

Aus dem Institut für Experimentelle Dermatologie
der Universität zu Lübeck
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Enno
Schmidt

Einfluss unterschiedlicher Diäten auf den Cholesterinstoffwechsel und das Körpergewicht in Mäusen

Inauguraldissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der Sektion Medizin-

vorgelegt von
Heiko Körber-Ahrens
aus Northeim
Lübeck 2020

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ralf Ludwig
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Bernd Schultes
Tag der mündlichen Prüfung: 25.3.2020
Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 25.3.2020
-Promotionskommission der Sektion Medizin-

1 Einleitung.....	5
1.1 Adipositas.....	5
1.2 Gesamtcholesterin.....	8
1.3 High density lipoprotein	9
1.4 Low/very low density lipoprotein	10
1.5 Metabolisches Syndrom	11
1.6 Fragestellung des gesamten Projektes.....	14
1.7 Fragestellung dieser Arbeit.....	15
2 Material und Methoden	17
2.1 Liste der Laborgeräte, Tierhaltungsutensilien, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien.....	17
2.2 Versuchstiere	19
2.2.1 Haltungsbedingungen.....	20
2.2.2 Fütterung.....	21
2.2.3 Tötung	21
2.2.4 Probenentnahme	22
2.3 Serenherstellung	22
2.4 Cholesterinmessung.....	22
2.4.1 Gesamtcholesterin.....	23
2.4.2 High density lipoprotein	23
2.4.3 Low/ very low density lipoprotein	23
2.4.4 Standards und Leerproben	24
2.4.5 Weitere Probenverarbeitung.....	24
2.4.6 Arbeitsreagenz	24
2.4.7 Fertigstellung der Proben und Messung	24
2.5 Gewichtsmessung	25
2.5.1 NCMB-Mäuse.....	25
2.5.2 NZM-2410J-Mäuse.....	25
2.6 Auswertung/Statistik	25
3 Ergebnisse.....	26
3.1 Gewichtsmessung	26
3.1.1 NCMB-Mäuse G18	26
3.1.2 NCMB-Mäuse G19	28
3.1.3 NCMB-Mäuse G20	29

3.1.4 NCMB-Mäuse G18-20	31
3.1.5 NZM2410/J-Mäuse	33
3.2 Cholesterinmessung	35
3.2.1 NCMB-Mäuse G18	35
3.2.2 NCMB-Mäuse G19	38
3.2.3 NCMB-Mäuse G20	41
3.2.4 NCMB-Mäuse gesamt	44
3.2.5 NZM2410/J-Mäuse	47
4 Diskussion	51
4.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse	51
4.2 Diskussion der Methoden	52
4.2.1 Versuchstiere.....	52
4.2.2 Cholesterinbestimmung	53
4.2.3 Gewichtsmessung	55
4.3 Diskussion der Ergebnisse	56
4.3.1 Zusammengefasste Diskussion aller Gewichtsmessungen.....	56
4.3.2 Cholesterinmessung NCMB-Mäuse G18	58
4.3.3 Cholesterinmessung NCMB-Mäuse G19	58
4.3.4 Cholesterinmessung NCMB-Mäuse G20	59
4.3.5 Cholesterinmessung NCMB-Mäuse gesamt	59
4.3.6 Gesamtdiskussion Cholesterinmessung NCMB-Mäuse.....	59
4.3.7 Cholesterinmessung NZM2410/J-Mäuse	63
5 Zusammenfassung.....	65
6 Literaturverzeichnis	66
7 Anhänge.....	81
7.1 Votum der Ethikkommission	81
7.2 Abbildungsverzeichnis	81
7.3 Tabellenverzeichnis.....	82
7.4 Futter	83
7.4.1 Standardfutter.....	83
7.4.2 Western-Diät-Futter	85
8 Danksagungen	86
9 Lebenslauf	87
10 Publikation.....	88

Abkürzungsverzeichnis

AACE	- American Association of Clinical Endocrinologists
BMI	- Body mass index
BPD-DS	- Biliopankreatische Diversion mit und ohne Duodenal Switch
Cal	- Kalorienreduzierte Gruppe
CO ₂	- Kohlenstoffdioxid
Con	- Kontroll-Diät-Gruppe
CRP	- C-reaktives Protein
CTT	- Cholesterol Treatment Trialists
Cyclo	- Cyclodextrin
DAG	- Deutsche Adipositas Gesellschaft
DE	- Dextrose Equivalent
DGAV	- Deutsche Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie
EAS	- European Atherosclerosis Society
EGIR	- European Group for the Study of Insulin Resistance
ESC	- European Society of Cardiology
FTO	- Fat mass and obesity associated
G	- Generation
HDL	- High density lipoprotein
HMG-CoA Reduktase	- 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
IDF	- International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention
IDL	- Intermediate density lipoprotein
IgG	- Immunglobulin G
IL	- Interleukin
KHK	- Koronare Herzkrankheit
LDL	- Low density lipoprotein
Lp(a)	- Lipoprotein a

Abkürzungsverzeichnis

LRC CPPT	- The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial
NAD	- Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADH	- Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid Hydrogen
NCEP	- National Cholesterol Education Program
NCEP:ATPIII	- National Cholesterol Education Program – Third Adult Treatment Panel
P	- Elterngeneration
PAI	- Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
TNF	- Tumornekrosefaktor
VLDL	- Very low density lipoprotein
Wes	- Western-Diät-Gruppe
WHO	- World Health Organisation

1 Einleitung

1.1 Adipositas

Übergewicht, beziehungsweise Adipositas, ist definiert als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts (Deutsche Adipositas Gesellschaft, 2016). Eine wichtige Berechnungsgrundlage für die Gewichtsklassifikation ist der Körpermassenindex, der so genannte Body Mass Index (BMI). Der BMI ist der Quotient aus Gewicht und Körpergröße zum Quadrat (kg/m^2) (WHO, 2000). Die unterschiedlichen Grenzwerte und die darüber definierten Begrifflichkeiten sind aus Tabelle Nr. 1 ersichtlich.

Normalgewicht	18,5 - 24,9 kg/m^2
Übergewicht	25,0 - 29,9 kg/m^2
Adipositas Grad I	30,0 - 34,9 kg/m^2
Adipositas Grad II	35,0 - 39,9 kg/m^2
Adipositas Grad III	> 40,0 kg/m^2

Tabelle Nr. 1 nach WHO 2000: Grade der Übergewichtigkeit in Abhängigkeit des BMI

Die Adipositas stellt ein bedeutendes sozioökonomisches Problem dar, dessen Prävalenz in den letzten Jahren stark zugenommen hat. Weltweit waren 2013 circa 37,45% der Menschen von einem BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ (Ng et al., 2014) und 2014 circa 12,85% von einem BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$ betroffen (NCD Risk Factor Collaboration, 2016). Hervorgerufen wird die Erkrankung primär durch eine über dem Kalorienverbrauch eines Individuums liegende Zufuhr von Kalorien (Nguyen und El-Serag, 2010). Dies bedingt, dass durch erhöhte Nahrungsaufnahme oder verminderten Kalorienverbrauch eine Imbalance entsteht, die das Auftreten einer Adipositas begünstigt. Die Gründe dafür sind vielfältig: Bereits Neugeborene einer übergewichtigen Mutter haben ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung von Übergewicht (Tun et al., 2018). Mit einer höheren Verfügbarkeit und steigender Energiedichte der Nahrung (Kant und

Graubard, 2006), hoher Preisgebung von Obst und Gemüse sowie einer hohen Dichte von Fastfood-Restaurants am Wohnort (Holsten, 2009, Mason et al., 2018) steigt die Prävalenz der Adipositas. Weitere auslösende Faktoren sind zunehmender Besitz von Autos und hohe Zeitdauer täglichen Fernsehkonsums (Prentice und Jebb, 1995) und andere, wie zum Beispiel die mangelhafte Ausgestaltung von Wohnräumen mit Möglichkeiten zur körperlichen Aktivität (Creatore et al., 2016) wie öffentliche Parks (Kipke et al., 2007) oder Fitnessstudios (Mason et al., 2018). Auch das soziale Umfeld hat einen starken Einfluss. Freunde, Geschwister oder Ehepartner adipöser Menschen haben ein erhöhtes Risiko selbst eine Adipositas zu entwickeln (Christakis und Fowler, 2007). Einzelne Nahrungsbestandteile haben hierbei einen unterschiedlichen Einfluss auf die Ausprägung. In erster Linie sind es hochkalorische Lebensmittel mit hohem Zucker- oder Fettanteil, die arm an Ballaststoffen sind, welche eine Adipositas begünstigen. Doch auch genetische Prädispositionen sind beschrieben. Im Jahr 2007 wurden im Fto-Gen Einzelnukleotid Polymorphismen entdeckt (Frayling et al., 2007), von denen über 40 bisher bekannte Variationen existieren, die mit erhöhtem BMI und Adipositas assoziiert sind (Loos und Yeo, 2014). Die bisher bekannten Genvarianten erklären jedoch nur einen kleinen Anteil der Fälle von Adipositas (Hofker und Wijmenga, 2009). Ferner kann Adipositas durch Stoffwechselstörungen wie Hyperkortisolismus oder Hypothyreose hervorgerufen werden, aber auch bei vielen seltenen genetischen Erkrankungen ist sie obligat (Kaur et al., 2017). Darüber hinaus spielt das von den Adipozyten sezernierte und in Regionen des Hypothalamus als Sättigungshormon wirkende Leptin eine Rolle bei der Entwicklung von Übergewicht. Menschen mit Adipositas weisen erhöhte Leptinspiegel, aber auch eine erhöhte Leptinresistenz auf (Al-Hamodi et al., 2014, Danne und Kordonouri, 2016). Zu einem gewissen Anteil sind Medikamente Ursache von Fettleibigkeit beim Menschen (beispielsweise Neuroleptika, Glukokortikoide, Insulin, β -Blocker, einige Kontrazeptiva, einige Antidiabetika oder Antidepressiva) (Klein et al., 2016). Verschiedene Erkrankungen werden durch die Adipositas begünstigt, wie zum Beispiel Diabetes mellitus Typ II, arterielle

Hypertonie, Arteriosklerose, (Lyll et al., 2017) Fettstoffwechselstörungen, Schlafapnoe-Syndrom, die aufgrund der höheren Gewichtsbelastung den Stützapparat betreffenden Pathologien sowie eine Vielzahl von Tumorerkrankungen wie zum Beispiel Ösophagus-, Magen-, Colon- oder Mammakarzinom, um nur einige zu nennen (Lauby-Secretan et al., 2016). Zur Abschätzung des Risikos des Auftretens kardialer Ereignisse stellt die Waist-to-hip-Ratio also das Verhältnis von Bauch- zu Hüftumfang eine genauere Methode als der BMI dar (Noble, 2001). Das abdominelle Fettgewebe kann durch Messung des Taillenumfangs gut erfasst werden (Pouliot et al., 1994). Es sezerniert unter anderem Stoffe wie CRP, Interleukin-6, Tumornekrosefaktor- α , Resistin und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1. In ihrer Gesamtheit besitzen diese ein atherogenes und diabetogenes Potential, rufen eine Insulinresistenz hervor und versetzen den Körper grundsätzlich in einen prä-inflammatorischen Zustand, weshalb eine Vermehrung des abdominellen Fettgewebes somit weitreichende negative Einflüsse auf die Gesundheit des betroffenen Individuums darstellt (Després, 2006). Adipositas ist ein Bestandteil des Komplexes von Merkmalen, die zur Diagnose eines metabolischen Syndroms führen, worauf in Kapitel 1.5 näher eingegangen wird. Die Behandlung erfolgt nach neuestem Stand multimodal und je nach Ursache. Lifestyle-Änderung im Sinne von Ernährungs-, Bewegungs-, und Verhaltenstherapie sind die Grundpfeiler der Basistherapie (Clark, 2015). Eine pharmakologische Therapie sollte erst nach Ausschöpfung der Basistherapie oder adjuvant in Betracht gezogen werden (DAG, 2014). Darüber hinaus kommen nach frustranter Basistherapie unter bestimmten Voraussetzungen, wie zum Beispiel dem Vorliegen eines BMI $> 40\text{kg/m}^2$ oder BMI zwischen 35 und 40kg/m^2 und Vorliegen mindestens einer adipositas-assoziierten Erkrankung, chirurgische Maßnahmen in Betracht (DGAV, 2018). Als mögliche Verfahren sind hier die Schlauchmagenbildung, der proximale Roux-en-Y Magenbypass, der Omega-Loop-Magenbypass und die biliopankreatische Diversion mit und ohne Duodenal Switch (BPD-DS) die erwähnenswertesten. Die höchste Evidenz liegt für den proximalen Roux-en-Y Magenbypass und für die

Schlauchmagenbildung vor (DGAV, 2018).

1.2 Gesamtcholesterin

Unter dem Begriff Gesamtcholesterin werden die Fraktionen der Chylomikronen, VLDL, LDL, IDL, HDL und Lipoprotein A subsummiert. Sie stellen die Transportform des Cholesterins im Serum dar, welches aufgrund seiner lipophilen und hydrophoben Eigenschaften im Kern der jeweiligen Transportform umgeben von einer Hülle von Phospholipiden und Apolipoproteinen in unterschiedlicher Konzentration transportiert wird. Der größte Teil des Cholesterins ist als Bestandteil von Zellmembranen zur Synthese von Steroidhormonen und Gallensäuren nicht als freie Form im Serum verfügbar. Erhöhte Konzentrationen von Gesamtcholesterin sind ein Risikofaktor für das Entstehen von Arteriosklerose und seiner Manifestationen, im Einzelnen koronare Herzerkrankung (KHK), periphere arterielle Verschlusskrankheit und Schlaganfall (Lehnert, 2014). Die Lebenszeitprävalenz einer KHK in Deutschland für 40- bis 79-Jährige beträgt für Männer 12,3% und für Frauen 6,4% (Gößwald et al., 2013). In Deutschland haben 56,6 % der Männer und 60,5 % der Frauen im Alter von 18 bis 79 Jahren ein erhöhtes Serum-Gesamtcholesterin über 190 mg/dl (Scheidt-Nave et al., 2013). Erkrankungen, die mit einem erhöhten Level an Gesamtcholesterin einhergehen, sind beispielsweise Hypothyreose, Nephrose, systemischer Lupus Erythematodes oder die primär biliäre Zirrhose (AACE 2017 Guidelines). Die Kenntnis der Eigenschaften der Subfraktionen HDL und vor allem LDL reduzierte die Gewichtung der Bestimmung des Gesamtcholesterins. Zur Abschätzung des Vorhandenseins einer Dyslipidämie findet die Bestimmung aber auch heute noch in aktuellen Leitlinien Anwendung (AACE 2017 Guidelines). Eine klinisch relevante, weil atherogene Subgruppe des Gesamtcholesterins, stellen die Non-High-Density-Lipoprotein-Cholesterine, im Einzelnen: VLDL, VLDL remnants, IDL, LDL und Lp(a) dar. Erhöhte Werte gehen wie beim LDL mit erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse einher,

wurden aber aufgrund der unterschiedlichen Studienlage bisher nur als zweites Therapieziel nach Einstellung der LDL-Werte etabliert (National Institute for Health and Care Excellence, 2014, Di Angelantonio et al., 2012, Boekholdt et al., 2012, Robinson et al., 2012). Ebenso zur Risikostratifizierung dient die HDL/LDL-Ratio, die in Patienten mit stabiler Angina pectoris eine erhöhte Plaque-Vulnerabilität vorhersagen kann (Jeong Hun Kim et al., 2012) und einen Risikofaktor für das Erleiden eines plötzlichen Herztodes darstellt (Kunutsor et al., 2016).

