipositas verminderte mRNA-Level des Östrogenrezeptor alpha- und beta Gens. Die Expression des Östrogen-Rezeptor-Beta Gens im subkutanen Fettgewebe korrelierte dabei negativ mit miR-495-3p. Die Autor:innen schlussfolgern, dass die mit Adipositas verbundene Herunterregulierung der mRNA Spiegel der Östrogenrezeptoren aus einer miRNA-Interferenz resultieren könnte (Koźniewski et al. 2022). Hierdurch wird nochmals die Rolle von miR-495-3p im Rahmen der Pathomechanismen bei Adipositas betont. Zu beachten ist hier, dass unabhängig von der metabolischen Gesundheit ein Pathomechanismus im Fettgewebe untersucht wurde.

Bei Jugendlichen mit DM1 war die zirkulierende miR-495-3p im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen signifikant reduziert, was auf einen Zusammenhang von miR-495-3p mit dem Glukosestoffwechsel hindeuten könnte (Swolin-Eide et al. 2023).

Zelltypspezifische Wirkung von miR-495 im diabetischen Herz

In experimentellen Studien zeigte sich an kardialen Zellen eine vom Zelltyp abhängige, entweder positive oder negative Wirkung von erhöhter miR 495.

Einerseits wurde gezeigt, dass eine Hochregulierung von miR-495 eine durch hohen Glukosespiegel induzierte Entzündung und Fibrose durch Herunterregulierung der NOD1-Expression reduziert, und hierdurch eine schützende Wirkung bei durch hohen Glukosespiegel induzierter kardialer Fibrose hatte. (Wang et al. 2018b) Es wurde in der Publikation jedoch nicht zwischen 3p und 5p-Form differenziert.

Im Gegensatz dazu zeigte sich in vitro und in vivo an kardialen Vorläuferzellen, dass eine Diabetes-induzierte Aktivierung von miR-329-3p, -376-3p and -495-3p möglicherweise deren Proliferation hemmt, sodass hier erhöhte miR-495-3p Level eher als negativ bewertet wurden (Purvis et al. 2021). Die Vergleichbarkeit bei anderer Ätiologie der gemessenen miRNA sowie unter anderem Bedingungen in vitro scheint allerdings nur begrenzt möglich.

In der vorliegenden Arbeit zeigte hsa-miR-495-3p die höchste Wahrscheinlichkeit auf einen Unterschied zwischen MUO und MHO mit einem p-Wert von 0,033, mit höheren

nachgewiesenen Mengen bei Personen mit MHO. Während zwar unmittelbar vergleichbare Ergebnisse in der Literatur aktuell fehlen, zeigt sich dennoch, dass miR-495-3p eine Rolle im Zusammenhang mit Adipositas, T2DM und seinen Folgeerkrankungen sowie im Fettstoffwechsel bei Adipositas spielt.

4.3.2 hsa-miR-144-3p

MiR-144 war ebenfalls bereits Gegenstand der Forschung im Kontext von metabolischer Gesundheit, Insulinresistenz und T2DM.

Höhere Level von miR-144-3p im Zusammenhang mit besserer metabolischer Gesundheit

Die Daten in der Literatur zu miR-144-3p zeigen sich kontrovers. Einerseits brachten verschiedene Autor:innen miR-144-3p in den Zusammenhang mit Polyzystischem Ovarialsyndrom (PCOS) und dem Cholesterin-Mechanismus bei nichtalkoholischer Steatohepatitis (NASH).

So wurde 2022 gezeigt, dass miR-144-3p im Plasma und in der Rinde des Ovars bei Patientinnen mit Polyzystischen Ovarial Syndrom (PCOS) herunterreguliert ist (Qu et al. 2022). Ein Zusammenhang zum MetS besteht deshalb, weil das Risiko eines MetS bei Frauen mit PCOS um das 2,5-fache erhöht ist, bei Jugendlichen mit strengeren Definitionskriterien und weniger natürlicher Prävalenz von MetS sogar um das 6-fache (Behboudi-Gandevani et al. 2018).

Außerdem wurde miR-144 zusammen mit miR-33a im Rahmen einer Analyse von Leberbiopsien bei adipösen Proband:innen (N=84) vor bariatrischer Chirurgie untersucht. Die Autor:innen vermuten demnach eine mögliche Beeinflussung des Cholesterin Metabolismus durch miR-33a und miR-144 und ihr Zielgen ABCA1, was zur Pathogenese von NASH beitragen könnte (Vega-Badillo et al. 2016). Zu beachten ist hier allerdings die mangelnde direkte Vergleichbarkeit aufgrund der Analyse von Leberbiopsien und nicht zirkulierenden miRNAs im Plasma. Zudem wird in der Studie nicht zwischen der 3p und 5p Form der miRNA differenziert.

Höhere Level von miR-144-3p im Zusammenhang mit schlechterer metabolischer Gesundheit

Einige Publikationen in der vorhandenen Literatur deuten jedoch eher einen konträren Zusammenhang an, bei dem erhöhte Level von miR-144-3p mit einem schlechteren metabolischen Zustand in Verbindung gebracht wurden.

Im Zusammenhang mit T2DM ist miR-144-3p sowohl bei gestörter Nüchternglucose als auch bei manifesten T2DM sowohl im Tiermodell als auch in Bestätigungstest an menschlichen Proband:innen als hochreguliert beschrieben worden. MiR-144 hatte laut Vorhersagen in einer vorbestehenden Studie mRNA-Ziele wie IRS1 (Insulinrezeptor Substrat 1), AKT2 und INSR (Insulin Rezeptor Gen), welche eine Rolle im Insulin-Signalweg spielen. Außerdem zeigte miR-144 eine annähernd lineare Korrelation mit Anstieg bei zunehmend verschlechterten glykämischen Status von normaler Glukosetoleranz über erhöhte Nüchternglucose bis hin zu manifesten T2DM. Die Autor:innen hypothetisieren das Vorhandensein von miR-144 als primäre Abnormalität bei der Entwicklung einer gestörten Glukosetoleranz (Karolina et al. 2011), wobei hier erneut die fehlende Differenzierung zwischen 3p und 5p-Form zu beachten ist. Passend hierzu wurden bei T2DM im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen signifikant erhöhte Expressionsniveaus von miR 144-3p gefunden. Die erhöhte Expression war zudem ein signifikanter unabhängiger Prädiktor für T2DM, gestörte Nüchternglucose und sogar Insulinresistenz. MiR-144-3p korrelierte zudem signifikant mit den Levels von Stresshormonen, sodass die miRNA im Zusammenhang einer neuroendokrinen Stressantwort untersucht wurde. Ein Panel aus drei miRNAs- (let7b, miR-142 und miR144-3p) erlaubte eine hohe Genauigkeit zur Vorhersage von T2DM (Liang et al. 2018).

Auch eine schwedische Studie fand eine Assoziation zwischen der erhöhten Expression von miR144 und T2DM als Endpunkt des MetS bei schwedischen Proband:innen, jedoch nicht bei irakischen Proband:innen. Die Autor:innen diskutieren dementsprechend eine mögliche ethnizitätsspezifische Pathogenese von T2DM (Wang et al. 2014). Anzumerken ist hier der durchschnittliche BMI der gesamten Stichprobe von ca. 29 kg/ m² ohne genauere Angaben zu Unterschieden in der metabolischen Gesundheit in den Untergruppen. Außerdem anzumerken ist die jeweilige Untersuchung von T2DM zu Personen ohne T2DM, welche ebenfalls nicht direkt vergleichbar mit den hier untersuchten Untergruppen MHO und MUO ist.

In einer Studie mit einer eher kleineren Stichprobe (N=60) wurden erhöhte Plasma miR-144 Level bei vorhandener koronarer Herzkrankheit gefunden, innerhalb dieser Kohorte zeigten Proband:innen mit STEMI nochmals signifikant höhere Werte (Chen et al. 2018). Eine Erhöhung bei KHK als einem der Endpunkte des MetS steht im Kontrast zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. In einer tierexperimentellen Studie wurde miR-144-3p im Myokard im Zusammenhang mit durch eine High-Fat-Diet induzierter Adipositas mit kardialer Hypertrophie, Fibrose und Apoptose beschrieben. MiR-144-3p war hier im Myokard signifikant hochreguliert (Yang et al. 2020). Ein direkter Vergleich fällt hier jedoch aufgrund der Bestimmung im Myokard und im Tierexperiment schwer.

Erhöhte Level von MiR-144-3p im Plasma wurden ebenfalls als potenzieller Mediator einer im Zusammenhang von Konsum gesättigter Fettsäuren in der Nahrung gesehener verschlechterten kognitiven Funktion bei einer chinesischen Population mit Adipositas diskutiert (Li et al. 2025), was erneut die Rolle von MiR-144-3p im Zusammenhang mit metabolischen Prozessen betont.

Die bestehende Literatur zeigt mehrheitlich eine erhöhte Expression bei schlechterem metabolischem Zustand. Das steht im Kontrast zu der in der vorliegenden Arbeit gezeigten Tendenz einer höheren Expression von miR-144-3p bei MHO. Zu beachten ist jedoch, dass die Analyse in der vorliegenden Arbeit auf einem insgesamt niedrigen Expressionsniveau von miR-144-3p erfolgte. In der Literatur finden sich keine Ergebnisse zur Hochregulation von miR-144-3p in einer ähnlichen Kohorte bei MHO. Aus den vorwiegend deskriptiven Studien in der Literatur kann noch keine einheitliche Bewertung geschlussfolgert werden, weitere Forschung zu Pathomechanismen ist notwendig. Zudem ist die Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen in dieser Arbeit durch die häufig fehlende Differenzierung zwischen der 3p und 5p-Form von miR-144 in der Literatur erschwert.

4.3.3 hsa-miR-140-3p

Höhere Level von miR-140-3p im Zusammenhang mit besserer metabolischer Gesundheit

MiR-140-3p wurde bereits im Zusammenhang mit KHK, Arthrose, kardialer Hypertrophie, der durch T2DM induzierten angiogenen Dysfunktion in Endothelzellen

als auch mit der Adipogenese untersucht. Ein Großteil der Studien bewerten miR-140-3p im Rahmen von metabolischer Gesundheit insgesamt positiv.

So war miR-140-3p bei Proband:innen mit KHK signifikant niedriger als bei Proband:innen ohne KHK. MiR-140-3p hatte in einem Vorhersagemodell eine ähnlich gute Vorhersagegenauigkeit für KHK wie HDL-Cholesterin. Die Autor:innen schlussfolgern daher, dass der miR-140-3p-Plasmaspiegel zur Bewertung des KHK-Risikos herangezogen werden kann (Mo et al. 2024).

Bei Arthrose war miR-140-3p in einer kleinen Stichprobe (N jeweils 12) im Vergleich zu gesunden Kontrollen herunterreguliert. Die Autor:innen postulieren die miRNA zusammen mit miR-33b-3p und miR-671-3p daher als potenziellen Biomarker, der in metabolische Prozesse involviert ist. In der Zielgenanalyse dieser Studie waren der Insulinrezeptor und Insulin Like Growth Factor außerdem gemeinsame Ziele aller drei miRNAs, was ihre Beteiligung an der Regulation von Stoffwechselprozessen unterstreicht (Ntounou et al. 2017).

Im Mausmodell sowie in vitro wurde im Zusammenhang mit Angiotensin-II induzierter kardialer Hypertrophie gezeigt, dass eine von circRNA_000203 induzierte Unterdrückung von miR-26b-5p und miR 140-3p kardiale Hypertrophie verschlechtert (Li et al. 2020). MiRNA 140-3p ist auch im Rahmen der Pathophysiologie der Regulation der durch T2DM induzierten angiogenen Dysfunktion in Endothelzellen untersucht worden. Die Untersuchungen wurden sowohl am Mausmodell als auch in menschlichen Endothelzellen durchgeführt. Es wurde eine herunterregulierte Expression von miR 140-3p in Endothelzellen gefunden, die einer hohen Glukosebelastung ausgesetzt waren. Endotheliale miR 140-3p reguliere die Funktion der Endothelzellen positiv, eine Deregulierung der miR-140-3p/FOX2-Kaskade durch Hyperglykämie wurde als wesentlicher Beitrag zur angiogenen Dysfunktion bei T2DM interpretiert (Wang et al. 2019). MiR-140 im Allgemeinen wurde auch als in der Adipogenese beteiligt beschrieben (Gernapudi et al. 2016).