1.3 High density lipoprotein

Der Anteil der HDL-Fraktion, gemessen am Gesamtcholesterin, beträgt typischerweise 20 - 30% (NCEP 2002). Die Konzentration von HDL im Serum hat eine inverse Korrelation mit der Inzidenz der koronaren Herzerkrankung. (Gordon et al., 1977; März et al., 2017). Zeitgleiche Untersuchungen ergaben, dass Patienten mit KHK niedrigere HDL-Level aufwiesen, als gesunde (Castelli et al., 1977). Dementsprechend werden niedrige HDL-Level auch heute noch als ein Hauptfaktor für die Entstehung der koronaren Herzkrankheit gesehen und sollten eine Konzentration von 40 mg/dl im Serum nicht unterschreiten (AACE Guidelines 2017). Diabetiker und Individuen mit hohen Triglyceridserumkonzentrationen haben eher niedrige HDL-Konzentrationen, im Gegensatz zu Frauen, die oft überdurchschnittlich hohe HDL-Werte im Serum aufweisen (ESC/EAS Guidelines 2016). Durch Lebensstiländerung, wie Gewichtsreduktion, Einstellung des Rauchens und vermehrte physische Aktivität, kann die HDL-Konzentration erhöht werden. Medikamentös kann dieser Effekt beispielsweise durch Nikotinsäure und Fibrate erzielt werden (American Diabetes Association, 2004). Neuere Untersuchungen belegen jedoch auch, dass hohe HDL-Level keinen zusätzlichen atheroprotektiven Effekt besitzen (Di Angelantonio et al., 2009). Insgesamt erscheint die protektive Wirkung gegen kardiovaskuläre Erkrankungen, wenn auch nicht revidiert, aber zumindest im Gegensatz zu früheren Studien abgeschwächt (Holmes et al.,

2015). Gestützt wird diese Beobachtung durch Untersuchungen zur Cholesterin-Efflux-Kapazität, einem Maß der Potenz der HDL-Moleküle Cholesterin aus Makrophagen zu entfernen, die eine inverse Korrelation zur Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen zeigte. Hiernach scheint nicht die Konzentration, sondern die Funktionalität der HDL-Moleküle der ausschlaggebende Faktor zu sein (Rohatgi et al., 2014). Ein positiver Einfluss hierauf konnte durch eine mediterrane Diät detektiert werden (Hernaiz et al., 2017). Zusätzlich haben HDL-Moleküle anti-inflammatorische Effekte (Barter et al., 2004) und inhibieren die Oxidation von LDL-Molekülen sowie die Expression von Adhäsionsmolekülen, Endothelzellen und inflammatorischen Cytokinen (Gotto Jr., 2011).

1.4 Low/very low density lipoprotein

Erhöhtes LDL-Cholesterin ist seit langer Zeit als Risikofaktor für die Entstehung von Arteriosklerose und seiner Manifestationen bekannt (LRC-CPPT, 1984; Castelli, 1988). Die Hauptmanifestationen, koronare Herzkrankheit und Schlaganfall, stellen seit Jahren die Haupttodesursachen der Weltbevölkerung dar (WHO 2017). Pathophysiologisch kommt es durch feine Endothelverletzungen zum Eindringen von LDL in die Intima betroffener Arterien, wo LDL durch freie Radikale oxidiert wird. Das oxidierte LDL stimuliert indirekt die Migration von Monozyten, die dann als Makrophagen das oxidierte LDL phagozitieren und zu Schaumzellen differenzieren. Unter anderem durch die Schaumzellen kommt es zur Aktivierung von T-Zellen, die für ein weiteres Größenwachstum der Plaques sorgen und ihrerseits durch Chemotaxis weitere Makrophagen in der Intima aktivieren, wodurch die Progredienz des so entstandenen Plaques weiter unterhalten wird (Hao und Friedman, 2014). Der Anteil der LDL-Fraktion am Gesamtcholesterin beträgt typischerweise 60 - 70% (NCEP 2002). Je nach Risiko für das Entwickeln eines vaskulären Ereignisses im Sinne eines Schlaganfalls oder Herzinfarkts oder sonstiger Manifestation einer KHK existieren unterschiedliche anzustrebende LDL-Level mit Werten von

<70 mg/dl (absolute Hochrisikopatienten) bis zu Werten von < 115 mg/dl (niedriges Risiko) zur Prävention (2016 ESC/EAS Guidelines). Zur Bestimmung der LDL-Fraktion wird in der klinischen Praxis die Friedewaldformel verwendet, die bei erhöhten Triglyceridwerten jedoch falsche Werte ergeben kann (AACE Guidelines 2017). Pharmazeutisch sind nach neuesten Leitlinien immer noch die HMG-CoA Reduktase-Hemmer (Statine) die Medikamentengruppe der Wahl der Erstlinientherapie. Statine senken signifikant das Auftreten vaskulärer Ereignisse wie Myokardinfarkt, Herztod oder Schlaganfall (CTT, 1995).

1.5 Metabolisches Syndrom

Zur Stellung der Diagnose eines metabolischen Syndroms existieren verschiedene Definitionen (Alberti und Zimmet, 1998; WHO 1999; Balkau und Charles, 1999; National Cholesterol Education Program, 2002; Alberti et al., 2009). Es müssen aus einem Komplex, bestehend aus zentraler Adipositas, erhöhten Triglyzeriden, erniedrigtem HDL-Cholesterin, erhöhtem Blutdruck, erhöhter Nüchternblutglukosewerte oder Mikroalbuminurie, je nach Definition eine bestimmte Anzahl der Kriterien erfüllt sein. Nicht nur deren zu erfüllende Anzahl, auch die Kriterien selbst sind je nach Fachgesellschaft zum Teil unterschiedlich definiert. Aufschluss darüber gibt Tabelle 2.

WHO 1998	EGIR 1999	NCEP:ATPIII 2002	IDF et al. 2009
Insulinresistenz* + zwei der folgenden	Hyperinsulinämie*2 + zwei der folgenden	Drei beliebige der unten folgenden	Drei beliebige der unten folgenden
Tailen-Hüft-Ratio > 0,9 bei Männern, > 0,85 bei Frauen oder BMI > 30 kg m⁻²	Tailenumfang ≥ 94 cm bei Männern, ≥ 80 cm bei Frauen	Tailenumfang > 102 cm bei Männern, > 88 cm bei Frauen	Tailenumfang*3 ≥ 94 cm bei Männern, ≥ 80 cm bei Frauen
Plasmatriglyzeride ≥ 150 mg/dl (1.7 mmol/l) oder HDL Cholesterin < 35 mg/dl (0.9 mmol/l) bei Männern oder < 39 mg/dl (1.0 mmol/l) bei Frauen	Plasmatriglyzeride ≥ 177mg/dl oder HDL Cholesterin < 39mg/dl	Plasmatriglyzeride ≥ 150 mg/dl HDL Cholesterin < 40 mg/dl bei Männern oder < 50 mg/dl bei Frauen	Plasmatriglyzeride ≥ 150 mg/dl (1.7 mmol/l) oder unter Medikation HDL Cholesterin < 40 mg/dl (1.0 mmol/l) bei Männern < 50 mg/dl (1.3 mmol/l) bei Frauen oder unter Medikation
Arterielle Hypertonie (≥ 140/90 mm Hg) und/ oder unter Medikation	Arterielle Hypertonie (≥ 140/90 mm Hg) und/oder unter Medikation	Arterielle Hypertonie ≥ 135/80 mm Hg	Arterielle Hypertonie systolisch ≥ 130 und/oder diastolisch ≥ 85 mm Hg oder unter Medikation
Urin Albumin Exkretion ≥ 20 µg/min oder Albumin:Kreatinin Ratio ≥ 30 mg/g		Nüchtern glukose ≥ 110 mg/dl	Nüchtern glukose ≥ 100 mg/dl oder unter Medikation

Tabelle 2: Definitionen des metabolischen Syndroms WHO= World Health Organisation; Kriterien nach (Alberti und Zimmet, 1998; WHO 1999), **EGIR**= European Group for the Study of Insulin Resistance, Kriterien nach (Balkau und Charles, 1999), **NCEP:ATPIII**= National Cholesterol Education Program – Third Adult Treatment Panel, Kriterien nach (National Cholesterol Education Program, 2002), **IDF**= International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, gemeinsame Kriterien mit: National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society and International Association for the Study of Obesity nach (Alberti et al., 2009). *: Insulinresistenz liegt hier vor bei: Diabetes mellitus Typ II, abnormen Nüchtern glukosewerten, gestörter Glukosetoleranz oder anderer Beweise für Insulinresistenz. *2: Nüchternplasmainsulinwerte > 75te Perzentile der Bevölkerung *3: Es existieren ethnosppezifische Grenzwerte; die hier gelisteten Werte sind für Europäer.

Daher existieren je nach verwendeten Kriterien unterschiedliche Zahlen zur Prävalenz des metabolischen Syndroms (Ford, 2005; Moebus et al., 2007), die im Verlauf der letzten Jahre signifikant angestiegen sind (Mozumdar und Liguori, 2011). Für Deutschland liegt sie schätzungsweise bei 23,8 % wobei Männer mit 26,6 % etwas häufiger als Frauen mit 21,0 % betroffen waren (Neuhauser und Ellert, 2005). Zahlen aus den USA belegen ethnische Unterschiede. Bei der männlichen Bevölkerung waren weiße Einwohner mit 37,2 % und bei der weiblichen Bevölkerung Frauen hispanischer Herkunft mit 40,6 % am stärksten betroffen (Ervin, 2009). Risikofaktoren zur Entstehung eines metabolischen Syndroms sind ein zunehmender BMI (Ervin, 2009), zunehmendes Alter (Schipf et al., 2010), Prädisposition zur Speicherung abdominellen Fetts (Pouliot et al., 1994), kindliche Adipositas (Vanhala et al., 1998), körperliche Inaktivität und unbegrenzter Zugang zu hochkalorischen Nahrungsmitteln mit niedriger Nährstoffdichte (Swinburn et al., 1999; French et al., 2001). Die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Komponenten stellt Abbildung Nr. 1 dar.

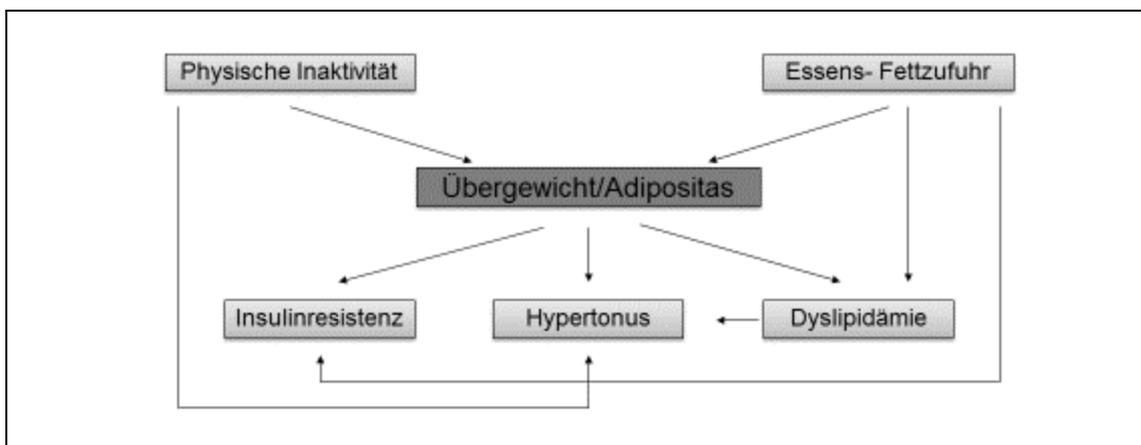


Abbildung Nr. 1: Zusammenspiel der Faktoren des metabolischen Syndroms (modifiziert nach O'Neill und O'Driscoll, 2015)

Die Pathophysiologie soll hier orientiert an der IDF et al. Definition von 2009 in kurzer Form dargestellt werden. Durch vermehrtes abdominelles Fettgewebe kommt es zu einem Anstieg freier Fettsäuren, die wiederum eine

Insulinresistenz begünstigen können (Kaplan, 1989). Das metabolische Syndrom erhöht das Risiko für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen und Diabetes mellitus Typ 2 (Galassi et al., 2006; Dekker et al., 2005) und erhöht bei Komorbidität die Mortalität kardiovaskulärer Erkrankungen (Malik et al., 2004). Medikamentöse Ansätze sind zum Beispiel Glitazone, die eine Umschichtung des Körperfetts von abdominalen zu subkutanen Depots mit gleichzeitiger positiver Wirkung auf die Glukosetoleranz und das Lipidprofil bewirken (Kelly et al., 2001), Orlistat, welches eine verstärkte Gewichtsabnahme, verminderte Gewichtszunahme, sowie eine LDL-Cholesterin- und Insulinlevel-Reduktion bewirken kann (Davidson et al., 1999) sowie seit 2015 mit Mysimba® ein Naltrexon/Bupropion-Kombinationspräparat, das durch zentrale Effekte die Nahrungsmittelaufnahme vermindert und so zu einer Gewichtsabnahme führen kann (Greenway et al., 2010). Konservativ lassen sich durch Gewichtsreduktion der Blutdruck und die Hyperinsulinämie vermindern (Sjöström et al., 1999). Physische Aktivität wirkt stark präventiv auf die Ausprägung des metabolischen Syndroms (Laaksonen et al., 2002).

1.6 Fragestellung des gesamten Projektes

Ziel des Gesamtprojektes war es, das Zusammenspiel zwischen Genen und Diät auf komplexe Phänotypen in der Maus zu untersuchen. Hierfür wurde eine Mausauszuchtlinie generiert und in den Generationen 18 - 20 drei verschiedenen Diäten (Normaldiät ad libitum, Kalorien-reduzierte Diät und Western-Diät) exponiert. Insgesamt wurden über 50 Phänotypen erfasst. Hierunter waren physiologische Phänotypen, wie z. B. Fellfarbe, Differentialblutbild, IgG Serumkonzentration. Darüber hinaus wurden pathologische Phänotypen erfasst. Zu diesen zählten Prävalenz und Titer anti-nukleärer Antikörper, Nephritis und nicht alkoholische Fettleber. Hierfür wurden über 600 Mäuse eingeschlossen, phäno- und genotypisiert.