In der vorliegenden Arbeit zeigte Hsa-miR-140-3p mit einem p-Wert von 0,053 den drittwahrscheinlichsten Unterschied zwischen den beiden Gruppen, ebenfalls mit höheren nachgewiesenen Mengen bei Personen mit MHO. Während bei den zitierten Studien wieder zurückhaltende Interpretation aufgrund der Studiendesigns (Tiermodelle, nicht immer zirkulierende miRNA, teilweise kleine Stichproben) geboten

ist passen diese Ergebnisse zu dem Ergebnis dieser Arbeit, dass eine erhöhte miR-140-3p im Rahmen von metabolischer Gesundheit insgesamt positiv zu bewerten sein könnte.

Höhere Level von miR-140-3p im Zusammenhang mit schlechterer metabolischer Gesundheit

Im Gegensatz dazu wurden bei Gestationsdiabetes Hinweise darauf gefunden, dass die Überexpression von miR-140-3p in der Plazenta zur Hyperglykämie beitragen könnte, indem sie die Glucoseaufnahme hemmt (Zhao et al. 2020). So zeigen sich zwar weitere Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang zum Glucosemetabolismus, jedoch ist hier eine erhöhte Expression von miR-140-3p im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, in der Plazenta als nachteilig beschrieben.

4.4 Lipidomics

4.4.1 Allgemeines

Auch bei den Lipidomics-Daten wurden Einfachmessungen durchgeführt. Sofern nicht weiter spezifiziert ist bei den zitierten Studien von einer Bestimmung der Lipide im Serum oder Plasma auszugehen.

Allein aufgrund der beiden Definitionskriterien Triglyceride und HDL des MetS sind deutliche Gruppenunterschiede zwischen MUO und MHO zu erwarten.

4.4.2 Phosphatidylcholin-ether

Phosphatidylcholinether zählen zusammen mit den Plasmalogenen zur Untergruppe der Etherlipide in der Lipidklasse der Glycerolipide. Bei zwar identischen ersten Syntheseschritten sind die Strukturen und in Folge daraus auch möglicherweise ihre Funktionen dennoch unterschiedlich (Jiménez-Rojo und Riezman 2019). Etherlipide sind ein wichtiger Strukturbestandteil von Zellmembranen. Der Einbau etherverknüpfter Alkylketten verändert ihre physikalischen Eigenschaften und beeinflusst dadurch die Membrandynamik, außerdem besteht ein Einfluss auf Zelldifferenzierung sowie zelluläre Signalwege (Dean und Lodhi 2018).

In dieser Arbeit wurden signifikant erniedrigte PC O bei MUO im Vergleich zu MHO gefunden (Tabelle 6). Es wurde in der Literatur bei Proband:innen mit arterieller Hypertonie auch nach Korrektur für Adipositas und Insulinresistenz erniedrigte PC O

gezeigt. Dieses Ergebnis spricht für ein von dem Einzelfaktor des MetS ‚artHT‘ abhängiges Ergebnis. (Graessler et al. 2009)

In einer Studie, in der Lipidomics von Zwillingspaaren mit jeweils einem normalgewichtigen und einem adipösen Zwilling verglichen wurden zeigte sich erniedrigte PC O bei Adipositas sowie eine positive Assoziation von PC O mit besserer Insulinsensitivität. Hier fällt auf, dass sich die beiden Vergleichsgruppen zusätzlich zum Gewicht auch signifikant in den erfüllten MetS Kriterien unterschieden, sodass hier zwischen gesünderen normalgewichtigen und metabolisch ungesünderen adipösen Proband:innen verglichen wurde (Pietiläinen et al. 2007). Passend dazu sind auch einige PC O Einzelspezies (PC O 34:1, 34:2, 34:4, 36:2) bei dem Vorliegen eines metabolischen Syndroms im Vergleich zu Personen ohne MetS als erniedrigt beschrieben worden, wobei die Autor:innen keine Angaben zum BMI der Proband:innen machen (Surowiec et al. 2019).

Insgesamt passen die Ergebnisse dieser Arbeit demzufolge zu der bisher vorhandenen Literatur zu PC O bei metabolischen Erkrankungen beziehungsweise Adipositas.

4.4.3 Lysophosphatidylcholine

Lysophosphatidylcholine sind wichtige Plasmalipide und Zellsignalmoleküle. LPC transportieren Glycerophospholipid-Komponenten wie Fettsäuren, Phosphatidylglycerin und Cholin zwischen den Geweben. Außerdem ist LPC ein Ligand für spezifische G-Protein-gekoppelte Signalrezeptoren und aktiviert mehrere Second Messenger. LPC sind zudem ein wichtiger Phospholipid-Bestandteil von oxidierten LDL. Es sind eine Vielzahl hauptsächlich pro- aber auch antiatherogener Effekte von LPC sowie ein Zusammenhang zu akuten und chronischen Entzündungsreaktionen Gegenstand der Literatur (Schmitz und Ruebsaamen 2010).

Heimerl et al. zeigten 2019 erniedrigte LPCs bei Adipositas im Vergleich zu einem normalgewichtigen Kontrollkollektiv (Heimerl et al. 2014), ein 2023 erschienener Review zu dem Thema bestätigt ebenfalls, dass 8 weitere und damit die meisten Studien zu dem Thema eine negative Assoziation zwischen BMI und LPC zeigen (Bellot et al. 2023).

Bei unserer Stichprobe zeigte sich hier kein signifikanter Unterschied (Tabelle 6). Das ist vor allem deshalb interessant, weil sich in der vorliegenden Arbeit die Untergruppen MHO und MUO signifikant im BMI unterscheiden, was weiter oben bereits als potenzieller Confounder der Ergebnisse dieser Arbeit diskutiert wurde. Nichtsdestotrotz mussten in der vorliegenden Arbeit Proband:innen beider Subgruppen MHO und MUO einen BMI ≥ 30 vorweisen, sodass ein adipöses Grundkollektiv mit unterschiedlichen metabolischen Merkmalen analysiert wurde. Ein Vergleich zu einem normalgewichtigen Kontrollkollektiv wurde nicht durchgeführt, sodass auch ein direkter Vergleich mit der Arbeit von Heimerl et al. nicht möglich ist.

4.4.4 Sphingomyeline

Wie bereits 2018 in dem Journal Nature zusammengefasst ist die Gesamtheit der Sphingolipide hochkomplex und eine Vielzahl zellbiologischer Prozesse wird entscheidend durch bioaktive Sphingolipide moduliert, darunter Wachstumsregulation, Zellmigration, Adhäsion, Apoptose und Entzündungsreaktionen. Auf Gewebe- und Organismusebene lässt sich dies in eine Beteiligung an neurodegenerativen Prozessen, Stoffwechselstörungen, verschiedene Krebsarten, der Immundefunktion, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und der Hautintegrität übersetzen. Eine zentrale zukünftige Herausforderung wird darin gesehen, die molekularen Wirkmechanismen für bestimmte Arten und Untergruppen bioaktiver Sphingolipide zu bestimmen (Hannun und Obeid 2018).

Die Lipidklasse der Sphingomyeline zeigte sich in ihrer Gesamtheit in dieser Arbeit bei MUO signifikant verringert (Tabelle 6). Die Daten zur Rolle von Sphingomyelinen im Kontext von metabolischer Gesundheit sind heterogen.

Höhere Sphingomyelin-Level im Zusammenhang mit besserer metabolischer Gesundheit

Mir et al. beschrieben 2022, ähnlich zu unseren Ergebnissen 22 bei MUO im Vergleich zu MHO verminderte SM Einzelspezies (Mir et al. 2022), ebenso zeigten sich in einer anderen Arbeit alle gemessenen Sphingomyelinspezies (SM 18:0, 16:1, 18:0/17:0, 18:1/16:0) bei MetS erniedrigt (Surowiec et al. 2019), SM 14:0 und 22:2 wurden bei Diabetes Mellitus als erniedrigt beschrieben (Suhre et al. 2010). In einer Studie bei 9-13 jährigen Kindern waren höhere Level von SM 21:1 signifikant mit einem besseren Nüchternblutzucker und Blutdruck assoziiert. Eine Mediationsanalyse zeigte zudem,

dass diese Sphingomyelinspezies den Zusammenhang zwischen abdomineller Adipositas und abnormaler Glucoseregulation vermitteln könnte (Liang et al. 2022). Ein herunterregulierter Sphingolipid-Metabolismus wurde bei einer spanischen Kohorte von Frauen mit einem Gestationsdiabetes in der Vorgeschichte als entscheidender Indikator für die T2DM Pathophysiologie im Frühstadium beschrieben. Zusätzlich wurde ein herunterregulierter Sphingolipid-Metabolismus im Maus- und Zellmodellen als beitragend zur Insulinresistenz und Funktionsstörung der β -Zellen der Bauchspeicheldrüse beschrieben (Khan et al. 2020). Diese Ergebnisse passen insgesamt zu der Hypothese von verringerten SM-Level bei einem schlechteren metabolischen Zustand.

Höhere Sphingomyelin-Level im Zusammenhang mit schlechterer metabolischer Gesundheit

Im Kontrast dazu wurden erhöhte SM Konzentrationen jedoch auch als Indikator für Adipositas, jedoch nicht für Insulinresistenz postuliert (Rauschert et al. 2016). In einer anderen Studie waren kurze und mittelkettige SM positiv mit intraabdominellen Fett und Insulin korreliert, SM 18:1/18:1 korrelierte zudem positiv mit Nüchterninsulin (Pietiläinen et al. 2007).

Die Lipidkategorie der Sphingolipide als Übergruppe nicht nur der Sphingomyeline werden zudem im Zusammenhang mit verstärkter Inflammation gesehen (Maceyka und Spiegel 2014), was wiederum im Kontrast zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit steht, da bei MetS eine erhöhte Inflammation zu erwarten ist (Malavazos et al. 2007). Bei prädiabetischen koreanischen Männern mit abdomineller Adipositas zeigte sich im Vergleich zu prädiabetischen Proband:innen ohne abdominelle Adipositas eine signifikante Erhöhung der gesamten SM. Sieben SM-Einzelspezies (34:2, 36:0, 36:1, 36:2, 38:1, 38:2 und 40:1) waren ebenfalls signifikant erhöht (Im et al. 2019). In der vorliegenden Arbeit hatten sowohl die Gruppe der MHO als auch der MUO im Durchschnitt abdominelle Adipositas, wobei der durchschnittliche Taillenumfang in der Gruppe der MUO signifikant höher als in der Gruppe der MHO war, sodass das dieses Ergebnis im Gegensatz zu dem Ergebnis dieser Arbeit steht.

Das Level von SM war auch im Zusammenhang mit KHK, welche in dieser Arbeit zwar nicht explizit untersucht wurde, jedoch generell als einer der Endpunkte des MetS relevant ist, bereits Gegenstand der Forschung. Einerseits waren hohe Plasma-SM-

Level nicht mit einem erhöhten Risiko einer neu aufgetretenen KHK in einer Kohorte ohne klinische kardiovaskuläre Erkrankung assoziiert (Yeboah et al. 2010). Andere Autor:innen beschrieben jedoch erhöhte Plasma-SM als Risikofaktor für subklinische Atherosklerose (Nelson et al. 2006), eine mögliche pro-atherogene Eigenschaft von Plasma-SM könne mit dem Metabolismus von AboB-haltigen oder triglyceridreichen Lipoproteinen zusammenhängen (Schlitt et al. 2006).

In der Kohorte der vorliegenden Arbeit wurde in beiden Untergruppen soweit möglich eine bestehende KHK als Endpunkt des MetS ausgeschlossen, sodass hier kein direkter Vergleich möglich ist, die bestehende Forschung zum Zusammenhang von KHK und SM aber dennoch konträr zu den Ergebnissen dieser Arbeit scheint.