1.7 Fragestellung dieser Arbeit

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Ernährungsstile auf den Cholesterinstoffwechsel und das Körpergewicht am Beispiel von Mäusen eines Auszuchtstammes. Die Untersuchungen erfolgten an drei aufeinander folgenden Generationen der Mauslinie. Hierfür wurden die Versuchstiere in drei sich in der Art der Fütterung unterscheidende Gruppen eingeteilt und ihre Cholesterinwerte (Gesamtcholesterin, LDL und HDL) sowie ihr Gewicht festgestellt. Die Kontrollgruppe erhielt Standardhaltungsfutter ad libitum, die kalorienreduzierte Gruppe rationiertes Standardhaltungsfutter (60 % der Kontrollgruppe) und die Western-Diät-Gruppe Futter mit erhöhtem Kalorien-, Fett- und Kohlenhydratanteil ad libitum. Die Arbeit soll Aufschluss darüber geben, inwiefern Cholesterinhomöostase und Gewicht durch Ernährungsstil beeinflussbar sind und welchen Einfluss die genetische Variabilität der einzelnen Mausgenerationen hierauf besitzt. Im Rahmen eines weiteren Projektes in einem Inzuchtstamm sollte primär die Frage geklärt werden, welchen Einfluss unterschiedliche Ernährung auf den Cholesterinstoffwechsel hat, und ob die Cyclodextringabe die Serumkonzentration von Gesamtcholesterin, LDL und HDL moduliert. Der Projektablauf ist in den beiden folgenden Abbildungen illustriert.

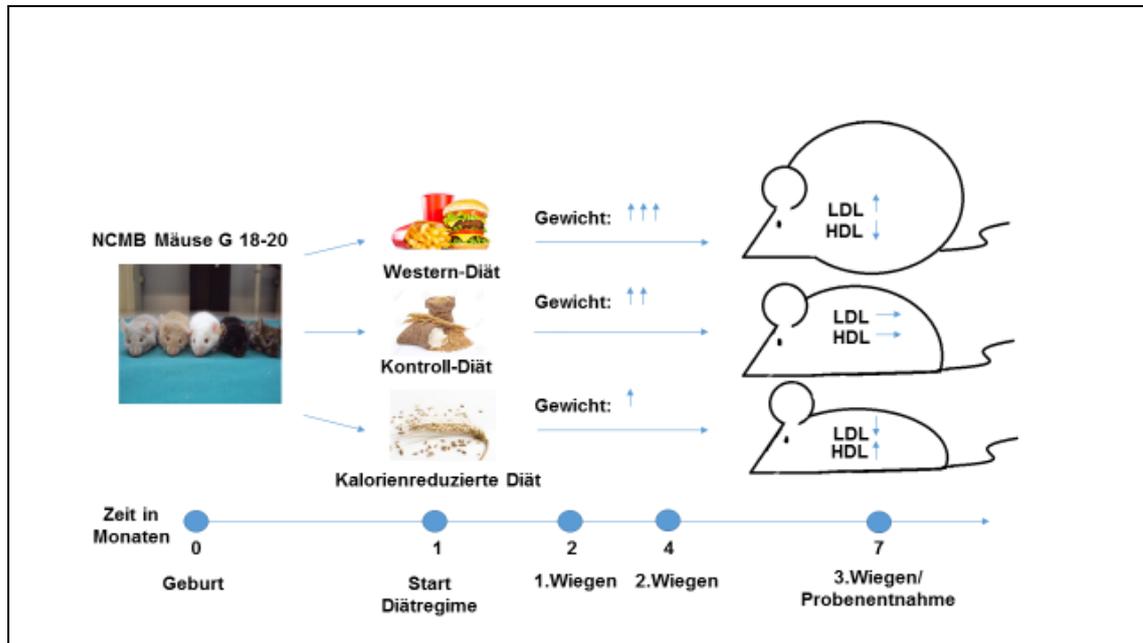


Abbildung Nr.2: Projektverlauf und Hypothese. NCMB-Mäuse aus drei aufeinanderfolgenden Generationen (18.-20. Generation) wurden in je drei unterschiedliche Diätregime eingeteilt. Es wurde angenommen, dass Western-Diät die höchste Gewichtszunahme, Kontroll-Diät die zweithöchste Gewichtszunahme und kalorienreduzierte Diät die niedrigste Gewichtszunahme im zeitlichen Verlauf bei den Phänotypen zeigt. Darüber hinaus wurden die höchsten LDL-Serumkonzentrationen bei Western-Diät Mäusen gefolgt von Kontroll-Diät-Mäusen und kalorienreduziert gefütterten Mäusen postuliert. Wir nahmen darüber hinaus an, dass die höchsten HDL-Serumkonzentrationen bei kalorienreduziert gefütterten Mäusen gefolgt von Kontroll-Diät-Mäusen vor Western-Diät-Mäusen zu finden seien.

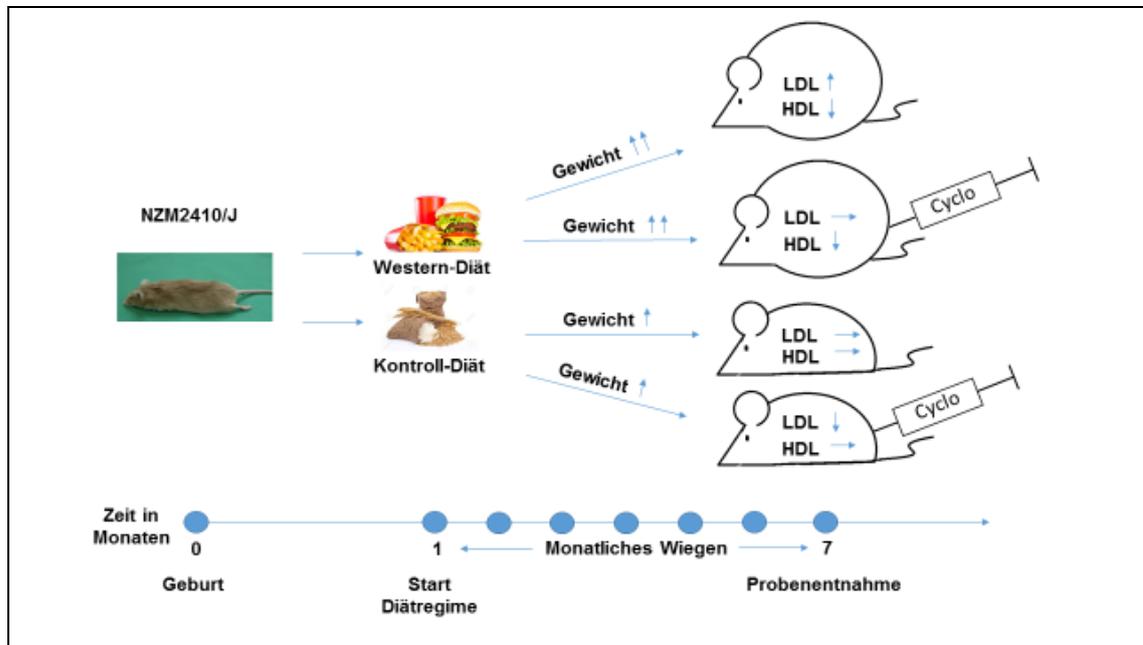


Abbildung Nr. 3: Projektverlauf und Hypothese NZM2410/J. Mäuse eines Inzuchtstammes (NZM2410/J) Stammes wurden zwei unterschiedlichen Diätregimen zugeführt. Wir gingen von einer stärkeren Gewichtszunahme der Western-Diät Mäuse im Vergleich zu den Kontroll-Diät-Mäusen aus. Bezüglich der HDL-Serumkonzentrationen erwarteten wir höhere Werte bei den Kontroll-Diät-Mäusen im Vergleich zur Western-Diät Gruppe. Wir nahmen höhere zu messende LDL-Serumkonzentrationen bei den Mäusen der Western-Diät-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Diät-Gruppe an. Durch Cyclodextringabe erwarteten wir eine Abnahme der LDL-Serumkonzentration im Vergleich zu Tieren, denen Cyclodextrin nicht appliziert wurde.

2 Material und Methoden

2.1 Liste der Laborgeräte, Tierhaltungsmaterialien, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien

Alufolie	- A. Hartenstein Laborbedarf, Würzburg Bulle, Schweiz
Cholesterin-Kit	- Enzychrom HDL and LDL/VLDL Assay Kit (EHDL-100), BioAssay Systems, Hayward, USA
Einmal-Kanülen	- BD Microlance 3 Becton Dickinson GmbH, Heidelberg

Futter	- siehe Anhang
Gefrierkombination (+4, -20°C)	- Liebherr International AG,
Haltungskäfige	- Typ 1145T, Tecniplast S.p.A., Buguggiate, Varese, Italien
Microplate	- Greiner Bio 96 Well Non-bindin Microplate, Round (U) Botom, Clear Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich
Multikanalpipette	- Eppendorf Research plus Multichannel Pipette, Eppendorf AG, Hamburg
Parafilm	- M Laboratory Film Pechiney Plastic Packaging, Menasha, Wisconsin, USA
Petrischale 94x16mm	- SHL Laborbedarf GmbH & Co. KG Neckarwestheim
Photometer	- Tecan Infinite M200 PRO Multi-Detection Microplate Reader, Tecan Trading AG, Männedorf, Schweiz
Pipetten	- Eppendorf Research 2100, Eppendorf Reference 2 series, Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenspitzen	- Sarstedt AG & Co., Nuembrecht
Pipettierhilfe, pipetus®-akku	- Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG, Eberstadt
Reaktionsgefäße	- Eppendorf Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg
Rüttelplatte Duomax 10300	- Heidolph Instruments, Nürnberg
Serologische Pipetten	- Sarstedt AG & Co. Nuembrecht
Spritzen	- 2 ml (BD Discardit II) Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
Styroporkasten	- Apotheke UKSH, Campus Lübeck
Vortex Genie 2	- Scientific Industries, Bohemia, New York, USA

Waage	- Sartorius Analysewaage LC620P, Sartorius AG, Göttingen
Waage	- Kern Präzisionswaage EMB, Kern & Sohn GmbH, Balingen
Zentrifuge	- Heraeus Biofuge Fresco - Kendro Laboratory Products GmbH, Langenselbold

2.2 Versuchstiere

Untersucht wurden die Generationen 18 - 20 eines Auszuchtstammes, gezüchtet aus den Inzuchtstämmen MRL/MpJ, NZM2410/J, BXD2/TyJ und Cast/EiJ (Herkunft der Inzuchtstämme: Jackson Labor), im Weiteren NCMB-Mäuse genannt. Darüber hinaus wurden zusätzlich NZM2410/J-Mäuse verwendet. Alle Tiere sind genetisch für die Ausbildung diverser Autoimmunerkrankungen prädisponiert. MRL/MpJ-Mäuse entwickeln eine autoimmune Pankreatitis sowie Sialoadenitis, Sjögren-Syndrom und einen murinen Lupus (<https://www.jax.org/strain/000486>). NZM2410/J Mäuse erkranken früh an einer Lupus-Nephritis (<https://www.jax.org/strain/002676>), BXD2/TyJ-Mäuse zeigen spontane Arthritis, Glomerulonephritis, Proteinurie, Splenomegalie und produzieren Autoantikörper (<https://www.jax.org/strain/000075>), wohingegen die Cast/EiJ-Mäuse Abkömmlinge eines Wildstammes darstellen (<https://www.jax.org/strain/000928>). Mit steigender Generationszahl erhöht sich die individuelle genetische Vielfalt der Tiere durch weitere Auszucht. Dies veranschaulicht Abbildung Nr. 4.

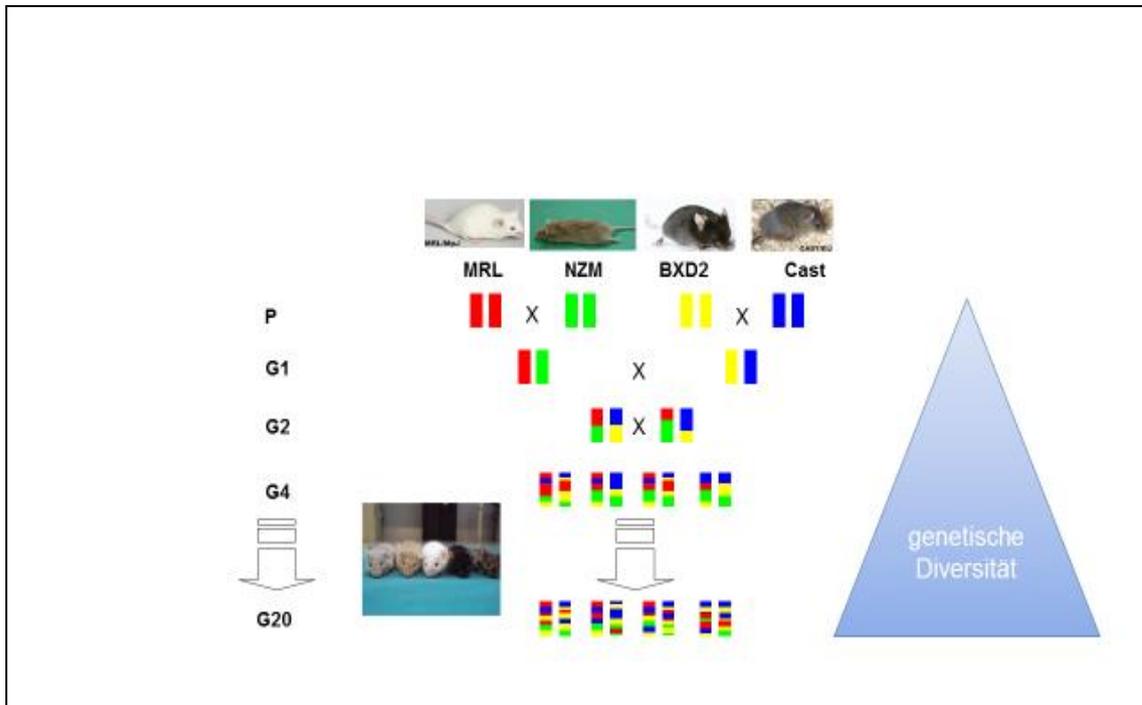


Abbildung Nr. 4: Generierung des Auszuchtstamms. Vier Inzuchtstämme, wie oben genannt, wurden miteinander gekreuzt und über 20 Generationen gezüchtet. Dabei wurden in jeder Generation die Geschwistertiere miteinander verpaart. Die Generationen 18-20 des Auszuchtstamms wurden für die Versuche in der vorliegenden Arbeit verwendet. Durch das Kreuzen sollte eine von Generation zu Generation zunehmende genetische Diversität erlangt werden.

Für alle Tierversuche lagen Genehmigungen der entsprechenden Behörde unter dem Aktenzeichen V 312-72241.122-5 (27-2/13) vor.

2.2.1 Haltungsbedingungen

Die Mäuse wurden im Alter von 3 - 4 Wochen nach dem Entwöhnen nach Geschlechtern getrennt und lebten in Käfigen innerhalb eines offenen Regalsystems in Gruppen zu maximal 5 Mäusen pro Käfig. Sie unterlagen einem Hell-Dunkelrhythmus von 12 Stunden (5 - 17 Uhr hell, 17 - 5 Uhr dunkel) bei einer Raumtemperatur von 23° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 48 %.