4.4.5 Hexosylceramide

Hexosylceramide gehören ebenfalls zu Lipidkategorie der Sphingolipide. Diese sind Bestandteile von Zellmembranen, zirkulieren aber auch im Serum und sind wichtige Mediatoren vieler Zellfunktionen. Die Rolle von Hexosylceramiden als einfache glykosylierte Ceramide bei kardiometabolischen Erkrankungen ist noch unklar und ist vielfach Gegenstand der aktuellen Forschung (Berkowitz et al. 2022).

Die Lipidklasse der Hexosylceramide war in dieser Arbeit bei MUO signifikant verringert, jedoch waren die Hexosylceramide insgesamt die Lipidklasse mit den geringsten nachgewiesenen absoluten Mengen (Tabelle 6).

Höhere Hexosylceramid-Level im Zusammenhang mit verbesserter Glukosetoleranz

Kohortenstudien

In Einklang dazu waren in einer großen Studie (N=2036) die meisten HexCer-Spezies bei Proband:innen mit MetS erniedrigt. HexCer waren außerdem mit allen MetS Einzelkriterien außer Hypertension negativ assoziiert. Auch eine signifikante negative Assoziation mit Adipositas und gestörter Glukoseregulation, sowie insgesamt eine niedrigere Prävalenz von MetS bei höheren HexCer ist gezeigt worden (Berkowitz et al. 2022).

In einer großen Studie mit singaporeanisch-chinesischen Proband:innen korrelierten HexCer ebenfalls negativ mit dem BMI, dem HOMA-IR und der Inzidenz von T2DM (Chew et al. 2019). In einer Kohorte (N=24) mit angiographisch bestätigter KHK wurden bei komorbid bestehenden DM2 im Vergleich zu nicht bestehenden DM2 9

signifikant reduzierte HexCer Einzelspezies gefunden (Düsing et al. 2023). In einer australischen Lipidomics Studie waren einfache Sphingolipide (Sphingosine, Dihydroceramide, Ceramide) positiv mit dem BMI assoziiert während komplexe Sphingolipide (Mono-, Di- und Trihexosylceramide) negativ mit dem BMI assoziiert waren (Huynh et al. 2019). Hier fehlen jedoch zur guten Vergleichbarkeit Informationen zum metabolischen Status der Proband:innen. Zu beachten ist ebenfalls der teilweise untersuchte Zusammenhang zum BMI allein, welcher auch in dieser Arbeit aufgrund des signifikanten Unterschieds zwischen den beiden Gruppen schon mehrfach als möglicher Confounder diskutiert wurde.

Insgesamt zeigt sich jedoch in den drei aufgeführten großen Lipidomics Studien eine einheitliche negative Korrelation der klinischen und biochemischen Merkmale von Adipositas und Diabetes als Endpunkt des MetS mit reduzierten HexCer-Level in verschiedenen Ethnizitäten.

Tierexperimentelle Studien

Passend hierzu wurden auch in tierexperimentellen Studien ein positiver Effekt einer erhöhten HexCer Konzentration auf die Glukosetoleranz und Insulinsekretion gefunden, sodass ein kausaler Zusammenhang vermutet werden könnte:

Hexosylceramide und Lactosylceramide sind einfache beta-Glycosphingolipide (Gagliostro et al. 2012). An Ratten wurde bereits gezeigt, dass die Verabreichung von Beta-Glycosphingolipiden Leberschädigung in einem Modell eine nichtalkoholischen Steatohepatitis mindern kann, konkret fanden die Autor:innen eine Abnahme der Steatose und Entzündung, eine Verringerung des zentralen Körperfetts und eine Tendenz zu einem Rückgang der Serum Interferon-gamma Spiegel (Zigmond et al. 2014). Außerdem wurde ebenfalls an Ratten nach bis zu 45 Tage langer täglicher intraperitonealer Injektion von Glycosphingolipiden (beta-Glucosylceramide und beta-Lactosylceramide) eine Wiederherstellung der Insulinsekretion mit konsekutiv verbesserter Glukosetoleranz sowie eine immunmodulatorische Wirkung mit verbesserter beta-Zellfunktion festgestellt (Zigmond et al. 2009). Bei Leptin defizienten Mäusen wurde nach Behandlung mit beta-Glucosylceramiden (Glucocerebroside) eine Verbesserung der Glukosetoleranz, eine verminderte Lebergröße und Leberfettgehalt sowie verminderte Serum-Triglyceride festgestellt. Diese Veränderungen gingen ebenfalls mit einem verminderten Serum-Interferon und einem erhöhten Serum-

Interleukin 10. Level einher sowie mit einer 1,6-fachen Erhöhung der peripheren/intrahepatischen Natürlichen Killer-T-Lymphozyten Ratio. Die Autor:innen vermuten daher einen immunmodulatorischen positiven Effekt von beta-Glycosylceramiden, auch wenn ein direkter metabolischer Effekt nicht ausgeschlossen werden kann (Margalit et al. 2006).

Höhere Hexosylceramid-Level im Zusammenhang mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko

Interessanterweise scheinen Sphingolipide und damit auch Hexosylceramide das MetS in seiner Heterogenität bezüglich seiner beiden Endpunkte T2DM und kardiovaskulärer Ereignisse unterschiedlich zu beeinflussen.

Im Rahmen der bisher aufgeführten Literatur sprachen erniedrigte HexCer Level-passend zum Ergebnis der vorliegenden Arbeit – für einen schlechteren metabolischen Zustand im Sinne von MetS und einer gestörten Glucosetoleranz. Im Gegensatz dazu zeigt sich bezüglich des Endpunktes der kardiovaskulären Ereignisse eine entgegengesetzte Assoziation. In einer Kohorte von Proband:innen mit T2DM (N=3779) wurden direkte Assoziationen von Monohexosylceramiden und Dihexosylceramiden mit dem Risiko von zukünftigen kardiovaskulären Ereignissen gefunden (Alshehry et al. 2016), sodass hohe HexCer Level hier negativ im Sinne des metabolischen Outcomes zu gewertet wurden. Glycosphingolipide werden vor allem durch LDL transportiert (66%) (Senn et al. 1989) und ihr Stoffwechsel wurde bereits früher als potenzieller Einflussfaktor auf das Fortschreiten von Atherosklerose beschrieben (Garner et al. 2002). Die verwandten Lactosylceramide könnten Adhäsionsmoleküle auf Monozyten und vaskulären Endothelzellen hochregulieren und auch Neutrophile aktivieren, was zur Entzündungsreaktion und Instabilität von atherosklerotischen Plaques beitragen könnte (Chatterjee et al. 2021).

Berkowitz et al. diskutieren in ihrem Review daher einen Einfluss des Sphingolipid- und damit auch Hexosylceramidprofils im Blut auf das mit MetS assoziierte kardiovaskuläre und metabolische Risiko über verschiedene mögliche Pathomechanismen (s.o.) , was die Beeinflussung in verschiedene Richtungen je nach

betrachteten Endpunkt erklären könnte (Berkowitz et al. 2021), (Abbildung 18)

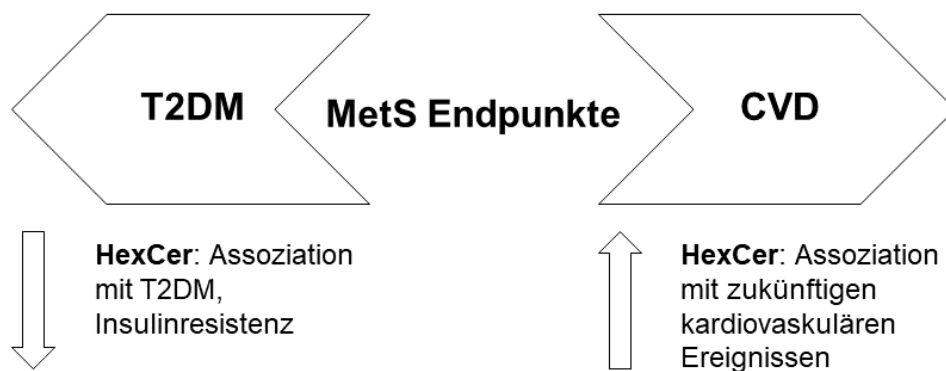


Abbildung 18: Zusammenhang von HexCer Konzentration mit den beiden Endpunkten des MetS, nach Berkowitz et al. (2021), Figure 2 (Berkowitz et al. 2021)

4.4.6 Diglyceride

Diacylglyceride und Triacylglyceride haben als Glycolipide ihre Hauptfunktionen im Energiestoffwechsel, als Energiespeicherform sowie als Signalmoleküle (Han 2016).

Die Gesamt-Diglyceride zeigten sich in unserer Kohorte bei MUO im Vergleich zu MHO signifikant erhöht (Tabelle 6). In einer kolumbianischen Studie mit 254 Teilnehmer:innen waren ebenfalls alle 10 analysierten Diglyceridspezies bei MUO im Vergleich zu MHO erhöht (Serna et al. 2024). Auch im Vergleich von Personen mit und ohne MetS, jedoch ohne expliziten Vergleich zwischen MUO und MHO sind bereits 10 bei MetS erhöhte Diglycerid-Spezies gefunden worden (Capel et al. 2020). Einzelne Diglyceridspezies (DG 34:1, DG 36:2) wurden zudem in einer weiteren Studie als positiv korrelierend mit einer höheren Anzahl an erfüllten MetS Kriterien beschrieben (Surowiec et al. 2019).

4.4.7 Triglyceride

Da erhöhte Gesamt-Triglyceride Teil der Kriterien zur Definition der beiden Untergruppen MHO und MUO in dieser Arbeit waren ist eine signifikante Erhöhung der Gesamt-Triglyceride bei MUO eine logische Folge aus dieser an erster Stelle gemachten Definition (Tabelle 6). Interessant ist jedoch die in Abbildung 15 angedeutete sättigungsabhängige Erhöhung der einzelnen Triglyceridspezies bei MUO. Einige aus dem Trend herausstechende Triglyceride waren in nur sehr geringen

Anteilen am Gesamttriglyceridgehalt vorhanden, sodass diese in Abbildung 15 entsprechend weiß und grau markiert sind.

Gesättigte Fettsäuren im Allgemeinen waren bereits sehr häufig Gegenstand der Forschung. Es gibt eine Fülle an Daten, die unterschiedliche gesundheitliche Auswirkungen verschiedener gesättigter Fettsäuren beschreiben, bedingt auch durch unterschiedliche endogene und ernährungsbedingte Determinanten, welche häufig nicht ausreichend in der Beurteilung beachtet werden (Mozaffarian 2014).

Fettsäuren in der Nahrung und deren Korrelation mit Triglyceriden im Plasma

Grundsätzlich ist bei der bestehenden Literatur zwischen Forschung zu den Auswirkungen der Fettsäurezusammensetzung der Nahrung und der Fettsäurezusammensetzung im Plasma bzw. in einzelnen Lipoproteinen und Lipidklassen zu unterscheiden. Es gibt jedoch einige Anhaltspunkte, die nahelegen, dass Ergebnisse zur Fettsäurezusammensetzung in der Nahrung durchaus im Zusammenhang zu Ergebnissen bei TG im Plasma und damit auch zu den Ergebnissen dieser Arbeit gesehen werden können.

Insgesamt sind die meisten Fettsäuren im Plasma in TG enthalten (Hodson et al. 2008).

In mehreren Studien konnte eine deutliche Korrelation der Fettsäurezusammensetzung in TG im Plasma mit der in der Nahrung gezeigt werden: In mehreren Analysen ähnelte die Fettsäurezusammensetzung von TG und freien Fettsäuren (FS) im Plasma am meisten der Fettsäurezusammensetzung der Nahrung (Hodson et al. 2008; Furtado et al. 2019). Hierbei scheint es Variationen in der Stärke der Korrelation zu geben: Die stärkste Korrelation ergab sich jeweils bei den exogenen, nicht endogen synthetisierten FS, wie Alpha-Linolensäure (C18:3 w3); Linolsäure (C 18:2, w6), Transfettsäuren (Furtado et al. 2019) beziehungsweise Transfettsäuren, ungeradkettige FS, 18:2n6, 18:3n3 und n3 mehrfach ungesättigte Fettsäuren aus Fischöl (PUFAs) (Hodson et al. 2008). Eine andere Studie fand eine bessere Repräsentativität für PUFAs und gesättigte FS (saturated fatty acids, SFAs) während der Zusammenhang zu einfach ungesättigten FS (monounsaturated fatty acid, MUFA) schwächer war (Nikkari et al. 1995).