2.2.2 Fütterung

Das Diätregime setzte 3 - 4 Wochen nach Geburt der Versuchstiere ein. Die Kontrollgruppe der Mäuse erhielt Standardhaltungsfutter mit einem Fettgehalt von 4,1 % größtenteils aus ungesättigten Fettsäuren, einem Proteingehalt von 19,2 % und einem Kohlenhydratanteil von 41,0 % (87,5 % Poly- und 12,5 % Disaccharide) bei einem Energiegehalt von 3188,49 kcal/kg ad libitum. Eine genaue Liste der Zusammensetzung befindet sich im Anhang (Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG, Nr.: 132003 Altr. 1324 rats/mice maintenance diet). Die Tiere der kalorienreduzierten Gruppe erhielten täglich pro Männchen 3,5 g und pro Weibchen 2,7 g desselben Futters der Kontrollgruppe innerhalb eines Zeitfensters von 11 - 14 Uhr. Somit erhielten die Tiere der kalorienreduzierten Gruppe 60 % des Futteranteils der Kontrollgruppe. Dies entspricht einer Kalorienzufuhr von 11,16 kcal/d bzw. 8,61 kcal/d. Die Mäuse der Western-Diät-Gruppe erhielten Futter mit einem Fettgehalt von 21 %, hauptsächlich aus gesättigten Fettsäuren, einem Proteingehalt von 16,6 % und einem Kohlenhydratanteil von 49,7 % (30 % Saccharose, 10 % Stärke, 9,69 % Maltodextrin 10 DE) bei einem Energiegehalt von 4541,11 kcal/kg. Der Western-Diät waren darüber hinaus 0,15 % Cholesterin zugesetzt. Eine genaue Liste der Zusammensetzung befindet sich im Anhang (ssniff Spezialdiäten GmbH, Nr.: S0587-E020 Atherogen (Fat +Cholesterol)). Alle drei Gruppen erhielten zusätzlich Leitungswasser zur freien Verfügung.

2.2.3 Tötung

Die Mäuse wurden mittels CO₂ Inhalation im Alter von 26 - 29 Wochen nach 12 stündigem Fasten getötet.

2.2.4 Probenentnahme

Das Blut der Mäuse wurde direkt nach ihrer Tötung durch Herzpunktion mit einer 1 ml Spritze und einer 30G-Kanüle gewonnen und in 1,5 ml Eppendorf-Gefäße gefüllt. Bis zur Serenherstellung wurden die Gefäße auf Eis gelagert.

2.3 Serenherstellung

Zur Serengewinnung wurden die Blutproben ohne Zusätze bei 13.000 U/pm für 10 min zentrifugiert (Zentrifuge: Biofuge fresco, Hersteller: Heraeus) und der Überstand in 1,5 ml Eppendorf Gefäße pipettiert. Bis zur Messung der Cholesterinwerte wurden die Seren bei -20° C gelagert.

2.4 Cholesterinmessung

Insgesamt wurden die Cholesterinwerte von 866 Mäusen bestimmt, davon 816 NCMB- und 50 NZM2410/J-Mäuse. Gesamtcholesterin-, HDL- und LDL-Cholesterinkonzentrationen der verwendeten Mausseren wurden mittels Enzychrom HDL and LDL/VLDL Assay Kit (EHDL-100) der Firma BioAssay Systems, Hayward, USA bestimmt. Hierzu wurde das vom Hersteller empfohlene Protokoll verwendet ([https://www.bioassaysys.com/HDL-LDL-Assay-Kit-\(EHDL-100\).html](https://www.bioassaysys.com/HDL-LDL-Assay-Kit-(EHDL-100).html)). Grundlage der Messung ist die Verwendung einer im Kit enthaltenen Cholesterindehydrogenase sowie NAD-Lösung die bei Anwesenheit von Cholesterin zu einer Reduktionsreaktion von NAD zu NADH führt. Das so entstandene NADH ist direkt proportional zur Cholesterinkonzentration und kann dann bei einer Wellenlänge von 340 nm photometrisch bestimmt werden.

2.4.1 Gesamtcholesterin

Für die Gesamtcholesterinmessung wurden je 54 µl Pufferlösung und 6 µl Serum in ein 1,5 ml Eppendorf-Gefäß gegeben und mittels Pipettieren gemischt.

2.4.2 High density lipoprotein

Um die HDL-Konzentration zu messen, wurden je 10 µl Serum und 10 µl Präzipitationsreagenz in ein 1,5 ml Eppendorf-Gefäß pipettiert. Nach kurzem Vortexen wurden die Proben in eine Zentrifuge überführt und für 5 Minuten bei 10.000 U/pm zentrifugiert. Durch das Zentrifugieren bildeten die Präzipitate so ein Pellet mit einem Überstand. Anschließend wurden je 12 µl des Überstands und 48 µl Pufferlösung für die LDL-Konzentrationsmessung in je ein 1,5 ml Eppendorf Gefäß gegeben und durch Pipettieren gemixt. Der Rest des Überstandes wurde verworfen und das im Gefäß verbliebene Pellet durch wiederholtes pipettieren mit je 20 µl phosphatgepufferter Salzlösung aufgelöst. Von dieser Mixtur wurden nun 12 µl mit 48 µl Pufferlösung in einem neuen 1,5 ml Eppendorf-Gefäß als Basis für die HDL-Konzentrationsmessung zusammengeführt.

2.4.3 Low/ very low density lipoprotein

Als Grundlage für die LDL-Konzentrationsmessung diente der Überstand aus der HDL-Konzentrationsmessung mit Pufferlösung, wie bereits in Kapitel 2.3.2 beschrieben.

2.4.4 Standards und Leerproben

Pro Messungsserie wurden zwei Standards wie folgt angelegt: Je 6 μl Cholesterin mit einer Konzentration von 300 mg/dl wurden mit 54 μl Pufferlösung in ein 1,5 ml Eppendorf-Gefäß gegeben. In zwei weitere 1,5 ml Eppendorf Gefäße wurden je 60 μl Pufferlösung als Leerprobe überführt.

2.4.5 Weitere Probenverarbeitung

Die vorbereiteten Lösungen für das Gesamtcholesterin, HDL, LDL und die Standards wurden nochmals durch Pipettieren durchmischt und danach jeweils 50 μl von ihnen sowie je 50 μl der Leerproben auf eine nicht-bindende transparente Mikroplatte aufgetragen. Diese wurde für die Zeit der anschließenden Vorbereitung des Arbeitsreagenz mit einer Plastikfolie abgeklebt.

2.4.6 Arbeitsreagenz

Als Arbeitsreagenz wurden pro Reaktionsgefäß je 50 μl Pufferlösung, 18 μl Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Lösung und 1 μl Cholesterinesterase-Enzym-Mix angesetzt.

2.4.7 Fertigstellung der Proben und Messung

Anschließend wurde jedem Reaktionsgefäß mit Hilfe einer Multikanalpipette je 60 μl des Arbeitsreagenz' zugefügt. Daraufhin wurde die Mikroplatte wieder abgeklebt und zur Inkubation bei Raumtemperatur für 30 Minuten auf eine Rüttelplatte gegeben. Im Folgenden wurde die optische Dichte mittels Photometer bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt und die Cholesterinwerte errechnet.

2.5 Gewichtsmessung

2.5.1 NCMB-Mäuse

Das Gewicht der Mäuse wurde im Alter von 2 und 4 Monaten sowie unmittelbar nach ihrer Tötung bestimmt. Das Wiegen erfolgte jeweils nach einer Phase 12-stündiger Nahrungskarenz. Insgesamt wurden die Gewichte von 810 Tieren ermittelt. Die Werte wurden kaufmännisch auf die erste Nachkommastelle gerundet. Das Wiegen erfolgte unter Mithilfe von Hiroshi Koga, M.D. Ph.D, Phillip Kouki und Dr. med. Artem Vorobyev.

2.5.2 NZM-2410J-Mäuse

Die Gewichtsmessung wurde von Dr. med. Artem Vorobyev durchgeführt. Die Daten wurden mir zur Auswertung zur Verfügung gestellt.

2.6 Auswertung/Statistik

Die statistische Auswertung der Gewichtsdaten erfolgte mittels des Statistikprogramms SigmaPlot. Zur Berechnung der Normalverteilung wurde der Shapiro-Wilk-Test verwendet. In den meisten Fällen ergab sich keine Normalverteilung. In diesem Fall wurde der Kruskal-Wallis-Test zur weiteren statistischen Auswertung verwendet und danach zur paarweisen p-Wertbestimmung nach Dunn's Methode verfahren. War eine Normalverteilung anzunehmen, schloss sich der Brown-Forsythe-Test an. Verliefe dieser negativ, so wurde mit vormals beschriebenen Schritten weiter verfahren. War auch der Brown-Forsythe-Test positiv, wurde die paarweise p-Wertermittlung nach der Holm-Sidak-Methode durchgeführt. Alle statistischen Tests sind zweiseitig bei einem alpha-Level von 0,05. Zur graphischen Darstellung der so erhobenen

Werte sowie zur Erstellung der Übersichtstabelle (Tabelle Nr.3) wurde Microsoft Excel verwendet.

Für die Umrechnung der photometrisch ermittelten Cholesterinwerte wurde eine Microsoft Excel-Tabelle angefertigt, die als Berechnungshilfe diente. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels der Statistiksoftware SigmaPlot. Zur Errechnung der Verteilung der Daten wurde der Shapiro-Wilk-Test angewandt. Es lag bei Analyse der Daten jeweils keine Normalverteilung vor. Dementsprechend wurde der Kruskal-Wallis-Test zur weiteren Analyse verwendet und für den paarweisen Vergleich Dunn's Methode verwendet und die p-Werte dann mittels Mann-Whitney-Rangsummentest für die einzelnen Paare ermittelt.

3 Ergebnisse

3.1 Gewichtsmessung

3.1.1 NCMB-Mäuse G18

Die Gewichtsmessung für diese Generation ergab eine Gewichtszunahme der Mäuse aller drei Diätregime im zeitlichen Verlauf die erste und dritte Gewichtsmessung betrachtet innerhalb einer Gruppe ($p < 0,001$). Western-Diät-Mäuse und Kontroll-Diät-Mäuse nahmen vom ersten bis zweiten ($p < 0,001$) Zeitpunkt, nicht jedoch vom zweiten bis dritten Zeitpunkt an Gewicht zu ($p = 0,058$ und $p = 0,122$). Sowohl vom Zeitpunkt der ersten bis zur zweiten ($p < 0,001$), als auch von der zweiten bis zur dritten Messung nahmen nur die Mäuse mit kalorienreduzierter Diät an Gewicht zu ($p = 0,035$). Zum ersten und zweiten Zeitpunkt der Messung zeigten die Mäuse der Western-Diät und die der Kontrollgruppe jeweils keinen signifikanten Unterschied im Vergleich miteinander ($p = 0,386$ und $p = 0,131$), waren aber schwerer als die Tiere der kalorienreduzierten Gruppe ($p < 0,001$). Zum dritten Messzeitpunkt waren die Western-Diät-Mäuse schwerer als die Kontroll-Diät-Mäuse ($p = 0,019$), diese wiederum schwerer als die Mäuse mit kalorienreduzierter Diät ($p < 0,001$). Für

alle anderen Vergleiche zwischen den unterschiedlichen Diätregimen ergab sich ein p-Wert von $p < 0,001$. Die Gewichtswerte im zeitlichen Verlauf sind aus Tabelle Nr. 3 und ihre graphische Darstellung aus Abbildung Nr. 5 ersichtlich.

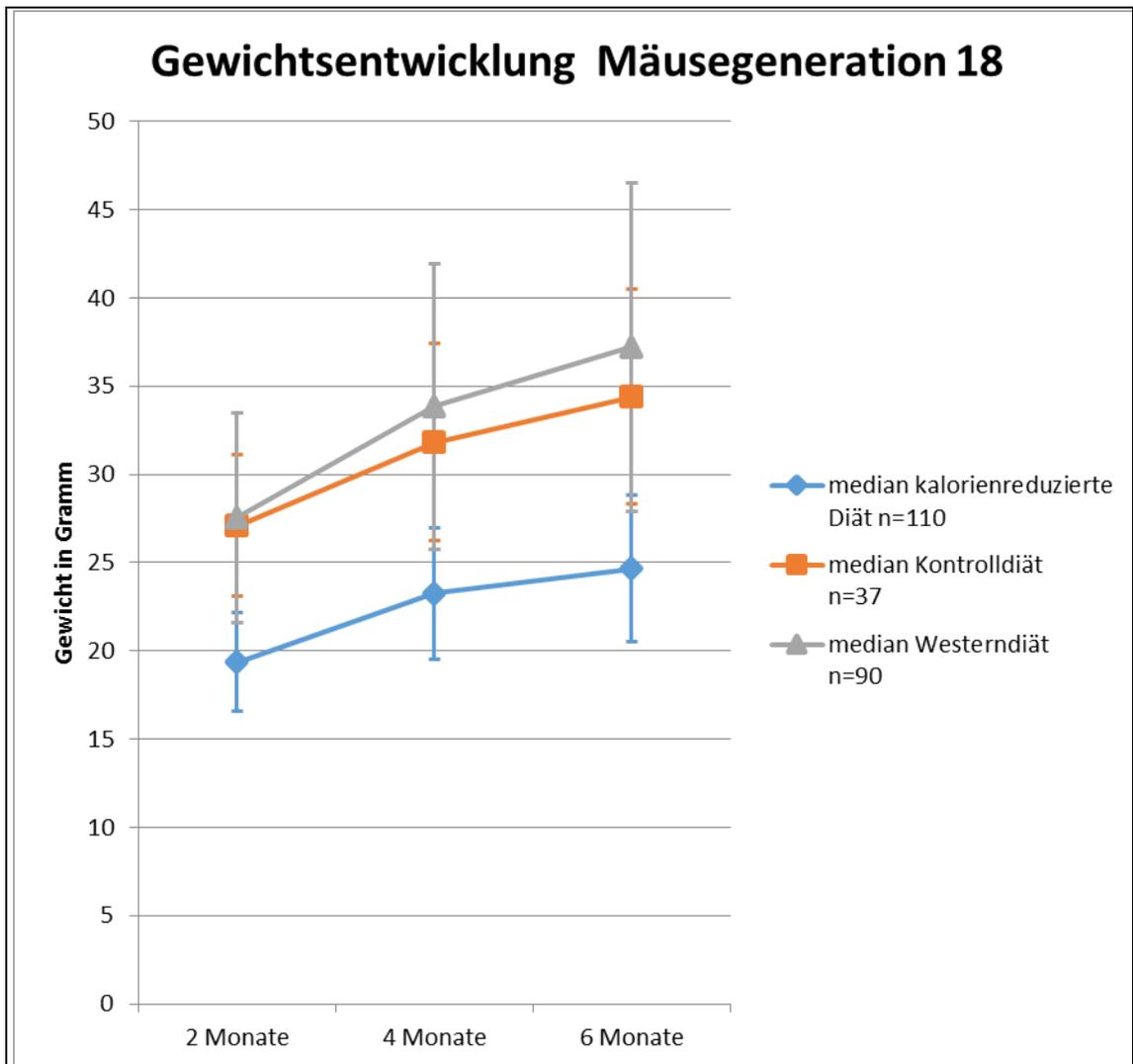


Abbildung Nr. 5: Gewichtsentwicklung Mäusegeneration 18 zeigt die Ergebnisse der Körpergewichtsmessung der untersuchten Mäuse der Generation 18 in Form von Medianen im zeitlichen Verlauf und Vergleich miteinander. Auf der y-Achse ist das Körpergewicht in Gramm, auf der x-Achse die Messzeitpunkte in Monaten angegeben. Graue Dreiecke repräsentieren die Mediane der Western-Diät-Gruppe, orangene Quadrate die Mediane der Kontroll-Diät-Gruppe und blaue Rauten die Mediane der Kalorienreduzierten-Gruppe. Die Fehlerbalken in den dazugehörigen Farben repräsentieren die jeweilige Standardabweichung der gemessenen Mediane der einzelnen Gruppen zu den einzelnen Zeitpunkten. N ist gleich die Anzahl der Tiere, deren Körpergewicht gemessen wurde. Tiere, die vor dem dritten Messzeitpunkt verendeten, wurden aus allen Messungen ausgeschlossen. Diesem Muster entsprechen alle in Kapitel 3.1 nachfolgenden Abbildungen zur Gewichtsmessung, jedoch bezogen auf die aus den Abbildungen hervorgehenden Generationen.

3.1.2 NCMB-Mäuse G19

Die Tiere der Kontroll-Diät-Gruppe zeigten eine Gewichtszunahme über die komplette Dauer des Untersuchungszeitraums, welche am stärksten im Alterszeitraum von zwei bis vier Monaten ausgeprägt war ($p < 0,001$ zu $p = 0,021$). Die Tiere mit kalorienreduzierter und Westerndiät nahmen nur im Vergleich von erstem zu zweitem und erstem zu drittem Messzeitpunkt an Körpergewicht zu ($p < 0,001$), nicht jedoch vom zweiten zum dritten Messzeitpunkt ($p = 1$ und $p = 0,144$). Zu jeder Zeit waren die Gewichte der Westerndiätgruppe am höchsten, gefolgt von der Kontrolldiätgruppe und diese wiederum vor der Gruppe mit kalorienreduziertem Futter. Alle Vergleiche der unterschiedlichen Diätgruppen zueinander ergaben einen p-Wert von jeweils $< 0,001$. Siehe Tabelle Nr. 3 und Abbildung Nr. 6.

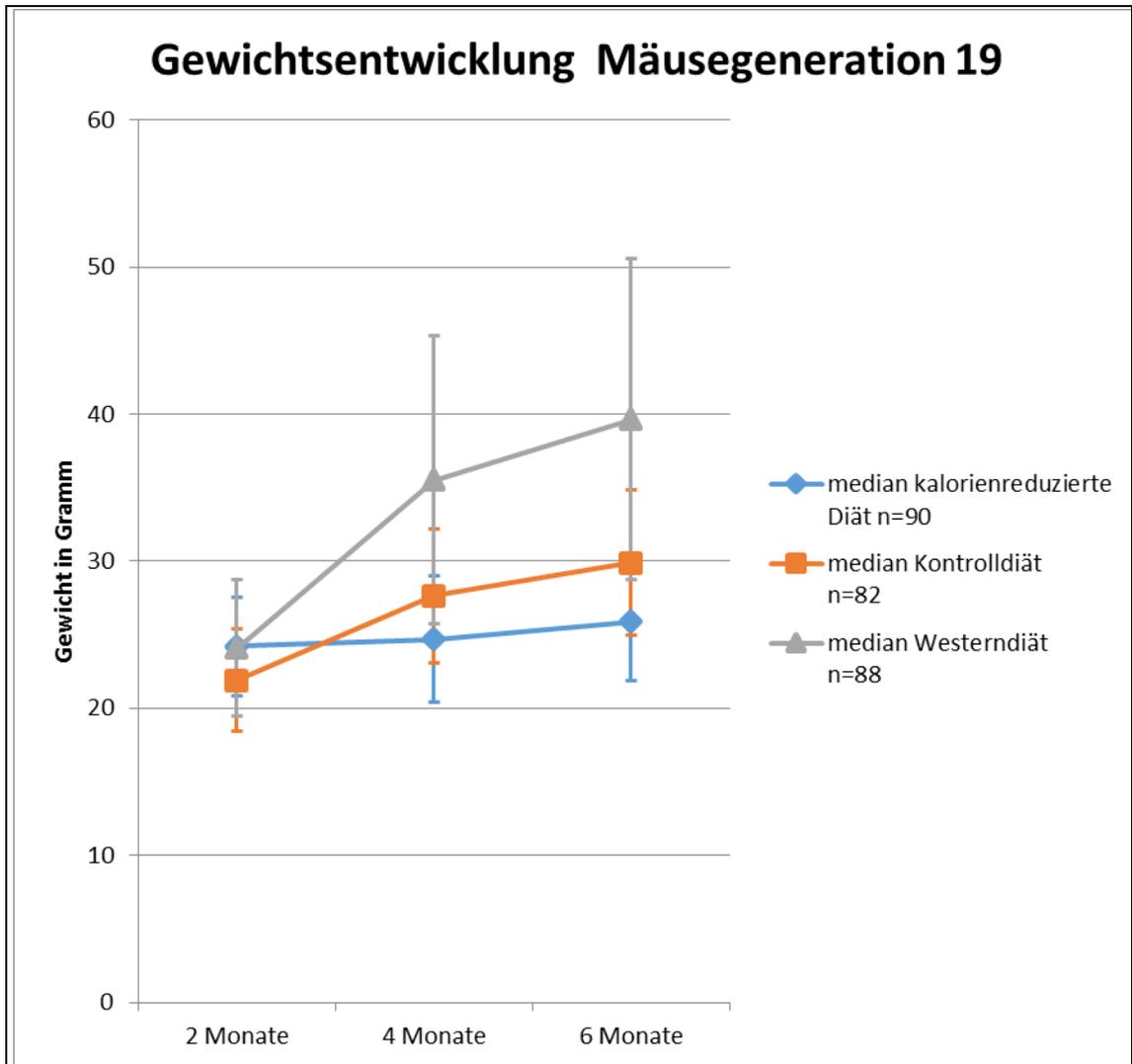


Abbildung Nr. 6: Gewichtsentwicklung Mäusegeneration 19.

3.1.3 NCMB-Mäuse G20

Die Gruppe mit kalorienreduziertem Futter nahm über den kompletten beobachteten Zeitraum an Körpergewicht zu, im Alter von vier bis sechs Monaten jedoch stärker ($p = 0,011$) als in der Zeit von zwei bis vier Monaten ($p = 0,024$). Kontrolldiät und Westerndiät Mäuse, innerhalb ihrer Gruppe betrachtet, nahmen von zwei bis vier Monaten ($p = 0,004$ und $p < 0,001$) und zwei bis sechs Monaten ($p < 0,001$) an Körpergewicht zu, nicht jedoch im Zeitraum von vier bis sechs Monaten ($p = 1$ und $p = 0,063$). Im Vergleich der

unterschiedlichen Diätgruppen hatten die Western-Diät-Mäuse die höchsten Körpergewichte, gefolgt von den Kontroll-Diät-Mäusen und diese wiederum gefolgt von den kalorienreduzierten Mäusen. Alle Vergleiche der unterschiedlichen Diätgruppen zueinander ergaben einen p-Wert von jeweils $< 0,001$. Siehe Tabelle Nr. 3 und Abbildung Nr. 7.

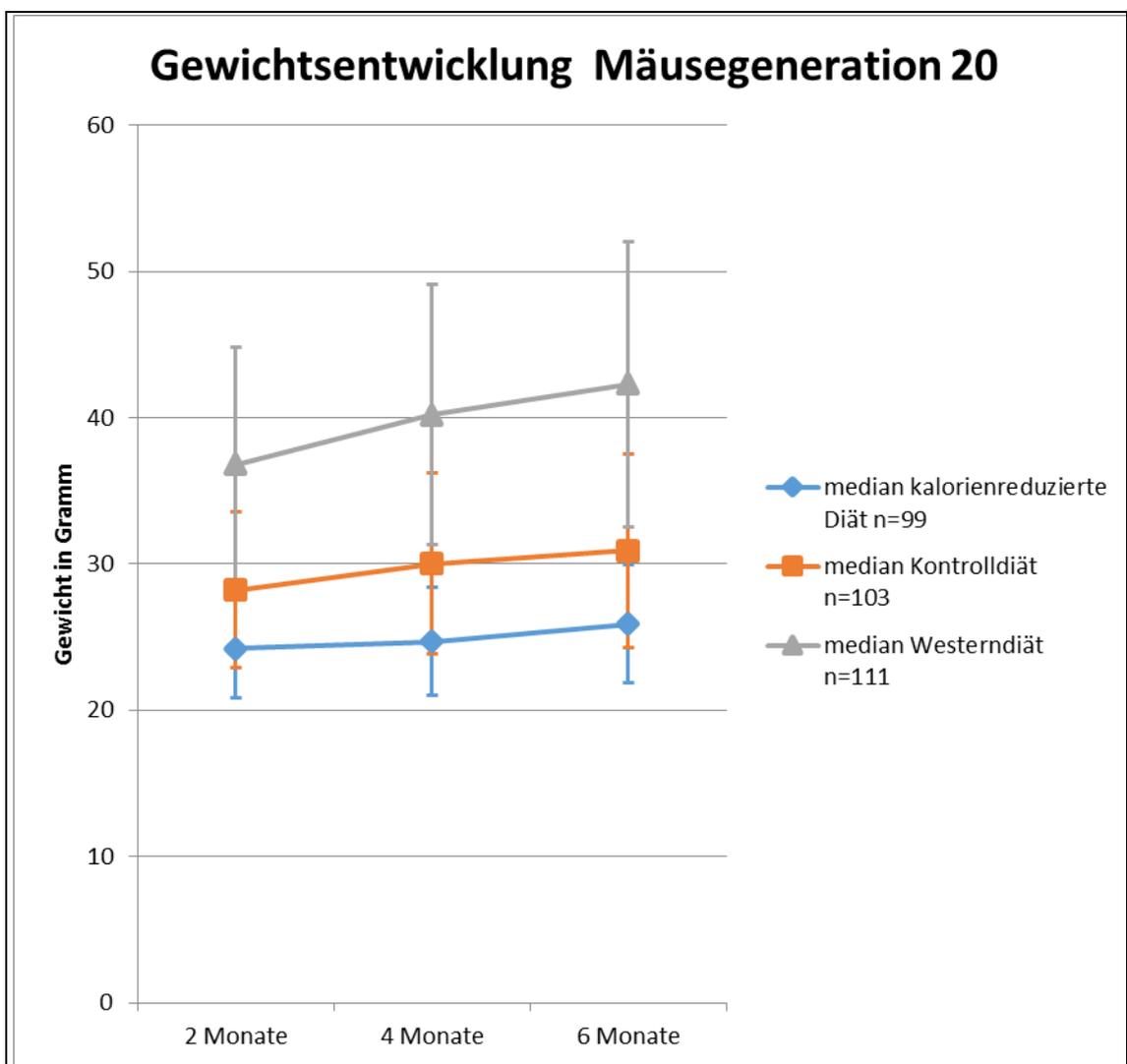


Abbildung Nr. 7: Gewichtsentwicklung Mäusegeneration 20.

3.1.4 NCMB-Mäuse G18-20

Die Gruppe der kalorienreduzierten Diät nahm an Körpergewicht im Vergleich von zwei zu vier, sowie zwei zu sechs Monaten zu ($p < 0,001$), nicht aber im Zeitraum von vier bis sechs Monaten ($p = 0,055$). Kontroll-Diät- sowie Westerndiät- Mäuse nahmen je von zwei bis vier und von zwei bis sechs Monaten an Körpergewicht zu ($p < 0,001$). Ebenso nahmen beide Gruppen von vier bis sechs Monaten an Körpergewicht zu, Western-Diät- jedoch stärker ($p = 0,004$) als Kontroll-Diät-Mäuse ($p = 0,024$). Alle drei Diätgruppen im Vergleich betrachtet, hatten die Western-Diät-Mäuse zu jedem Messzeitpunkt das höchste Körpergewicht, gefolgt von den Kontroll-Diät-Mäusen und abschließend den Mäusen mit kalorienreduzierter Diät. Alle Vergleiche der unterschiedlichen Diätgruppen zueinander ergaben einen p-Wert von jeweils $< 0,001$. Siehe Tabelle Nr. 3 und Abbildung Nr. 8. Im Vergleich der einzelnen Futterregime im intergenerationalen Vergleich zeigte sich bei den Kontrolldiät-Mäusen ein heterogenes Bild. Bei den Westerndiät- und den kalorienreduzierten Mäusen konnte eine Zunahme des Körpergewichts von Generation 18 und 19 zu 20 festgestellt werden ($p < 0,001$ und $p = 0,028$ sowie $p = 0,035$ und $p < 0,001$).