Fettsäuren in der Nahrung und deren Zusammenhang mit MetS und dessen Einzelkomponenten

In mehreren Studien wurde der Einfluss von Fettsäuren aus der Nahrung auf das kardiovaskuläre Risiko untersucht: Fettsäuren aus der Nahrung scheinen Lipoproteine und Lipide im Plasma durch multiple Mechanismen und Stoffwechselwege zu beeinflussen. Ungesättigte FS aus der Nahrung (sowohl n3- als auch n6-FS) senkten unter anderem die Plasma TG und das Cholesterin und senkten damit das kardiovaskuläre Risiko (Fernandez und West 2005). Eine 2010 publizierte Metaanalyse, ergab außerdem, dass das Ersetzen von SFA in der Nahrung durch PUFAs das KHK Risiko geringfügig senkt, wobei eine 10% Risikoreduktion durch einen Austausch von 5% der Energie erreicht wurde (Micha und Mozaffarian 2010).

Eine Metaanalyse von 2013 konnte in longitudinalen Ernährungsstudien zeigen, dass gesättigte Fettsäuren aus der Nahrung den HbA1c und die Nüchtern-glucose erhöhten, während einfach- und mehrfach ungesättigte Fettsäuren die beiden Parameter senkten und damit positiv beeinflussten (Imamura et al. 2013).

In einer großen Querschnittsstudie (N=23.157) zeigte sowohl eine Principal Component Analyse als auch eine Einzelanalyse der jeweiligen Nährstoffe eine höhere Wahrscheinlichkeit der Assoziation mit MetS bei Konsum von SFA und MUFA (Mazidi et al. 2017), in einer anderen großen Querschnittsstudie (N=4677) war die Aufnahme von SFA aus der Nahrung ebenfalls mit der Prävalenz des MetS assoziiert (Hosseinpour-Niazi et al. 2015).

Der Austausch gesättigter Fettsäuren durch einfach ungesättigte Fettsäuren in moderater Menge hatte auch bei gesunden Personen positive Auswirkungen auf den Fettstoffwechsel. Eine moderate Ergänzung mit langkettigen n-3-Fettsäuren senkte bei gesunden Personen die TG-Konzentration sowohl nüchtern als auch postprandial (Rivellese et al. 2003).

Fettsäuren im Plasma und deren Zusammenhang mit MetS und dessen Einzelkomponenten

Insulinresistenz

Passend zu unseren Ergebnissen war in mehreren deskriptiven Studien der Anteil gesättigter Fettsäuren im Serum bei MetS erhöht, während mehrfach ungesättigte Fettsäuren vermindert waren (Yu et al. 2012; Capel et al. 2020).

Auch zur Insulinresistenz als einzelne MetS-Komponente gibt es mehrere passende Ergebnisse. TG im Serum, die SFA und MUFAs enthielten waren positiv, TG, die die essenzielle Linolsäure (8:2 n-6) enthielten negativ mit dem HOMA-IR korreliert. Konzentrationen bestimmter, SFAs und MUFAs enthaltender TG im Serum wurden daher von den Autor:innen als möglicherweise genauere Marker für Insulinresistenz als die gesamte Konzentration von TG im Serum diskutiert (Kotronen et al. 2009). Im Skelettmuskel korrelierte Insulinresistenz direkt mit erhöhten SFAs in TGs, sodass die Autor:innen einen hohen Gehalt an SFAs in TGs als möglichen Einflussfaktor auf die Insulin-vermittelte Glukoseaufnahme im gesamten Körper diskutieren (Manco et al. 2000).

Gewichtsverlust und Differenzierung von MUO und MHO

In einer Längsschnittstudie waren nach Gewichtsverlust hauptsächlich die kurzkettigen gesättigten TG reduziert, korrelierend mit einer Verbesserung der Insulinresistenz während mehrere längerkettige, ungesättigte Fettsäuren nicht von dem Gewichtsverlust beeinflusst wurden (Schwab et al. 2008). Hierzu passend zeigte sich auch in der vorliegenden Arbeit insbesondere ein höherer Anteil kurzkettiger, gesättigter Fettsäuren bei MUO.

Ebenso konnten Unterschiede in dem Fettsäureprofil der TG im Plasma bei MHO und MUO gezeigt werden, welche explizit bei dem Vergleich zwischen Menschen mit und ohne abdominelle Adipositas nicht bestand. Bei MUO waren einzelne SFAs und MUFAs höher, bei MHO im Gegensatz dazu PUFAs erhöht. Nach Adjustierung für BMI, Alter und Geschlecht zeigten Regressionsanalysen ebenfalls einen Zusammenhang einzelner SFA mit einem höheren HOMA-IR und einem höheren systolischen Blutdruck. Im Gegensatz dazu war die PUFA Linolsäure (C 18:2) mit einem niedrigeren Glucosespiegel und niedrigerem CRP assoziiert. Die Autor:innen schlussfolgern, dass das Profil der TG im Plasma dazu beitragen könnte, einen Teil der Heterogenität zwischen abdominaler Adipositas und MetS zu erklären (Aristizabal et al. 2016).

Zusammenfassende Einordnung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit

Zusammenfassend wird also mehrheitlich eine Korrelation zwischen Fettsäuren in der Nahrung und der Fettsäure-Zusammensetzung von Triglyceriden im Plasma hergestellt. Gesättigte Fettsäuren in der Nahrung als auch im Plasma sind in der

Literatur mit dem metabolischen Syndrom, sowie dessen Komponenten und Endpunkten assoziiert, wohingegen insbesondere mehrfach ungesättigte Fettsäuren im Kontext einer besseren metabolischen Gesundheit beschrieben werden. Das Nebenergebnis der vorliegenden Arbeit im Sinne einer visuell angedeuteten sättigungsabhängigen Erhöhung der einzelnen Triglyceridspezies bei MUO insbesondere bei niedrigeren Kettenlängen passt sehr gut zu der vorbestehenden Literatur. Hierdurch zeigt sich erneut die Relevanz der Differenzierung von metabolischer Gesundheit innerhalb einer gesamtheitlich adipösen Kohorte.

4.4.8 Partielle kleinste Quadrate

Insgesamt geben die dargestellten Berechnungen Hinweise darauf, dass es möglich ist, aus den Lipidomics-Daten der betrachteten Stichprobe ein prognostisches Modell zu erstellen, mit dem eine Unterscheidung zwischen metabolisch gesunder und metabolisch ungesunder Adipositas mit großer Sicherheit möglich ist. Im Rahmen der Erstellung des PLS-Modells wurde aufgrund der geringen Stichprobengröße auf die Unterteilung zwischen Trainings- und Testset verzichtet und der gesamte Datensatz als Trainingsset verwendet. Ebenso sinkt bei der betrachteten geringen Stichprobengröße und der im Gegensatz dazu hohen betrachteten Variablenanzahl die Genauigkeit der Vorhersage. Daher sollte im Verlauf eine Bestätigung der Ergebnisse unter Verwendung eines unabhängigen Testsets erfolgen.

4.5 Stärken der Arbeit

Eine Stärke der Arbeit ist die Verfügbarkeit von detaillierten anthropometrischen Daten sowie Routine-Labordiagnostik und miRNA und Lipidomics-Daten, welche ungezielt bestimmt wurden und damit umfassende Informationen zu miRNA- Levels und Lipidomics bieten. Außerdem zeichnet sich die Kohorte- insbesondere in Hinblick auf die häufige Betrachtung von Subgruppen mit und ohne MetS ohne genauere Spezifizierung bezüglich des Grades der Adipositas in der bestehenden Literatur- durch den expliziten Vergleich von MHO und MUO aus.

4.6 Limitationen der Arbeit

4.6.1 Allgemeine Limitationen

Die analysierte Kohorte ist insgesamt als sehr heterogen anzusehen. Das erklärt sich auch aufgrund dessen, dass das MetS als Risikocluster bereits eine Kombination an Risikofaktoren ist und multiple Pathologien (arterielle Hypertonie (artHT), Insulinresistenz, Lipide) beinhaltet. Außerdem wurde der Einfluss weiterer möglicher Confounder, wie beispielsweise Geschlecht oder prä/postmenopausaler Lebensabschnitt im Rahmen dieser Arbeit nicht betrachtet. Zudem wird die Interpretation dadurch erschwert, dass die Gruppe der MHO- obwohl nicht explizit als Gruppendifinitionskriterium festgelegt- einen signifikant geringeren BMI hatte, auch wenn dieser der Stichprobendefinition folgend über 30 mg/m² lag.

Des Weiteren wurden die Analysen mit einer geringen Stichprobenanzahl von N=40 durchgeführt. Diese haben daher explorativen Charakter. Durch multiples Testen aufgrund der hohen Variablenanzahl (217 Einzellipidspezies, 168 miRNAs) ist die Gefahr, aufgrund des Alpha-Fehlers zufällige Zusammenhänge als signifikant anzunehmen hoch. Vor diesem Hintergrund müssen die Ergebnisse dieser Arbeit vorsichtig interpretiert und im Verlauf in einer größeren Kohorte verifiziert werden. Zudem kann keine Kausalität geschlussfolgert werden, weil die Daten lediglich Beobachtungscharakter haben und die Datenerhebung nur zu einem Zeitpunkt und nicht longitudinal erfolgte. Beschriebene Ergebnisse könnten entweder Ursache oder auch Konsequenz des MUO/MHO sein.

4.6.2 Limitationen miRNA

Die gute technische Qualität der in dieser Arbeit durchgeführten Experimente zeigt sich in den sehr stabil nachgewiesenen synthetischen Spike-Ins. Jedoch ist die Interpretation der vorliegenden Daten durch die durchgeführten Einfachmessungen sowie die durchgehend im niedrigen Bereich liegenden analysierten Mengen an miRNAs erschwert.

Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit der bestehenden Literatur wird zudem durch die fehlende eindeutig akzeptierte Strategie zur Normalisierung erschwert (Santovito und Weber 2017). Passend dazu merken die Autor:innen eines Reviews von 2017 an, dass häufig auf cel-Mir-39 als exogene Kontrolle normalisiert wird und nur 4 von 24 Studien für Hämolyse kontrolliert haben. In der vorliegenden Arbeit wurde bewusst ein im Vergleich hierzu deutlich restriktiverer Ansatz der Präprozessierung der Daten gewählt. Bei der Interpretation ist außerdem dringend die Ätiologie der untersuchten Probe zu beachten, da es auch viele Daten zu miRNAs in verschiedenen Geweben sowie aus Tiermodellen gibt. Diese, hier ebenfalls diskutierten Ergebnisse können nur Hinweise auf mögliche Zusammenhänge im weiteren Sinn geben.

Insgesamt ist bei zirkulierenden miRNAs im Plasma weder ein sicherer ätiologischer Rückschluss auf das ausschüttende Gewebe noch auf das Zielgewebe möglich. Jede miRNA kann zahlreiche verschiedene mRNA-Ziele haben, genauso wie eine einzelne mRNA von vielen verschiedenen miRNAs reguliert werden könnte (Vienberg et al. 2017). Eine einzelne zirkulierende miRNA kann zudem durch viele verschiedene Faktoren beeinflusst werden (Brandão-Lima et al. 2022). In dieser Arbeit wurde eine

medikamentöse Behandlung einzelner MetS Faktoren als positives MetS Kriterium gewertet (siehe Methoden). Allerdings ist eine Beeinflussung der zirkulierenden miRNAs durch eine medikamentöse Therapie nicht auszuschließen. So wurde beispielsweise bereits eine signifikante Änderung der zirkulierenden miR-192, miR-140-5p und miR-222 unter oraler Therapie mit Metformin gezeigt (Ortega et al. 2014). Außerdem sind mehrere zirkulierende miRNAs im Zusammenhang mit dem Ansprechen auf eine antihypertensive Therapie mit beta-Blockern beschrieben (Solayman et al. 2019). Auch Sexualsteroidhormone und X-chromosomale Gene können einen erheblichen Einfluss auf die Regulation von miRNAs haben und erklären somit ebenfalls zu beachtende mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede der miRNA Level (Sharma und Eghbali 2014). Ein weiterer Faktor, der miRNAs beeinflussen kann, ist die Ernährung (Cui et al. 2017). Dieser konnte in dieser Arbeit aufgrund fehlender Daten zu Ernährungsgewohnheiten in der Stichprobe nicht berücksichtigt werden.