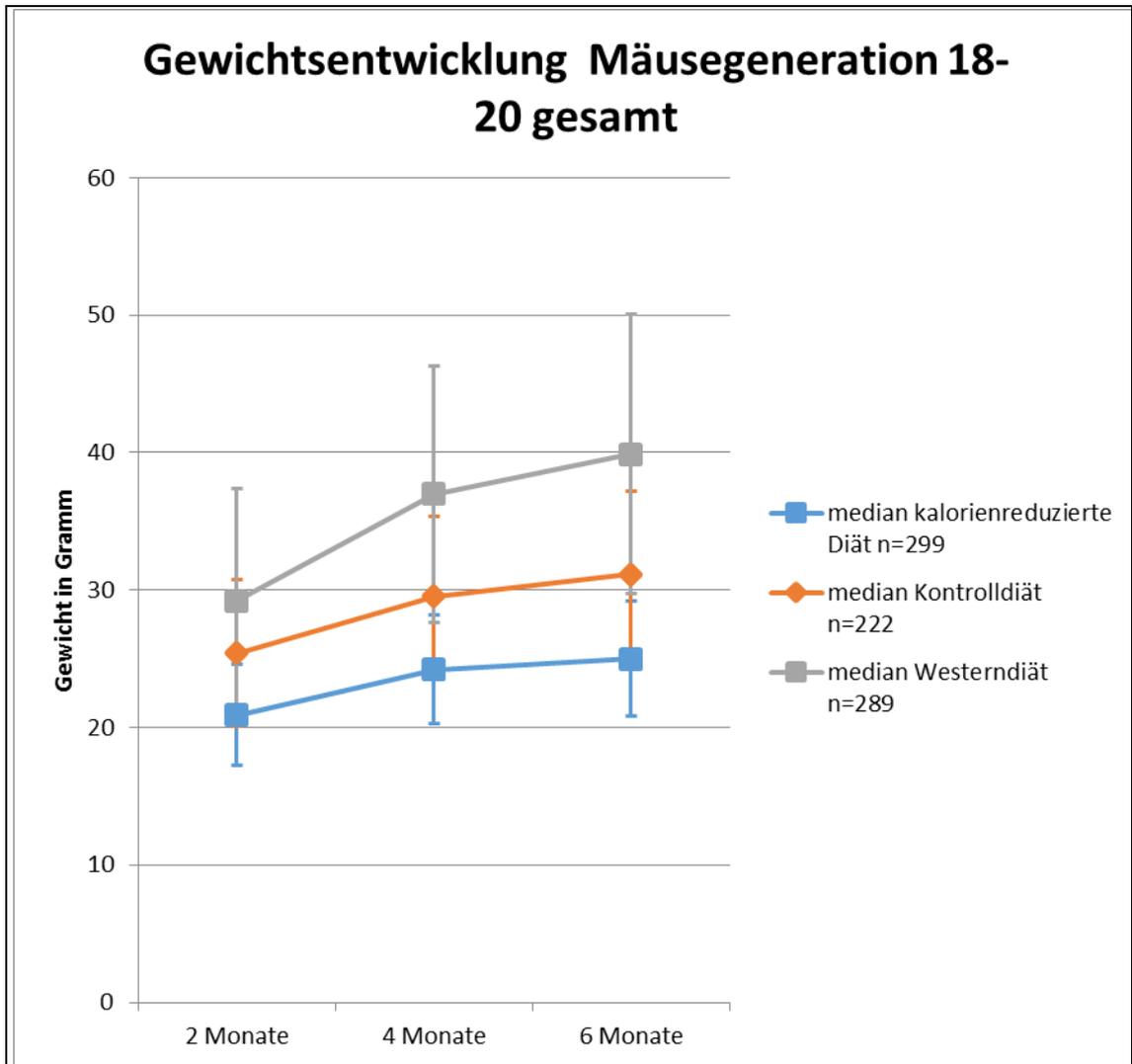


Abbildung Nr. 8: Gewichtsentwicklung Mäusegeneration 18 - 20 gesamt.

Mäuse	2 Monatsgewicht in g	4 Monatsgewicht in g	6 Monatsgewicht in g
G18 cal	19,35 ± 2,79	23,25 ± 3,71	24,65 ± 4,15
G18 con	27,10 ± 4,03	31,80 ± 5,59	34,40 ± 6,11
G18 wes	27,55 ± 5,94	33,85 ± 8,08	37,20 ± 9,29
G19 cal	20,40 ± 3,33	24,35 ± 4,28	24,05 ± 4,03
G19 con	21,90 ± 3,48	27,65 ± 4,54	29,90 ± 4,90
G19 wes	24,10 ± 4,62	35,50 ± 9,79	39,65 ± 10,88
G20 cal	24,20 ± 3,35	24,70 ± 3,69	25,90 ± 4,06
G20 con	28,20 ± 5,33	30,00 ± 6,18	30,90 ± 6,59
G20 wes	36,80 ± 7,97	40,20 ± 8,88	42,30 ± 9,76
gesamt cal	20,90 ± 3,68	24,20 ± 3,95	25,00 ± 4,21
gesamt con	25,40 ± 5,35	29,55 ± 5,83	31,15 ± 6,08
gesamt wes	29,20 ± 8,14	37,00 ± 9,32	39,90 ± 10,19

Tabelle Nr. 3: Übersicht Mediane und Standardabweichung für alle Mäuse im zeitlichen Verlauf. Die Tabelle zeigt die Mediane (erste Zahl) jeder Mausgeneration sowie jedes Futterregimes zu den jeweils genannten Messzeitpunkten inklusive der jeweiligen Standardabweichung (Zahl nach ±). G = Mausgeneration, cal = kalorienreduzierte Gruppe, con = Kontroll-Diät Gruppe, wes = Western-Diät Gruppe, gesamt = Generation 18 - 20 zusammen betrachtet.

3.1.5 NZM2410/J-Mäuse

Sowohl die Mäuse mit Kontroll- als auch die Mäuse mit Western-Diät zeigten innerhalb ihrer Gruppe im zeitlichen Verlauf eine Gewichtszunahme (1 Monats- v.s. 7 Monatsgewicht $p < 0,001$). Mäuse der Western-Diät-Gruppe zeigten im Vergleich mit Mäusen der Kontroll-Diätgruppe zum jeweils zeitlich gleichen Messpunkt nur mit Ausnahme der 6 Monatsmessung ($p = 0,113$) ein höheres Körpergewicht, wobei der Unterschied zwischen beiden Gruppen bei der 5 Monatsmessung am größten war ($p = 0,002$). Siehe Abbildung Nr. 9.

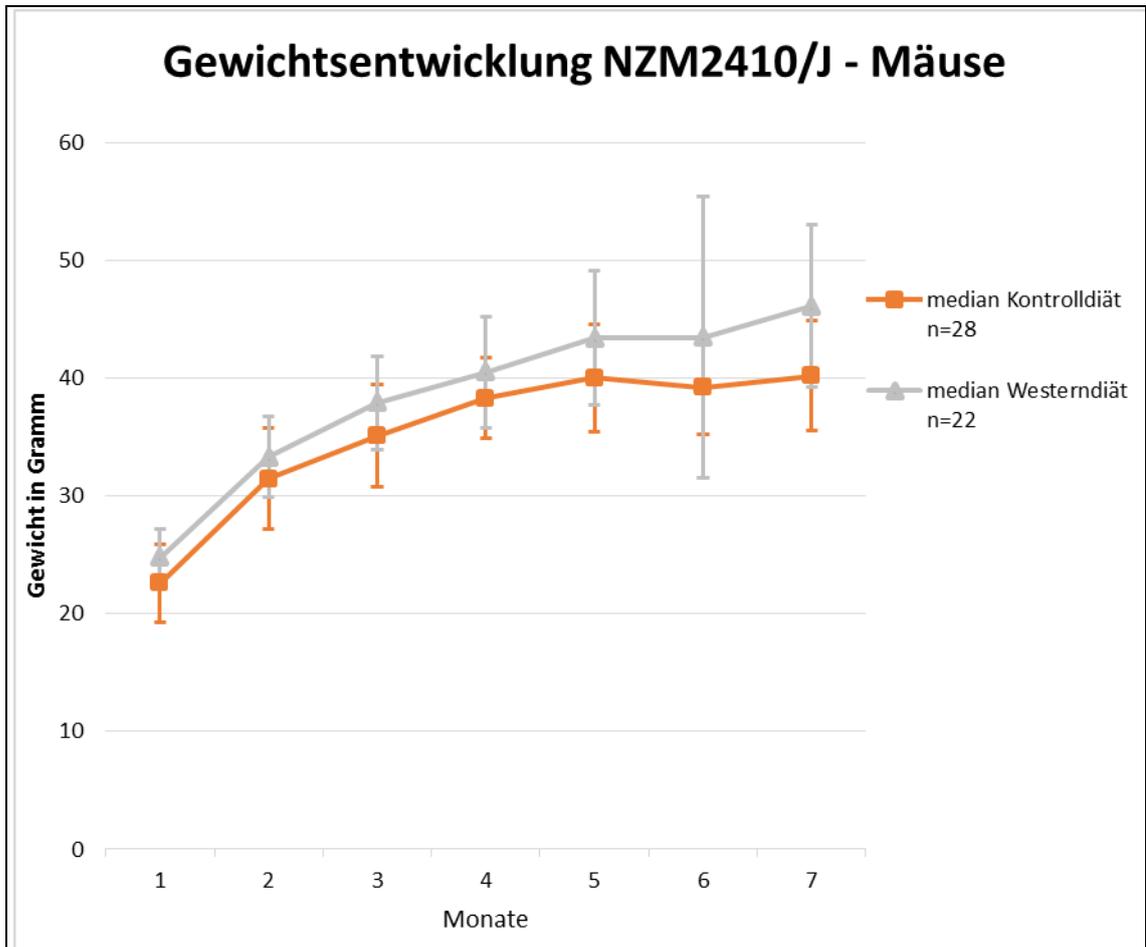


Abbildung Nr. 9: Gewichtsentwicklung NZM2410/J-Mäuse.

3.2 Cholesterinmessung

3.2.1 NCMB-Mäuse G18

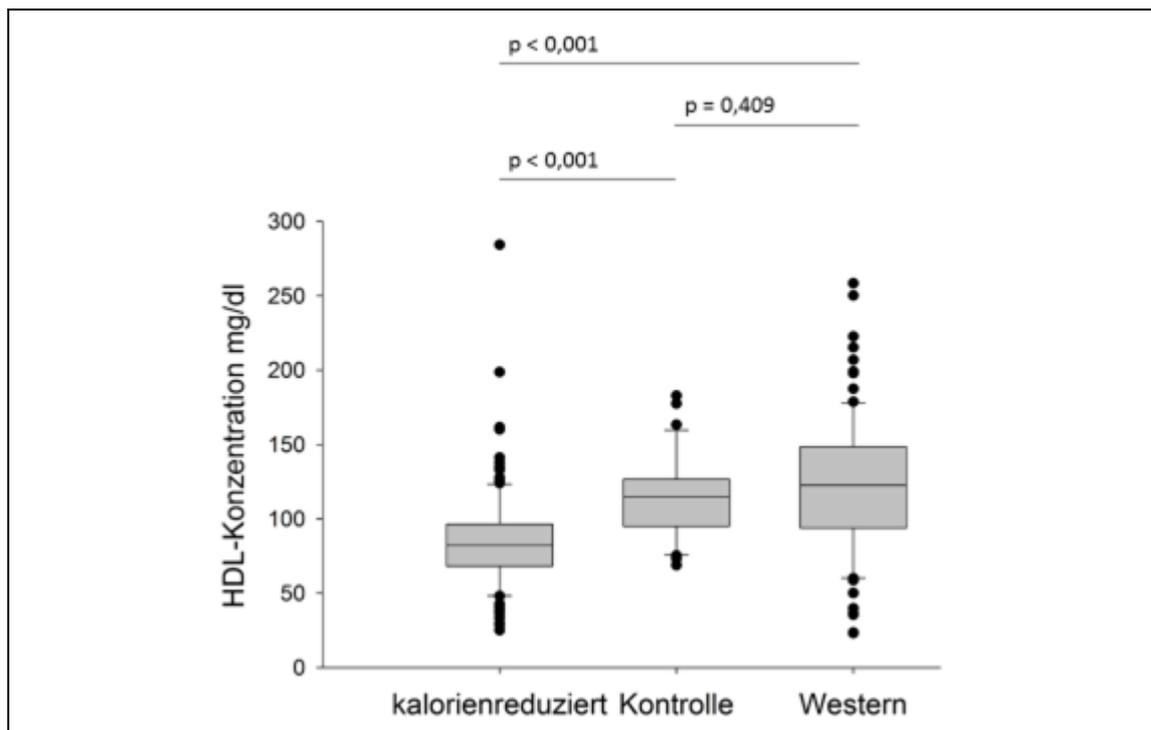


Abbildung Nr. 10: Serum-HDL-Konzentration NCMB-Mäuse G18. Die Daten sind als Box-Whisker-Plots dargestellt mit Median (schwarze Linie innerhalb der Box), 25 % - Perzentil (unterer Rand der Box), 75 % - Perzentil (oberer Rand der Box), obere und untere Antennen (Fehlerbalken, 10 %- und 90 %-Perzentil) und Ausreißer (Punkte). Alle Box-Whisker-Plots in folgenden Abbildungen entsprechen diesem Schema.

Die Messung der Serum-HDL-Konzentrationen der NCMB-Mäuse G18 ergab für die Tiere der kalorienreduzierten Gruppe einen medianen Wert von 82,17 mg/dl sowie einen Wert von 68,24 mg/dl für die 25. Perzentile und einen Wert von 96,36 mg/dl für die 75. Perzentile. Für die Kontrollgruppe wurde ein medianer Wert von 114,97 mg/dl bei Werten von 94,96 mg/dl für die 25. Perzentile und 126,74 mg/dl für die 75. Perzentile ermittelt. Die Western-Diät-Gruppe zeigte einen medianen Wert von 122,48 mg/dl und Werte für die 25. Perzentile von 93,85 mg/dl und 148,53 mg/dl für die 75. Perzentile. Im Vergleich der Tiere der kalorienreduzierten Gruppe mit der Kontrollgruppe und der

Western-Diät-Gruppe konnten signifikante Unterschiede bei einem p-Wert von jeweils $< 0,001$ errechnet werden. Zwischen der Kontroll- und der Western-Diät-Gruppe konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der p-Wert betrug hier $0,409$. Somit waren die Serum-HDL-Konzentrationen der kalorienreduzierten Gruppe in Relation zu der Kontroll- und der Western-Diät-Gruppe am niedrigsten.

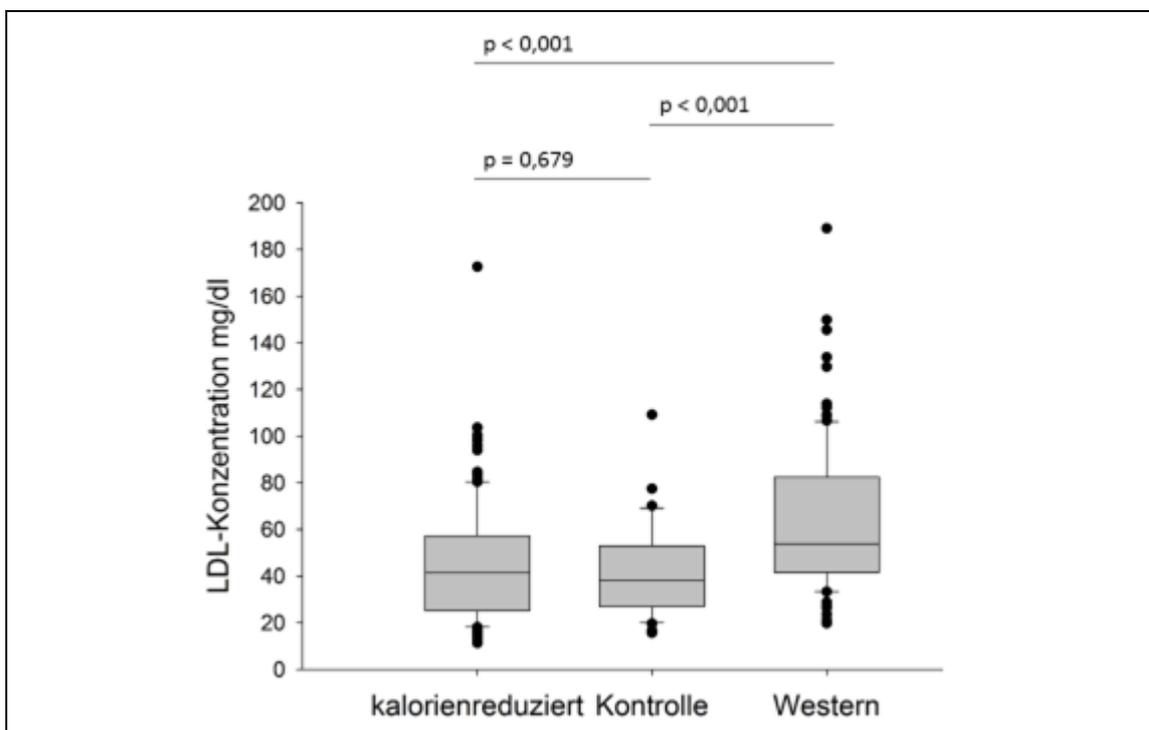


Abbildung Nr. 11: Serum-LDL-Konzentration NCMB-Mäuse G18

Der Median der Serum-LDL-Konzentration der NCMB-Mäuse G18 innerhalb der kalorienreduzierten Gruppe lag bei einem Wert von $41,40$ mg/dl. Die 25. Perzentile befand sich bei einem Wert von $25,26$ mg/dl und die 75. bei $57,24$ mg/dl. Für die Kontrollgruppe wurden Werte von $38,11$ mg/dl für den medianen Wert, sowie $26,92$ mg/dl für die 25. und $52,96$ mg/dl für die 75. Perzentile errechnet. Die Western-Diät-Gruppe wies Werte von $53,79$ mg/dl für den Median sowie $41,59$ für die 25. und $82,42$ mg/dl für die 75. Perzentile auf. Mit einem p-Wert von jeweils $< 0,001$ konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der Western-Diät-Gruppe und der Kontrollgruppe als auch der

kalorienreduzierten Gruppe ausgemacht werden. Keinen signifikanten Unterschied ergab hingegen der Vergleich der kalorienreduzierten Gruppe mit der Kontrollgruppe, da sich hier ein p-Wert von 0,679 zeigte. Die Serum-LDL-Konzentrationen der kalorienreduzierten und der Kontrollgruppe waren somit niedriger als die der Western-Diät-Gruppe.