4.5.3 Limitationen Lipidomics

Das Geschlecht scheint eine Rolle zu spielen, so waren beispielsweise in einer australischen Studie 297 der analysierten 636 Lipidspezies mit dem Geschlecht assoziiert (Huynh et al. 2019), geschlechtsspezifische Auswertungen wurden aufgrund der insgesamt geringen Stichprobengröße in dieser Arbeit nicht durchgeführt.

5. Zusammenfassung

Hintergrund: Adipositas und das MetS sind aufgrund der hohen Prävalenz und des erhöhten Risikos für weitere Erkrankungen wie Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskuläre Erkrankungen eine der großen gesundheitlichen Herausforderungen der aktuellen Zeit. Eine Unterscheidung zwischen metabolisch gesunder und metabolisch ungesunder Adipositas ist zur Einordnung des Risikos für Folgeerkrankungen und Abschätzung des Interventionsbedarfs notwendig. Unterschiede in einem adipösen Grundkollektiv sind bisher nicht ausreichend untersucht. Sowohl miRNAs als auch Lipidomics im Plasma sind vielversprechende Marker, die zu einer besseren Unterscheidung und genaueren Beschreibung der beiden Untergruppen beitragen können.

Methoden: In dieser Arbeit wurden im Rahmen eines ungezielten Screening-Ansatzes die miRNA-Profile (179 miRNAs) mittels qPCR und Lipidomics (217 Lipidspezies) mittels massenspektrometrischer Analyse (FIA-MS/MS, FIA-FTMS) im Plasma eines adipösen Grundkollektivs bestimmt. Die Stichprobe (N=40) wurde in metabolisch gesunde (MHO) und metabolisch ungesunde (MUO) Adipositas unterteilt.

Ergebnisse: Bei insgesamt geringen nachgewiesenen Mengen an miRNA im Plasma zeigten die Level von miR-495-3p, miR-144-3p und miR-140-3p die höchste Wahrscheinlichkeit auf einen Unterschied in der Konzentration bei MUO im Vergleich zu MHO. Diese waren bei MUO im Vergleich zu MHO erniedrigt, wobei lediglich miR-495-3p einen p-Wert $<0,05$ ohne Adjustierung für multiples Testen zeigte. Die Analyse der Lipidomics ergab ebenfalls ohne Adjustierung für multiples Testen signifikant unterschiedliche Mittelwerte in 5 Lipidklassen, hierbei waren Triglyceride und Diglyceride bei MUO erhöht und Phosphatidylcholin-ether, Sphingomyeline und Hexosylceramide bei MUO erniedrigt. Außerdem beobachteten wir eine visuell angedeutete, von Sättigung und Kettenlänge abhängige Erhöhung der Triglyceride bei MUO. Die multivariate Regression mittels Partiiell Kleinsten Quadrate als Trainingsset bei der Verwendung von 5 Komponenten ergab zudem ein hohes adjustiertes R-Quadrat von 0,824.

Diskussion: In der Literatur finden sich variierende Ergebnisse dazu, ob MHO selbst als instabiler Übergangszustand anzusehen ist. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollten aufgrund der geringen Stichprobengröße und Heterogenität der Kohorte als vorläufig

betrachtet und an unabhängigen Stichproben bestätigt werden. In der Literatur ist eine Fülle heterogener Forschungsergebnisse zu miRNAs im Zusammenhang zu MetS zu finden. Die Ergebnisse der Lipidomics Untersuchung passen weitgehend zur vorbestehenden Literatur, insbesondere die graphisch angedeutete sättigungsabhängige Zunahme der TG-Einzelspezies bei MUO scheint einen klaren Zusammenhang zur metabolischen Gesundheit widerzuspiegeln. Häufig ist eine Vergleichbarkeit nur eingeschränkt möglich, da Studien, die explizit MHO und MUO untersuchen weitestgehend fehlen. Hierdurch zeigt sich die Bedeutsamkeit weiterer Forschung zum besseren Verständnis der Pathophysiologie sowie zur besseren Beschreibung und Unterscheidung von Risikopopulationen innerhalb eines adipösen Grundkollektivs.

6. Abkürzungsverzeichnis

BMI - Body Mass Index

CE - Cholesteryl Ester

Cer - Ceramide

CRP - C-reaktives Protein

Ct-Wert - Cycle-threshold-Wert

CVD - cardiovascular diseases, kardiovaskuläre Erkrankungen

DG - Diglyceride

EDTA - Ethylendiamintetraessigsäure

FA - Fettsäuren

FC - Free Cholesterol

FS - Fettsäure(n)

GL - Glycerolipide

GP - Glycerophospholipide

HbA1c - Hämoglobin A1c

HDL - High Density Lipoprotein

HexCer - Hexosylceramide

HOMA-IR - Homeostasis model assessment of insulin resistance

IDF - International Diabetes Federation

IDL - Intermediate Density Lipoprotein

IR - Insulinresistenz

KHK - koronare Herzkrankheit

LDL - Low Density Lipoprotein

LPC - Lysophosphatidylcholine

MetS - Metabolisches Syndrom

MHL - metabolically healthy lean, metabolisch gesunde normalgewichtige Personen

MHO - metabolically healthy obesity, metabolisch gesunde Adipositas

MiRNA - MicroRNA

mRNA - messenger RNA

MUFA - monounsaturated fatty acid, einfach ungesättigte Fettsäure

MUL - metabolically unhealthy lean, metabolisch ungesunde normalgewichtige Personen

MUO - metabolically unhealthy obesity, metabolisch ungesunde Adipositas

NASH - nichtalkoholische Steatohepatitis

NCEP ATP III - National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III

OECD - Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung

pAVK - periphere arterielle Verschlusskrankheit

PC - Phosphatidylcholine

PC O - Phosphatidylcholin-ether
PCOS - polyzystisches Ovarialsyndrom
PE - Phosphatidylethanolamine
PE P - PE basierte Plasmalogene
PG - Phosphatidylglycerol
PI - Phosphatidylinositol
PLS - Partial Least Squares, partiell kleinste Quadrate
PUFA - polyunsaturated fatty acid, mehrfach ungesättigte Fettsäure
qPCR - quantitative Polymerase-Kettenreaktion
RT-PCR - Reverse Transkriptase Polymerase-Kettenreaktion
SFA - saturated fatty acid, gesättigte Fettsäure
SM - Sphingomyeline
SP - Sphingolipide
ST - Sterol Lipide
STEMI - ST-elevation myocardial infarction, Herzinfarkt mit ST-Streckenhebung
T2DM - Diabetes Mellitus Typ 2
TG - Triglyceride
VLDL - Very Low-Density Lipoprotein
WHO - Weltgesundheitsorganisation

7. Literature Cited

1. Obesity and overweight; 2025 [cited 2025 Jun 20]. Available from: URL: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
2. Kurth B-M. Erste Ergebnisse aus der „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS). Robert Koch-Institut, Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung; 2013. Available from: URL: <https://edoc.rki.de/handle/176904/1563>.
3. Wirth A, Wabitsch M, Hauner H. The prevention and treatment of obesity. *Dtsch Arztebl Int* 2014; 111(42):705–13. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4233761/>.
4. Collaboration PS. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *The Lancet* 2009; 373(9669):1083–96. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2662372/>.
5. Global burden and strength of evidence for 88 risk factors in 204 countries and 811 subnational locations, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet* (London, England) 2024; 403(10440):2162–203. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38762324/>.
6. Choi J, Joseph L, Pilote L. Obesity and C-reactive protein in various populations: a systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews* 2013; 14(3):232–44. Available from: URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/obr.12003>.
7. Chait A, Hartigh LJ den. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Front. Cardiovasc. Med.* 2020; 7:22. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7052117/>.
8. Malavazos AE, Corsi MM, Ermetici F, Coman C, Sardanelli F, Rossi A et al. Proinflammatory cytokines and cardiac abnormalities in uncomplicated obesity: relationship with abdominal fat deposition. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17(4):294–302.
9. Lemieux I, Pascot A, Prud'homme D, Alméras N, Bogaty P, Nadeau A et al. Elevated C-reactive protein: another component of the atherothrombotic profile of abdominal obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(6):961–7.
10. Grundy SM, Brewer HB, Cleeman JI, Smith SC, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004; 109(3):433–8.
11. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120(16):1640–5.
12. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285(19):2486–97.
13. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes ...; 1999. Available from: URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/66040/?sequence=1>.
14. Consensus statements; 2022 [cited 2022 Nov 4]. Available from: URL: <https://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idfconsensus-worldwide-definitionof-the-metabolic-syndrome>.
15. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006; 23(5):469–80. Available from: URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x>.
16. Rexrode KM, Carey VJ, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ et al. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. *JAMA* 1998; 280(21):1843–8. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9846779/>.
17. Ohlson LO, Larsson B, Svärdsudd K, Welin L, Eriksson H, Wilhelmsen L et al. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes* 1985; 34(10):1055–8. Available from: URL: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article/34/10/1055/6168/The-Influence-of-Body-Fat-Distribution-on-the>.
18. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med* 2011; 9(1):48. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1186/1741-7015-9-48>.

19. Adeva-Andany MM, Martínez-Rodríguez J, González-Lucán M, Fernández-Fernández C, Castro-Quintela E. Insulin resistance is a cardiovascular risk factor in humans. *Diabetes Metab Syndr* 2019; 13(2):1449–55. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871402119300785>.
20. Carr MC, Brunzell JD. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6):2601–7.
21. Katsimardou A, Imprialos K, Stavropoulos K, Sachinidis A, Doumas M, Athyros V. Hypertension in Metabolic Syndrome: Novel Insights. *Curr Hypertens Rev* 2020; 16(1):12–8.
22. Landsberg L, Aronne LJ, Beilin LJ, Burke V, Igel LI, Lloyd-Jones D et al. Obesity-related hypertension: pathogenesis, cardiovascular risk, and treatment: a position paper of The Obesity Society and the American Society of Hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2013; 15(1):14–33. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8108268/>.
23. Gutiérrez-Solis AL, Datta Banik S, Méndez-González RM. Prevalence of Metabolic Syndrome in Mexico: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Metab Syndr Relat Disord* 2018; 16(8):395–405.
24. Smith GI, Mittendorfer B, Klein S. Metabolically healthy obesity: facts and fantasies. *J Clin Invest* 2019; 129(10):3978–89. Available from: URL: <https://www.jci.org/articles/view/129186>.
25. Kuk JL, Ardern CI. Are metabolically normal but obese individuals at lower risk for all-cause mortality? *Diabetes Care* 2009; 32(12):2297–9. Available from: URL: <https://diabetesjournals.org/care/article/32/12/2297/25981/Are-Metabolically-Normal-but-Obese-Individuals-at>.
26. van Vliet-Ostaptchouk JV, Nuotio M-L, Slagter SN, Doiron D, Fischer K, Foco L et al. The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: a collaborative analysis of ten large cohort studies. *BMC Endocr Disord* 2014; 14(1):9. Available from: URL: <https://bmcendocrdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6823-14-9>.
27. Appleton SL, Seaborn CJ, Visvanathan R, Hill CL, Gill TK, Taylor AW et al. Diabetes and cardiovascular disease outcomes in the metabolically healthy obese phenotype: a cohort study. *Diabetes care* 2013; 36(8):2388–94. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23491523/>.
28. Jurado-Fasoli L, Sanchez-Delgado G, Alcantara JMA, Acosta FM, Sanchez-Sanchez R, Labayen I et al. Adults with metabolically healthy overweight or obesity present more brown adipose tissue and higher thermogenesis than their metabolically unhealthy counterparts. *eBioMedicine* 2024; 100:104948. Available from: URL: [https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964\(23\)00514-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(23)00514-5/fulltext).
29. Ojalehto Lindfors E, Oliveira TL de, Reynolds CA, Zhan Y, Dahl Aslan AK, Jylhävä J et al. Genetic influences, lifestyle and psychosocial aspects in relation to metabolically healthy obesity and conversion to a metabolically unhealthy state. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2025; 27(1):207–14. Available from: URL: <https://dom-pubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/dom.16004>.
30. David P. Bartel. MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell* 2009; 136(2):215–33. Available from: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867409000087>.
31. Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Nature reviews. Genetics* 2011; 12(2):99–110. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21245828/>.
32. Bartel DP. MicroRNAs. *Cell* 2004; 116(2):281–97. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14744438/>.
33. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(30):10513–8.
34. Rottiers V, Näär AM. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13(4):239–50.
35. Brandão-Lima PN, Carvalho GB de, Payolla TB, Sarti FM, Rogero MM. Circulating microRNA Related to Cardiometabolic Risk Factors for Metabolic Syndrome: A Systematic Review. *Metabolites* 2022; 12(11):1044. Available from: URL: <https://www.mdpi.com/2218-1989/12/11/1044>.
36. Müller S, Wallner S, Schmitz G, Loew T, Stempfl T, Möhle C et al. SNP dependent modulation of circulating miRNAs from the miR25/93/106 cluster in patients undergoing weight loss. *Gene* 2020; 753:144787.
37. Aryal B, Singh AK, Rotllan N, Price N, Fernández-Hernando C. MicroRNAs and lipid metabolism. *Current opinion in lipidology* 2017; 28(3):273–80. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28333713/>.
38. Rayner KJ, Suárez Y, Dávalos A, Parathath S, Fitzgerald ML, Tamehiro N et al. MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Science (New York, N.Y.)* 2010; 328(5985):1570–3.