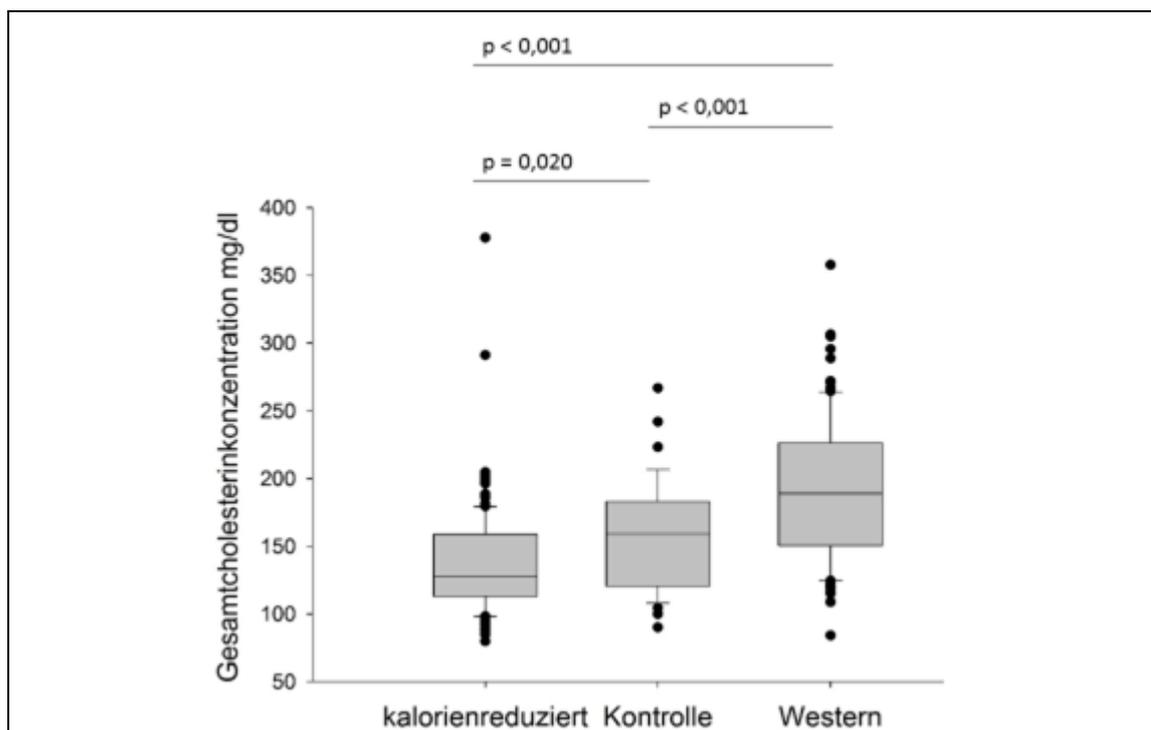


Abbildung Nr. 12: Serum-Gesamtcholesterinkonzentration NCMB-Mäuse G18

Bei der Messung der Serum-Gesamtcholesterinkonzentration der NCMB-Mäuse G18 wurde für die kalorienreduzierte Gruppe ein medianer Wert von 127,65 mg/dl bei einer 25. Perzentile von 113,06 mg/dl und einer 75. Perzentile von 158,84 mg/dl ermittelt. Die Kalkulation der Werte für die Kontrollgruppe zeigte folgende Ergebnisse: 159,32 mg/dl für den medianen Wert, 120,47 mg/dl für die 25. Perzentile und 183,06 mg/dl für die 75. Perzentile. Bei der Western-Diät-Gruppe wurde der Median mit einem Wert von 188,91 mg/dl und die 25. Perzentile mit 150,49 mg/dl, sowie die 75. Perzentile mit 226,34 mg/dl bestimmt. Signifikante Unterschiede lagen bei allen untersuchten Gruppen im Vergleich miteinander vor. Für den Vergleich der Western-Diät-Gruppe mit der

Kontrollgruppe und der kalorienreduzierten Gruppe ergab sich jeweils ein p-Wert von $< 0,001$, während dieser bei Betrachtung von kalorienreduzierter Gruppe zur Kontrollgruppe bei $0,020$ lag. Die Serum-Gesamtcholesterinkonzentration stieg im Vergleich der Gruppen von der kalorienreduzierten über die Kontroll- bis zur Western-Diät-Gruppe an.

3.2.2 NCMB-Mäuse G19

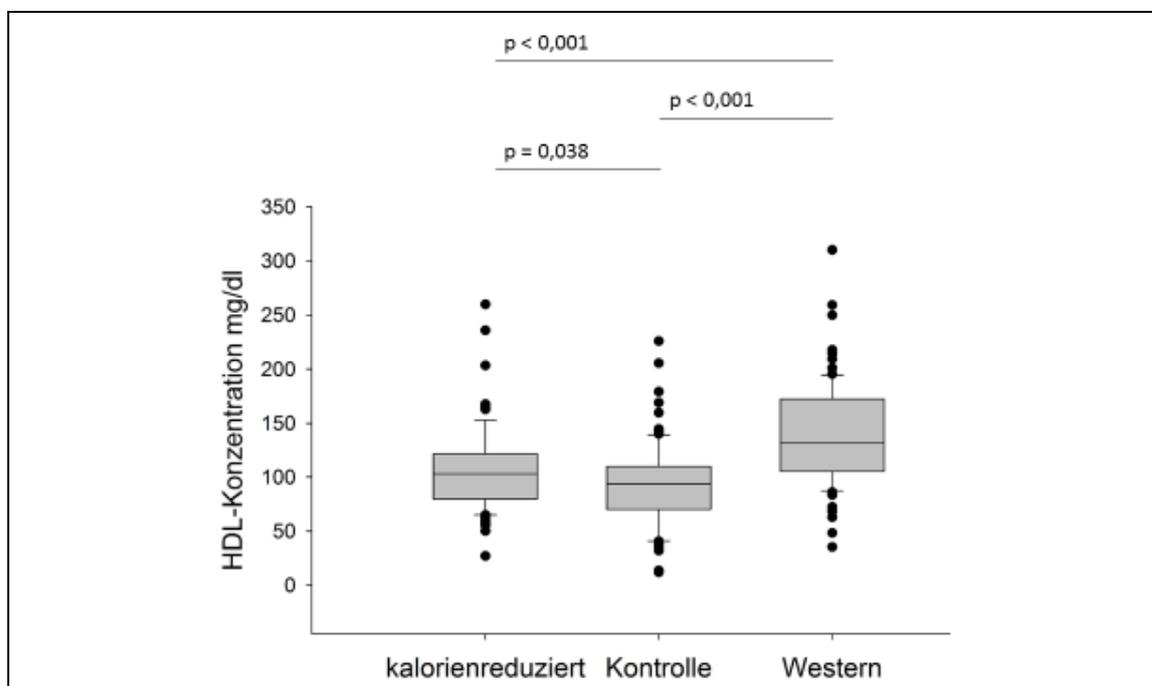


Abbildung Nr. 13: Serum-HDL-Konzentration NCMB-Mäuse G19

Der mediane Wert für die Serum-HDL-Konzentration der NCMB-Mäuse G19 der kalorienreduzierten Gruppe betrug $103,17$ mg/dl mit einer 25. Perzentile von $79,82$ mg/dl und der 75. Perzentile bei $121,62$ mg/dl. Die Kontrollgruppe wies einen Median von $93,90$ mg/dl und eine 25. Perzentile von $70,17$ mg/dl sowie eine 75. Perzentile von $109,97$ mg/dl auf. Bei der Western-Diät-Gruppe lag der Median bei $131,73$ mg/dl, die 25. Perzentile bei $105,34$ mg/dl und die 75. Perzentile bei $172,48$ mg/dl. Der Vergleich der Western-Diät-Gruppe mit der Gruppe der kalorienreduzierten Tiere und der Kontrollgruppe ergab einen p-

Wert von $p < 0,001$. Der errechnete p-Wert für die Kontrollgruppe im Vergleich mit den kalorienreduzierten Individuen war 0,038. Im gegenseitigen Vergleich aller Gruppen miteinander gab es demnach signifikante Unterschiede. Die niedrigsten Serum-HDL-Konzentrationen wies somit die Kontrollgruppe, gefolgt von der kalorienreduzierten und der Western-Diät-Gruppe auf.

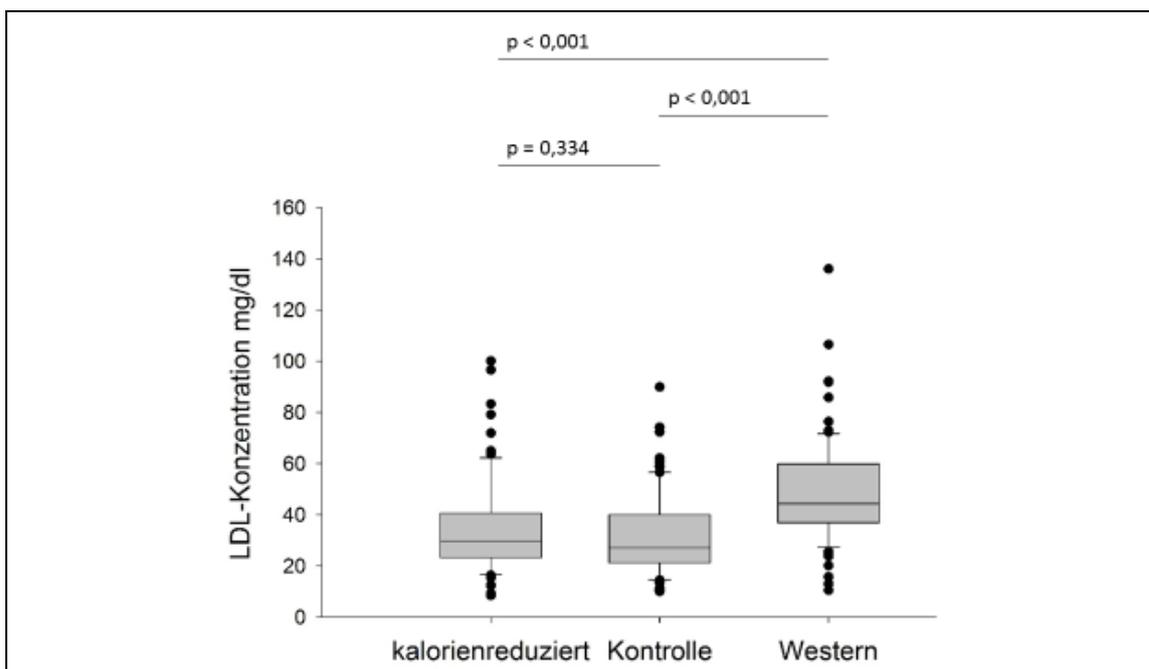


Abbildung Nr. 14: Serum-LDL-Konzentration NCMB-Mäuse G19

Für die Serum-LDL-Konzentration der NCMB-Mäuse G19 wurde ein medianer Wert von 29,78 mg/dl für die kalorienreduzierte Gruppe bestimmt. Die 25. Perzentile lag bei 23,20 mg/dl und die 75. Perzentile bei 40,61 mg/dl. Die Berechnung für die Kontrollgruppe ergab einen medianen Wert von 27,09 mg/dl und eine 25. Perzentile von 21,23 mg/dl bei einer 75. Perzentile von 40,03 mg/dl. Innerhalb der Western-Diät-Gruppe ergaben sich Werte von 44,39 mg/dl für den Median, 36,89 mg/dl für die 25. Perzentile und 59,86 mg/dl für die 75. Perzentile. Es konnten beim Vergleich von Western-Diät Gruppe mit Kontroll- und kalorienreduzierter Gruppe signifikante Unterschiede festgestellt werden. Der kalkulierte p-Wert ergab hier jeweils $< 0,001$. Keinen Unterschied ergab hingegen die Gegenüberstellung von kalorienreduzierter und

Kontrollgruppe. Hierbei zeigte sich ein p-Wert von 0,334. Die Tiere der Western-Diät-Gruppe wiesen die höchsten Serum-LDL-Konzentrationen bei sich nicht signifikant unterscheidenden Serum-LDL-Konzentrationen der verbleibenden Gruppen auf.