39. O'Donnell VB, Ekroos K, Liebisch G, Wakelam M. Lipidomics: Current state of the art in a fast moving field. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine* 2020; 12(1):e1466. Available from: URL: https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/wsbm.1466?casa_token=jrTQPiakQelAAAAA%3A4nZLsJxW29ffuuEOoU48ZyUn0z7-hQl2boFVimJbIDY869mKM0CI0TpOxG95ibQ1QXVpVcndUxaWQo_d.
40. Han X. Lipidomics for studying metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 2016; 12(11):668–79. Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/nrendo.2016.98>.
41. Blanksby SJ, Mitchell TW. Advances in mass spectrometry for lipidomics. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)* 2010; 3:433–65.
42. Han X, Yang K, Gross RW. Multi-dimensional mass spectrometry-based shotgun lipidomics and novel strategies for lipidomic analyses. *Mass Spectrom Rev* 2012; 31(1):134–78. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21755525/>.
43. Contrepois K, Mahmoudi S, Ubhi BK, Papsdorf K, Hornburg D, Brunet A et al. Cross-Platform Comparison of Untargeted and Targeted Lipidomics Approaches on Aging Mouse Plasma. *Sci Rep* 2018; 8(1):17747. Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-35807-4>.
44. Cortes VA, Busso D, Maiz A, Arteaga A, Nervi F, Rigotti A. Physiological and pathological implications of cholesterol. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)* 2014; 19(3):416–28. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24389193/>.
45. Monnerie S, Comte B, Ziegler D, Morais JA, Pujos-Guillot E, Gaudreau P. Metabolomic and Lipidomic Signatures of Metabolic Syndrome and its Physiological Components in Adults: A Systematic Review. *Sci Rep* 2020; 10(1):669.
46. Yang Q, Vijayakumar A, Kahn BB. Metabolites as regulators of insulin sensitivity and metabolism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19(10):654–72. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30104701/>.
47. Sadhbh O'Neill, Mette Bohl, Soren Gregersen, Kjeld Hermansen, Lorraine O'Driscoll. Blood-Based Biomarkers for Metabolic Syndrome. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2016; 27(6):363–74. Available from: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104327601600059X>.
48. Wallmeier D, Winkler JK, Fleming T, Woehning A, Huennemeyer K, Roeder E et al. Genetic modulation of the serotonergic pathway: influence on weight reduction and weight maintenance. *Genes Nutr* 2013.
49. Blondal T, Jensby Nielsen S, Baker A, Andreasen D, Mouritzen P, Wrang Teilum M et al. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. *Methods (San Diego, Calif.)* 2013; 59(1):S1-6. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23036329/>.
50. miRCURY LNA miRNA PCR Starter Kit; 2023 [cited 2023 Nov 20]. Available from: URL: <https://www.qiagen.com/de-us/products/discovery-and-translational-research/pcr-qpcr-dpcr/qpcr-assays-and-instruments/mirna-qpcr-assay-and-panels/mircury-lna-mirna-pcr-starter-kit>.
51. Blaga Bego. Data Analysis Guide For the miRCURY LNA™ Universal RT microRNA Ready-to-Use PCR panels using Exiqon GenEx software. Available from: URL: https://www.academia.edu/36815286/Data_Analysis_Guide_For_the_miRCURY_LNA_Universal_RT_microRNA_Ready_to_Use_PCR_panels_using_Exiqon_GenEx_software.
52. Huggett JF, Foy CA, Benes V, Emslie K, Garson JA, Haynes R et al. The digital MIQE guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Digital PCR Experiments. *Clin Chem* 2013; 59(6):892–902.
53. Ronde MWJ de, Ruijter JM, Lanfear D, Bayes-Genis A, Kok MGM, Creemers EE et al. Practical data handling pipeline improves performance of qPCR-based circulating miRNA measurements. *RNA* 2017; 23(5):811–21.
54. Schulte C, Molz S, Appelbaum S, Karakas M, Ojeda F, Lau DM et al. miRNA-197 and miRNA-223 Predict Cardiovascular Death in a Cohort of Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. *PLoS One* 2015; 10(12):e0145930.
55. Bryant RJ, Pawlowski T, Catto JWF, Marsden G, Vessella RL, Rhee B et al. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer. *Br J Cancer* 2012; 106(4):768–74.
56. Santovito D, Weber C. Zooming in on microRNAs for refining cardiovascular risk prediction in secondary prevention. *Eur Heart J* 2017; 38(7):524–8. Available from: URL: <https://academic.oup.com/eurheartj/article/38/7/524/3048618?login=true>.
57. Schwarzenbach H, da Silva AM, Calin G, Pantel K. Data Normalization Strategies for MicroRNA Quantification. *Clin Chem* 2015; 61(11):1333–42.
58. Chugh P, Dittmer DP. Potential pitfalls in microRNA profiling. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2012; 3(5):601–16. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22566380/>.
59. Chugh P, Dittmer DP. Potential pitfalls in microRNA profiling. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2012; 3(5):601–16.

60. Vandesompele J, Preter K de, Pattyn F, Poppe B, van Roy N, Paepe A de et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol* 2002; 3(7):RESEARCH0034. Available from: URL: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2002-3-7-research0034>.
61. BLIGH EG, DYER WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959; 37(8):911–7.
62. Liebisch G, Binder M, Schifferer R, Langmann T, Schulz B, Schmitz G. High throughput quantification of cholesterol and cholesteryl ester by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS). *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761(1):121–8.
63. Liebisch G, Lieser B, Rathenber J, Drobnik W, Schmitz G. High-throughput quantification of phosphatidylcholine and sphingomyelin by electrospray ionization tandem mass spectrometry coupled with isotope correction algorithm. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1686(1-2):108–17.
64. Liebisch G, Drobnik W, Lieser B, Schmitz G. High-Throughput Quantification of Lysophosphatidylcholine by Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Clin Chem* 2002; 48(12):2217–24.
65. Matyash V, Liebisch G, Kurzchalia TV, Shevchenko A, Schwudke D. Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-throughput lipidomics. *J Lipid Res* 2008; 49(5):1137–46.
66. Zemski Berry KA, Murphy RC. Electrospray ionization tandem mass spectrometry of glycerophosphoethanolamine plasmalogen phospholipids. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 2004; 15(10):1499–508.
67. Liebisch G, Drobnik W, Reil M, Trümbach B, Arnecke R, Olgemöller B et al. Quantitative measurement of different ceramide species from crude cellular extracts by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS). *J Lipid Res* 1999; 40(8):1539–46.
68. Höring M, Ejsing CS, Hermansson M, Liebisch G. Quantification of Cholesterol and Cholesteryl Ester by Direct Flow Injection High-Resolution Fourier Transform Mass Spectrometry Utilizing Species-Specific Response Factors. *Analytical Chemistry* 2019; 91(5):3459–66.
69. Husen P, Tarasov K, Katafiasz M, Sokol E, Vogt J, Baumgart J et al. Analysis of lipid experiments (ALEX): a software framework for analysis of high-resolution shotgun lipidomics data. *PLoS One* 2013; 8(11):e79736.
70. Liebisch G, Vizcaíno JA, Köfeler H, Trötz Müller M, Griffiths WJ, Schmitz G et al. Shorthand notation for lipid structures derived from mass spectrometry. *J Lipid Res* 2013; 54(6):1523–30.
71. Echouffo-Tcheugui JB, Short MI, Xanthakis V, Field P, Sponholtz TR, Larson MG et al. Natural History of Obesity Subphenotypes: Dynamic Changes Over Two Decades and Prognosis in the Framingham Heart Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2019; 104(3):738–52. Available from: URL: <https://academic.oup.com/jcem/article/104/3/738/5134201?login=true>.
72. Mongraw-Chaffin M, Foster MC, Anderson CAM, Burke GL, Haq N, Kalyani RR et al. Metabolically Healthy Obesity, Transition to Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Risk. *Journal of the American College of Cardiology* 2018; 71(17):1857–65. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29699611/>.
73. Mongraw-Chaffin M, Foster MC, Kalyani RR, Vaidya D, Burke GL, Woodward M et al. Obesity Severity and Duration Are Associated With Incident Metabolic Syndrome: Evidence Against Metabolically Healthy Obesity From the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101(11):4117–24. Available from: URL: <https://academic.oup.com/jcem/article/101/11/4117/2764963>.
74. Marcus Y, Segev E, Shefer G, Eilam D, Shenkerman G, Buch A et al. Metabolically Healthy Obesity Is a Misnomer: Components of the Metabolic Syndrome Linearly Increase with BMI as a Function of Age and Gender. *Biology (Basel)* 2023; 12(5).
75. Mathis BJ, Tanaka K, Hiramatsu Y. Metabolically Healthy Obesity: Are Interventions Useful? *Curr Obes Rep* 2023; 12(1):36–60. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13679-023-00494-4>.
76. Bell JA, Kivimaki M, Hamer M. Metabolically healthy obesity and risk of incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Obes Rev* 2014; 15(6):504–15.
77. Hinnouho G-M, Czernichow S, Dugravot A, Nabi H, Brunner EJ, Kivimaki M et al. Metabolically healthy obesity and the risk of cardiovascular disease and type 2 diabetes: the Whitehall II cohort study. *Eur Heart J* 2015; 36(9):551–9. Available from: URL: <https://academic.oup.com/eurheartj/article/36/9/551/507150>.
78. Wang B, Zhang M, Wang S, Wang C, Wang J, Li L et al. Dynamic status of metabolically healthy overweight/obesity and metabolically unhealthy and normal weight and the risk of type 2 diabetes mellitus: A cohort study of a rural adult Chinese population. *Obes Res Clin Pract* 2018; 12(1):61–71.
79. Kramer CK, Zinman B, Retnakaran R. Are metabolically healthy overweight and obesity benign conditions?: A systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2013; 159(11):758–69.

80. Eckel N, Meidtnr K, Kalle-Uhlmann T, Stefan N, Schulze MB. Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2016; 23(9):956–66. Available from: URL: <https://academic.oup.com/eurjpc/article/23/9/956/5927395>.
81. Caleyachetty R, Thomas GN, Toulis KA, Mohammed N, Gokhale KM, Balachandran K et al. Metabolically Healthy Obese and Incident Cardiovascular Disease Events Among 3.5 Million Men and Women. *Journal of the American College of Cardiology* 2017; 70(12):1429–37. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109717390502>.
82. Arnlöv J, Ingelsson E, Sundström J, Lind L. Impact of body mass index and the metabolic syndrome on the risk of cardiovascular disease and death in middle-aged men. *Circulation* 2010; 121(2):230–6.
83. Opio J, Croker E, Odongo GS, Attia J, Wynne K, McEvoy M. Metabolically healthy overweight/obesity are associated with increased risk of cardiovascular disease in adults, even in the absence of metabolic risk factors: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Obesity Reviews* 2020; 21(12):e13127. Available from: URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/obr.13127>.
84. Metabolic mediators of the effects of body-mass index, overweight, and obesity on coronary heart disease and stroke: a pooled analysis of 97 prospective ...; 2014. Available from: URL: https://openresearch-repository.anu.edu.au/bitstream/1885/38178/2/01_lu_metabolic_mediators_of_the_eff_2014.pdf.
85. Dhana K, Koolhaas CM, van Rossum EFC, Ikram MA, Hofman A, Kavousi M et al. Metabolically Healthy Obesity and the Risk of Cardiovascular Disease in the Elderly Population. *PLOS ONE* 2016; 11(4):e0154273. Available from: URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0154273>.
86. Fauchier G, Bisson A, Bodin A, Herbert J, Semaan C, Angoulvant D et al. Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: A nationwide cohort study. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2021; 23(11):2492–501. Available from: URL: <https://dom-pubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/dom.14492>.
87. Sun M, Fritz J, Häggström C, Bjørge T, Nagel G, Manjer J et al. Metabolically (un)healthy obesity and risk of obesity-related cancers: a pooled study. *J Natl Cancer Inst* 2023; 115(4):456–67.
88. Barry VW, Baruth M, Beets MW, Durstine JL, Liu J, Blair SN. Fitness vs. fatness on all-cause mortality: a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis* 2014; 56(4):382–90.
89. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107(3):391–7. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12551861/>.
90. Ridker PM, Wilson PWF, Grundy SM. Should C-reactive protein be added to metabolic syndrome and to assessment of global cardiovascular risk? *Circulation* 2004; 109(23):2818–25. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15197153/>.
91. Zhou Z, Macpherson J, Gray SR, Gill JMR, Welsh P, Celis-Morales C et al. Are people with metabolically healthy obesity really healthy? A prospective cohort study of 381,363 UK Biobank participants. *Diabetologia* 2021; 64(9):1963–72. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-021-05484-6>.
92. Mastropasqua R, D'Aloisio R, Costantini E, Porreca A, Ferro G, Libertini D et al. Serum microRNA Levels in Diabetes Mellitus. *Diagnostics* 2021; 11(2):284. Available from: URL: <https://www.mdpi.com/2075-4418/11/2/284>.
93. Santovito D, Toto L, Nardis V de, Marcantonio P, D'Aloisio R, Mastropasqua A et al. Plasma microRNA signature associated with retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Sci Rep* 2021; 11(1):4136. Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-83047-w>.
94. Koźniewski K, Wąsowski M, Jonas MI, Lisik W, Jonas M, Binda A et al. Epigenetic Regulation of Estrogen Receptor Genes' Expressions in Adipose Tissue in the Course of Obesity. *Int J Mol Sci* 2022; 23(11):5989. Available from: URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/11/5989>.
95. Swolin-Eide D, Forsander G, Pundziute Lyckå A, Novak D, Grillari J, Diendorfer AB et al. Circulating microRNAs in young individuals with long-duration type 1 diabetes in comparison with healthy controls. *Sci Rep* 2023; 13(1):11634. Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-38615-7>.
96. Wang X, Jin H, Jiang S, Xu Y. MicroRNA-495 inhibits the high glucose-induced inflammation, differentiation and extracellular matrix accumulation of cardiac fibroblasts through downregulation of NOD1: *BioMed Central*; 2018 [cited 2025 Jul 31]. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1186/s11658-018-0089-x>.
97. Purvis N, Kumari S, Chandrasekera D, Bellae Papannarao J, Gandhi S, van Hout I et al. Diabetes induces dysregulation of microRNAs associated with survival, proliferation and self-renewal in cardiac progenitor cells. *Diabetologia* 2021; 64(6):1422–35. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-021-05405-7>.
98. Qu B, Zhao Q, Ma Q, Yang T, Li X, Chen Y et al. Overexpression of miR-144-3p alleviates polycystic ovaries syndrome through targeting expression of HSP-70. *Gene Ther* 2022; 29(5):217–26.

99. Behboudi-Gandevani S, Amiri M, Bidhendi Yarandi R, Noroozadeh M, Farahmand M, Rostami Dovom M et al. The risk of metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Endocrinology* 2018; 88(2):169–84. Available from: URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cen.13477>.
100. Vega-Badillo J, Gutiérrez-Vidal R, Hernández-Pérez HA, Villamil-Ramírez H, León-Mimila P, Sánchez-Muñoz F et al. Hepatic miR-33a/miR-144 and their target gene ABCA1 are associated with steatohepatitis in morbidly obese subjects. *Liver Int* 2016; 36(9):1383–91.
101. Karolina DS, Armugam A, Tavintharan S, Wong MTK, Lim SC, Sum CF et al. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus. *PLOS ONE* 2011; 6(8):e22839. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3148231/>.
102. Liang Y-Z, Dong J, Zhang J, Wang S, He Y, Yan Y-X. Identification of Neuroendocrine Stress Response-Related Circulating MicroRNAs as Biomarkers for Type 2 Diabetes Mellitus and Insulin Resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 9:132.
103. Wang X, Sundquist J, Zöller B, Memon AA, Palmér K, Sundquist K et al. Determination of 14 circulating microRNAs in Swedes and Iraqis with and without diabetes mellitus type 2. *PLOS ONE* 2014; 9(1):e86792.
104. Chen B, Luo L, Wei X, Gong D, Jin L. Altered Plasma miR-144 as a Novel Biomarker for Coronary Artery Disease. *Ann Clin Lab Sci* 2018; 48(4):440–5.
105. Yang H, Xin X, Yu H, Bao Y, Jia P, Wu N et al. microRNA Expression Profiles in Myocardium of High-Fat Diet-Induced Obesity Rat. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2020; 13:1147–59.
106. Li J, Lu M, Huang H, Zhao T, Yu H, Zhou C et al. Effect of the Fatty Acid Intake on Cognitive Function Through Gut Microbiota and Circulating microRNAs Remodeling in Middle-Aged and Elderly Overweight and Obese Population. *Molecular Nutrition & Food Research* 2025; 69(11):e70027. Available from: URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mnfr.70027>.
107. Mo P, Tian C-W, Li Q, Teng M, Fang L, Xiong Y et al. Decreased plasma miR-140-3p is associated with coronary artery disease. *Heliyon* 2024; 10(5):e26960. Available from: URL: [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(24\)02991-8](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(24)02991-8).
108. Ntoumou E, Tzetis M, Braoudaki M, Lambrou G, Poulou M, Malizos K et al. Serum microRNA array analysis identifies miR-140-3p, miR-33b-3p and miR-671-3p as potential osteoarthritis biomarkers involved in metabolic processes. *Clin Epigenet* 2017; 9(1):127. Available from: URL: <https://clinicalepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-017-0428-1>.
109. Li H, Xu J-D, Fang X-H, Zhu J-N, Yang J, Pan R et al. Circular RNA circRNA_000203 aggravates cardiac hypertrophy via suppressing miR-26b-5p and miR-140-3p binding to Gata4. *Cardiovasc Res* 2020; 116(7):1323–34.
110. Wang D, Wang H, Liu C, Mu X, Cheng S. Hyperglycemia inhibition of endothelial miR-140-3p mediates angiogenic dysfunction in diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2019; 33(5):374–82. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1056872718309620>.
111. Gernapudi R, Wolfson B, Zhang Y, Yao Y, Yang P, Asahara H et al. MicroRNA 140 Promotes Expression of Long Noncoding RNA NEAT1 in Adipogenesis. *Molecular and Cellular Biology* 2016; 36(1):30–8.
112. Zhao C, Zhao C, Zhao H. Defective insulin receptor signaling in patients with gestational diabetes is related to dysregulated miR-140 which can be improved by naringenin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2020; 128:105824. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272520301412>.
113. Jiménez-Rojo N, Riezman H. On the road to unraveling the molecular functions of ether lipids. *FEBS Letters* 2019; 593(17):2378–89. Available from: URL: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/1873-3468.13465>.
114. Dean JM, Lodhi IJ. Structural and functional roles of ether lipids. *Protein & Cell* 2018; 9(2):196–206. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5818364/>.
115. Graessler J, Schwudke D, Schwarz PEH, Herzog R, Shevchenko A, Bornstein SR. Top-down lipidomics reveals ether lipid deficiency in blood plasma of hypertensive patients. *PLOS ONE* 2009; 4(7):e6261. Available from: URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0006261>.
116. Pietiläinen KH, Sysi-Aho M, Rissanen A, Seppänen-Laakso T, Yki-Järvinen H, Kaprio J et al. Acquired obesity is associated with changes in the serum lipidomic profile independent of genetic effects--a monozygotic twin study. *PLOS ONE* 2007; 2(2):e218. Available from: URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0000218>.
117. Surowiec I, Noordam R, Bennett K, Beekman M, Slagboom PE, Lundstedt T et al. Metabolomic and lipidomic assessment of the metabolic syndrome in Dutch middle-aged individuals reveals novel biological signatures

separating health and disease. *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society* 2019; 15(2):23. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30830468/>.

118. Schmitz G, Ruebsaamen K. Metabolism and atherogenic disease association of lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 2010; 208(1):10–8. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915009004286>.

119. Heimerl S, Fischer M, Baessler A, Liebisch G, Siguener A, Wallner S et al. Alterations of plasma lysophosphatidylcholine species in obesity and weight loss. *PLOS ONE* 2014; 9(10):e111348. Available from: URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0111348>.

120. Bellot PENR, Moia MN, Reis BZ, Pedrosa LFC, Tasic L, Barbosa F et al. Are Phosphatidylcholine and Lysophosphatidylcholine Body Levels Potentially Reliable Biomarkers in Obesity? A Review of Human Studies. *Molecular Nutrition & Food Research* 2023; 67(7):e2200568. Available from: URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mnfr.202200568>.

121. Hannun YA, Obeid LM. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19(3):175–91. Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/nrm.2017.107>.

122. Mir FA, Ullah E, Mall R, Iskandarani A, Samra TA, Cyprian F et al. Dysregulated Metabolic Pathways in Subjects with Obesity and Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci* 2022; 23(17). Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36077214/>.

123. Suhre K, Meisinger C, Döring A, Altmaier E, Belcredi P, Gieger C et al. Metabolic footprint of diabetes: a multiplatform metabolomics study in an epidemiological setting. *PLOS ONE* 2010; 5(11):e13953. Available from: URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0013953>.

124. Liang X, Tang X, Xi B, Qu P, Ren Y, Hao G. Abdominal obesity-related lipid metabolites may mediate the association between obesity and glucose dysregulation: Nature Publishing Group; 2022 [cited 2025 Jul 12]. Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/s41390-022-02074-z#Tab4>.

125. Khan SR, Manialawy Y, Obersterescu A, Cox BJ, Gunderson EP, Wheeler MB. Diminished Sphingolipid Metabolism, a Hallmark of Future Type 2 Diabetes Pathogenesis, Is Linked to Pancreatic β Cell Dysfunction. *iScience* 2020; 23(10):101566. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004220307586>.

126. Rauschert S, Uhl O, Koletzko B, Kirchberg F, Mori TA, Huang R-C et al. Lipidomics Reveals Associations of Phospholipids With Obesity and Insulin Resistance in Young Adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101(3):871–9. Available from: URL: <https://academic.oup.com/jcem/article/101/3/871/2804774?login=true>.

127. Maceyka M, Spiegel S. Sphingolipid metabolites in inflammatory disease. *Nature* 2014; 510(7503):58–67. Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/nature13475>.

128. Im S-S, Park HY, Shon JC, Chung I-S, Cho HC, Liu K-H et al. Plasma sphingomyelins increase in pre-diabetic Korean men with abdominal obesity. *PLOS ONE* 2019; 14(3):e0213285. Available from: URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0213285>.

129. Yeboah J, McNamara C, Jiang X-C, Tabas I, Herrington DM, Burke GL et al. Association of plasma sphingomyelin levels and incident coronary heart disease events in an adult population: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30(3):628–33.

130. Nelson JC, Jiang X-C, Tabas I, Tall A, Shea S. Plasma sphingomyelin and subclinical atherosclerosis: findings from the multi-ethnic study of atherosclerosis. *American journal of epidemiology* 2006; 163(10):903–12. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16611667/>.

131. Schlitt A, Blankenberg S, Yan D, Gizeycki H von, Buerke M, Werdan K et al. Further evaluation of plasma sphingomyelin levels as a risk factor for coronary artery disease. *Nutrition & Metabolism* 2006; 3:5. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1360085/>.

132. Berkowitz L, Salazar C, Ryff CD, Coe CL, Rigotti A. Serum sphingolipid profiling as a novel biomarker for metabolic syndrome characterization. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 2022; 9:1092331. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9791223/>.

133. Chew WS, Torta F, Ji S, Choi H, Begum H, Sim X et al. Large-scale lipidomics identifies associations between plasma sphingolipids and T2DM incidence. *JCI Insight* 2019; 5(13). Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6629294/>.

134. Düsing P, Heinrich NN, Al-Kassou B, Gutbrod K, Dörmann P, Nickenig G et al. Analysis of circulating ceramides and hexosylceramides in patients with coronary artery disease and type II diabetes mellitus: *BioMed Central*; 2023 [cited 2025 Jul 12]. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12872-023-03454-x>.

135. Huynh K, Barlow CK, Jayawardana KS, Weir JM, Mellett NA, Cinel M et al. High-Throughput Plasma Lipidomics: Detailed Mapping of the Associations with Cardiometabolic Risk Factors. *Cell Chemical Biology* 2019; 26(1):71-84.e4. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2451945618303416>.
136. Gagliostro V, Casas J, Caretti A, Abad JL, Tagliavacca L, Ghidoni R et al. Dihydroceramide delays cell cycle G1/S transition via activation of ER stress and induction of autophagy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2012; 44(12):2135–43. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272512003032>.
137. Zigmond E, Tayer-Shifman O, Lalazar G, Ben Ya'acov A, Weksler-Zangen S, Shasha D et al. β -glycosphingolipids ameliorated non-alcoholic steatohepatitis in the *Psammomys obesus* model. *J Inflamm Res* 2014; 7:151–8. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25336983/>.
138. Zigmond E, Zangen SW, Pappo O, Sklair-Levy M, Lalazar G, Zolotaryova L et al. Beta-glycosphingolipids improve glucose intolerance and hepatic steatosis of the Cohen diabetic rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296(1):E72-8.
139. Margalit M, Shalev Z, Pappo O, Sklair-Levy M, Alper R, Gomori M et al. Glucocerebroside ameliorates the metabolic syndrome in OB/OB mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319(1):105–10. Available from: URL: <https://jpet.aspetjournals.org/content/319/1/105.full>.
140. Alshehry ZH, Mundra PA, Barlow CK, Mellett NA, Wong G, McConville MJ et al. Plasma Lipidomic Profiles Improve on Traditional Risk Factors for the Prediction of Cardiovascular Events in Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation* 2016; 134(21):1637–50.
141. Senn HJ, Orth M, Fitzke E, Wieland H, Gerok W. Gangliosides in normal human serum. Concentration, pattern and transport by lipoproteins. *Eur J Biochem* 1989; 181(3):657–62.
142. Garner B, Priestman DA, Stocker R, Harvey DJ, Butters TD, Platt FM. Increased glycosphingolipid levels in serum and aortae of apolipoprotein E gene knockout mice. *J Lipid Res* 2002; 43(2):205–14. Available from: URL: [https://www.jlr.org/article/S0022-2275\(20\)30162-0/fulltext](https://www.jlr.org/article/S0022-2275(20)30162-0/fulltext).
143. Chatterjee S, Balram A, Li W. Convergence: Lactosylceramide-Centric Signaling Pathways Induce Inflammation, Oxidative Stress, and Other Phenotypic Outcomes. *Int J Mol Sci* 2021; 22(4).
144. Berkowitz L, Cabrera-Reyes F, Salazar C, Ryff CD, Coe C, Rigotti A. Sphingolipid Profiling: A Promising Tool for Stratifying the Metabolic Syndrome-Associated Risk. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021; 8:785124. Available from: URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2021.785124/full>.
145. Serna MF, Suarez-Ortegón MF, Jiménez-Charris E, Echeverri I, Cala MP, Mosquera M. Lipidomic signatures in Colombian adults with metabolic syndrome: Springer; 2024 [cited 2025 Jul 11]. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40200-024-01423-5#MOESM1>.
146. Capel F, Bongard V, Malpuech-Brugère C, Karoly E, Michelotti GA, Rigaudière JP et al. Metabolomics reveals plausible interactive effects between dairy product consumption and metabolic syndrome in humans. *Clinical Nutrition* 2020; 39(5):1497–509. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261561419302687>.
147. Mozaffarian D. Saturated fatty acids and type 2 diabetes: more evidence to re-invent dietary guidelines. *The lancet. Diabetes & endocrinology* 2014; 2(10):770–2.
148. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Progress in Lipid Research* 2008; 47(5):348–80. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163782708000283>.
149. Furtado JD, Beqari J, Campos H. Comparison of the Utility of Total Plasma Fatty Acids Versus those in Cholesteryl Ester, Phospholipid, and Triglyceride as Biomarkers of Fatty Acid Intake. *Nutrients* 2019; 11(9):2081. Available from: URL: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/9/2081>.
150. Nikkari T, Luukkainen P, Pietinen P, Puska P. Fatty acid composition of serum lipid fractions in relation to gender and quality of dietary fat. *Annals of medicine* 1995; 27(4):491–8. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8519511/>.
151. Fernandez ML, West KL. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. *The Journal of Nutrition* 2005; 135(9):2075–8. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022316622103810>.
152. Micha R, Mozaffarian D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids* 2010; 45(10):893–905. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11745-010-3393-4>.
153. Imamura F, Micha R, Wu JH, Oliveira Otto MC de, Otite FO, Abioye AI et al. Abstract 003: Effects of Saturated, Polyunsaturated, and Monounsaturated Fat on Blood Glucose, Insulin Sensitivity, and 2 Cell Function: A Systematic Review and Meta-analysis of 84 Randomized Controlled Feeding Trials. *Circulation* 2013; 127(suppl_12).

154. Mazidi M, Pennathur S, Afshinnia F. Link of dietary patterns with metabolic syndrome: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey. *Nutr & Diabetes* 2017; 7(3):e255. Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/nutd201711>.
155. Hosseinpour-Niazi S, Mirmiran P, Fallah-ghohroudi A, Azizi F. Combined effect of unsaturated fatty acids and saturated fatty acids on the metabolic syndrome: Tehran lipid and glucose study. *J Health Popul Nutr* 2015; 33(1):5. Available from: URL: <https://jhpn.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41043-015-0015-z>.
156. Rivelles AA, Maffettone A, Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Berglund L et al. Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. *Atherosclerosis* 2003; 167(1):149–58. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915002004240>.
157. Yu Y, Cai Z, Zheng J, Chen J, Zhang X, Huang X-F et al. Serum levels of polyunsaturated fatty acids are low in Chinese men with metabolic syndrome, whereas serum levels of saturated fatty acids, zinc, and magnesium are high. *Nutr Res* 2012; 32(2):71–7. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531711002685>.
158. Kotronen A, Velagapudi VR, Yetukuri L, Westerbacka J, Bergholm R, Ekroos K et al. Serum saturated fatty acids containing triacylglycerols are better markers of insulin resistance than total serum triacylglycerol concentrations. *Diabetologia* 2009; 52(4):684–90. Available from: URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-009-1282-2>.
159. Manco M, Mingrone G, Greco AV, Capristo E, Gniuli D, Gaetano A de et al. Insulin resistance directly correlates with increased saturated fatty acids in skeletal muscle triglycerides. *Metabolism* 2000; 49(2):220–4. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049500913775>.
160. Schwab U, Seppänen-Laakso T, Yetukuri L, Agren J, Kolehmainen M, Laaksonen DE et al. Triacylglycerol fatty acid composition in diet-induced weight loss in subjects with abnormal glucose metabolism--the GENOBIN study. *PLOS ONE* 2008; 3(7):e2630. Available from: URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002630>.
161. Aristizabal JC, Barona J, Gonzalez-Zapata LI, Deossa GC, Estrada A. Fatty Acid Content of Plasma Triglycerides May Contribute to the Heterogeneity in the Relationship Between Abdominal Obesity and the Metabolic Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord* 2016; 14(6):311–7.
162. Vienberg S, Geiger J, Madsen S, Dalgaard LT. MicroRNAs in metabolism. *Acta Physiologica (Oxford, England)* 2017; 219(2):346–61. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5297868/>.
163. Ortega FJ, Mercader JM, Moreno-Navarrete JM, Rovira O, Guerra E, Esteve E et al. Profiling of circulating microRNAs reveals common microRNAs linked to type 2 diabetes that change with insulin sensitization. *Diabetes care* 2014; 37(5):1375–83. Available from: URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24478399/>.
164. Solayman MH, Langaee TY, Gong Y, Shahin MH, Turner ST, Chapman AB et al. Effect of plasma MicroRNA on antihypertensive response to beta blockers in the Pharmacogenomic Evaluation of Antihypertensive Responses (PEAR) studies. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* 2019; 131:93–8. Available from: URL: <https://mayoclinic.pure.elsevier.com/en/publications/effect-of-plasma-microrna-on-antihypertensive-response-to-beta-bl>.
165. Sharma S, Eghbali M. Influence of sex differences on microRNA gene regulation in disease. *Biol Sex Differ* 2014; 5(1):3. Available from: URL: <https://bsd.biomedcentral.com/articles/10.1186/2042-6410-5-3>.
166. Cui J, Zhou B, Ross SA, Zemleni J. Nutrition, microRNAs, and Human Health. *Adv Nutr* 2017; 8(1):105–12. Available from: URL: <https://academic.oup.com/advances/article/8/1/105/4566589>.

8. Danksagung

Mein Dank gilt Prof. Dr. med. Marcus Fischer (Klinik für Kardiologie, Angiologie, Pneumologie und internistische Intensivmedizin, Krankenhaus St. Lukas Kehlheim; Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II, Kardiologie, Universitätsklinikum Regensburg) sowie Prof Dr. med. Andrea Bäßler (Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II, Kardiologie, Universitätsklinikum Regensburg) für die Möglichkeit, dieses Thema im Rahmen meiner Dissertation bearbeiten zu dürfen.

Ich möchte mich bei Prof. Dr. rer. nat. Gerhard Liebisch und Dr. rer. nat. Markus Höring (beide Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum Regensburg) für die Messung sowie Präprozessierung der Lipidomics-Daten bedanken.

Ebenso möchte ich mich herzlich bei Birgit Wilhelm (Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum Regensburg) für die exzellente technische Unterstützung bei der Durchführung der Experimente bedanken.

Ein besonderer Dank gilt Dr. med. Stefan Wallner (ehemals Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum Regensburg), ohne dessen exzellente Betreuung die Planung, Durchführung und Erstellung dieser Doktorarbeit nicht möglich gewesen wäre.

Und zuletzt möchte ich mich bei meinem Partner Simon Streif, meiner Familie und meinen Freunden für ihre ausdauernde Unterstützung und Geduld während der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.