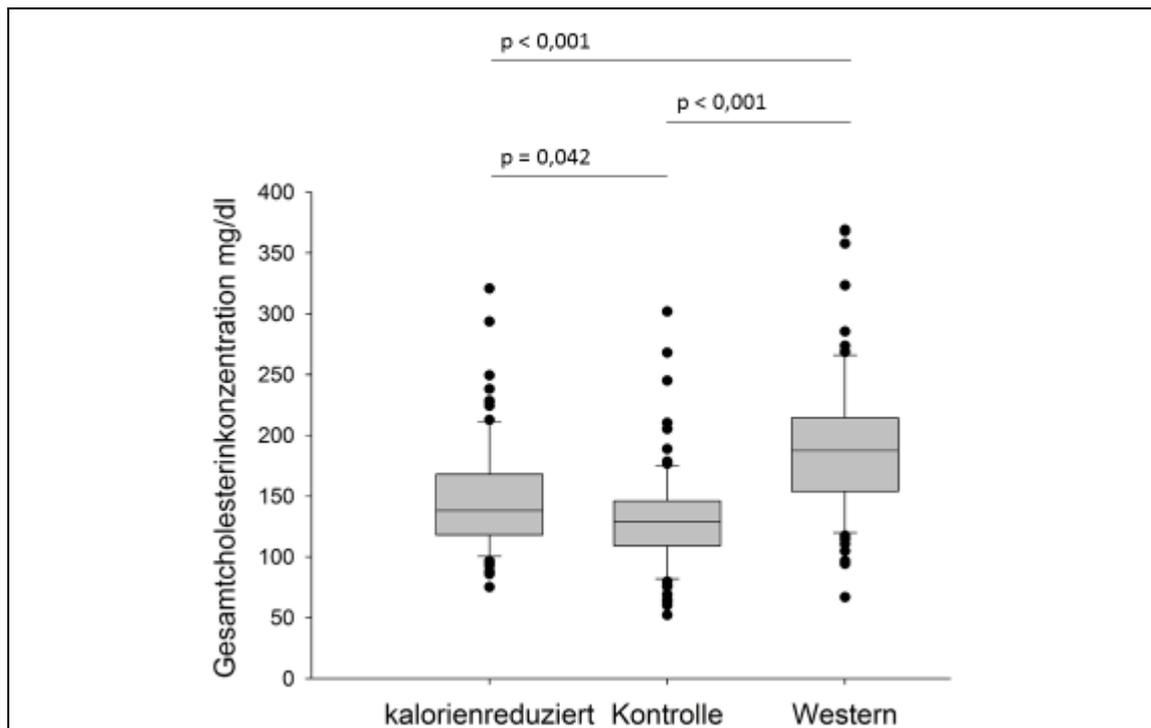


Abbildung Nr. 15: Serum-Gesamtcholesterinkonzentration NCMB-Mäuse G19

Die Werte der Serum-Gesamtcholesterinkonzentrationen für die NCMB-Mäuse G19 erbrachten für die kalorienreduzierte Gruppe einen Median von 137,98 mg/dl. Die 25. Perzentile wurde bei 118,04 mg/dl und die 75. Perzentile bei 168,09 mg/dl lokalisiert. Bei der Kontrollgruppe befand sich der mediane Wert bei 128,70 mg/dl und die 25. Perzentile bei 109,08 mg/dl mit einer 75. Perzentile von 146,03 mg/dl. Der Median für die Western-Diät-Gruppe war bei 187,57 mg/dl anzusiedeln. Die 25. Perzentile lag bei 153,86 mg/dl und die 75. Perzentile bei 214,44 mg/dl. Es ergaben sich signifikante Unterschiede im Vergleich aller Gruppen miteinander bei p-Werten von jeweils $< 0,001$ bei Vergleich von Western-Diät- zu Kontroll- und kalorienreduzierter Gruppe und einem p-Wert von 0,042 von kalorienreduzierter zu Kontrollgruppe. Die

höchsten Serum-Gesamtcholesterinkonzentrationen innerhalb dieser Generation fanden sich bei der Western-Diät-Gruppe, gefolgt von der kalorienreduzierten und schlussendlich der Kontrollgruppe.

3.2.3 NCMB-Mäuse G20

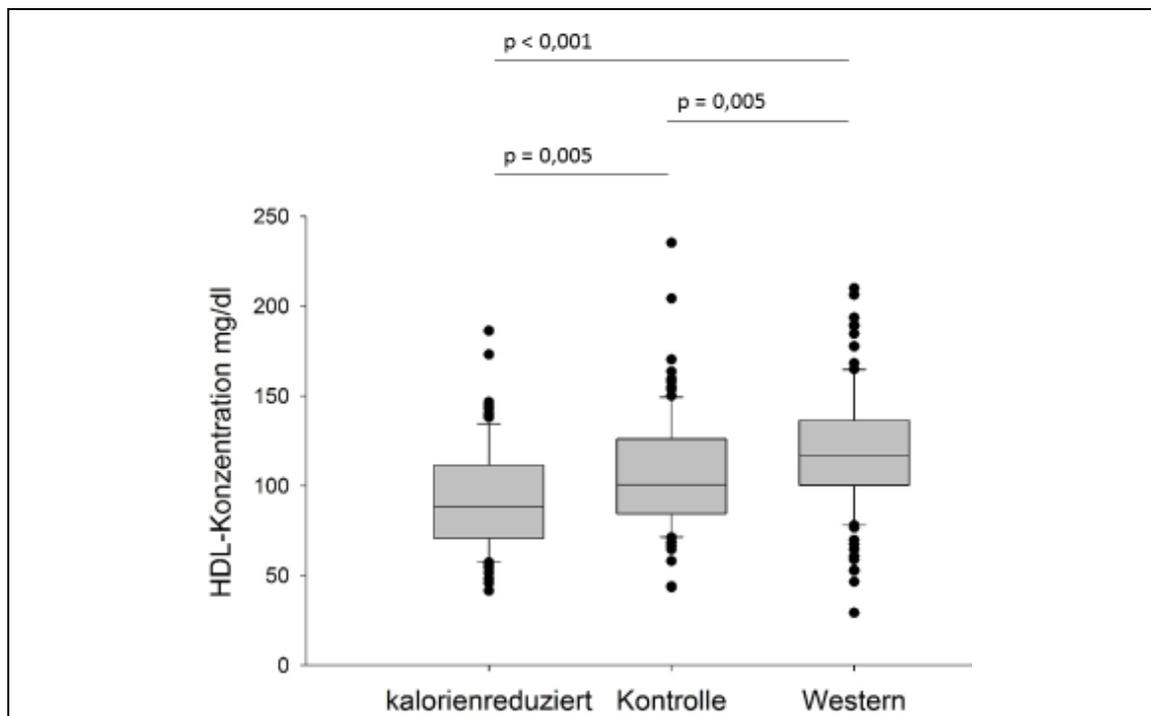


Abbildung Nr. 16: Serum-HDL-Konzentration NCMB-Mäuse G20

Bei Messung der Serum-HDL-Konzentration der NCMB-Mäuse G20 ergab sich für die kalorienreduzierte Gruppe ein medianer Wert von 88,28 mg/dl mit einer 25. Perzentile von 70,69 mg/dl und einer 75. Perzentile von 111,38 mg/dl. Innerhalb der Kontrollgruppe wurde ein Median von 100,61 mg/dl sowie die 25. Perzentile bei 84,39 mg/dl und die 75. Perzentile bei 126,02 mg/dl errechnet. Für die Western-Diät-Gruppe ergab sich für den Median ein Wert von 116,69 mg/dl. Für die 25. Perzentile wurde ein Wert von 100,26 mg/dl und für die 75. Perzentile ein Wert von 136,43 mg/dl ausgemacht. Die Gruppen zeigten im Vergleich zueinander jeweils signifikante Unterschiede, bei p-Werten von je

0,005 in der Gegenüberstellung von Kontroll- zu kalorienreduzierter und zur Western-Diät-Gruppe, sowie einen p-Wert von $< 0,001$ im Vergleich von Western-Diät- zu kalorienreduzierter Gruppe. Die Reihenfolge auf Basis der Höhe der Serum-HDL-Konzentrationen stellt sich dementsprechend wie folgt dar: kalorienreduzierte Gruppe, Kontrollgruppe, Western-Diät-Gruppe.

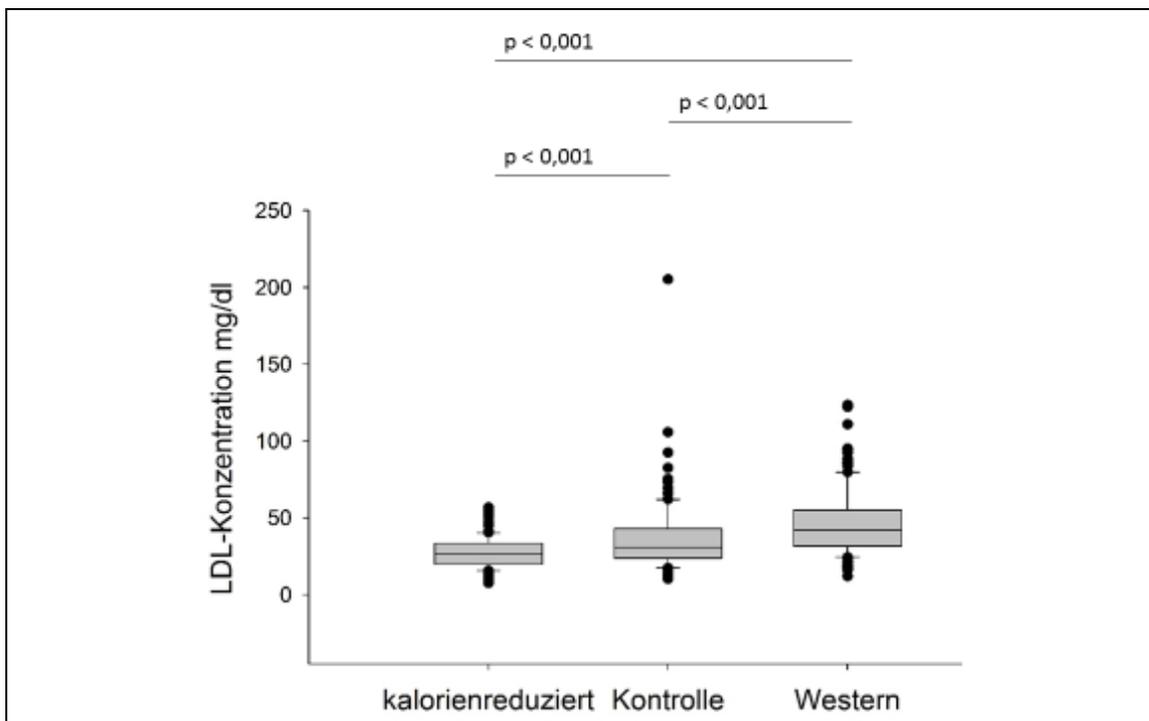


Abbildung Nr. 17: Serum-LDL-Konzentration NCMB-Mäuse G20

Die einzelnen Serum-LDL-Konzentrationen der NCMB-Mäuse G20 führten bei der kalorienreduzierten Gruppe zu einem Median von 26,52 mg/dl. Die 25. Perzentile lag bei einem Wert von 19,83 mg/dl und die 75. Perzentile bei 33,42 mg/dl. Die Messungen der Kontrollgruppen ergaben Werte für den Median von 30,73 mg/dl, für die 25. Perzentile von 23,90 mg/dl und für die 75. Perzentile von 43,01 mg/dl. Innerhalb der Western-Diät-Gruppe kam es zu Werten für den Median von 42,17 mg/dl, für die 25. Perzentile von 31,65 mg/dl und für die 75. Perzentile von 55,11 mg/dl. Zwischen allen Gruppen gab es signifikante Unterschiede. Die p-Werte lagen jeweils bei $< 0,001$ wobei die

Western-Diät-Gruppe die höchsten Serum-LDL-Konzentrationen vor der Kontrollgruppe, gefolgt von der kalorienreduzierten Gruppe, aufwies.

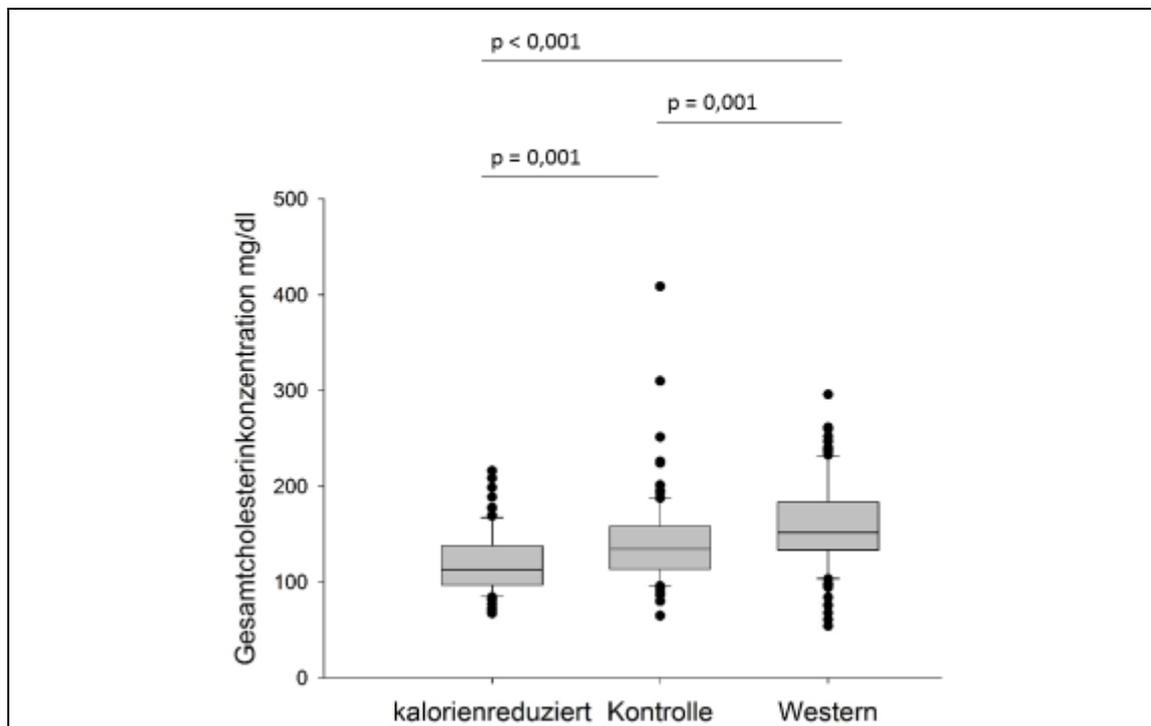


Abbildung Nr. 18: Serum-Gesamtcholesterinkonzentration NCMB-Mäuse G20

Die Serum-Gesamtcholesterinkonzentrationen der kalorienreduzierten Mäuse der NCMB-Mäuse G20 zeigten einen medianen Wert von 112,92 mg/dl. Die 25. Perzentile lag 96,82 mg/dl und die 75. Perzentile bei 138,04 mg/dl. Der Median der Werte der Kontrollgruppe befand sich bei 134,65 mg/dl mit einer 25. Perzentile von 113,38 mg/dl und einer 75. Perzentile von 158,44 mg/dl. Bei der Western-Diät-Gruppe wurde ein Median von 151,76 mg/dl bei einer 25. Perzentile von 133,47 mg/dl und einer 75. Perzentile von 183,81 mg/dl ermittelt. Für den Vergleich von Kontrollgruppe zu Western-Diät-Gruppe und kalorienreduzierter Gruppe wurden p-Werte von jeweils 0,001 errechnet. Der p-Wert bei Gegenüberstellung von Western-Diät-Gruppe zu kalorienreduzierter Gruppe lag bei < 0,001. Somit konnten bei allen Vergleichen signifikante Unterschiede detektiert werden. Die Serum-Gesamtcholesterinkonzentration war am niedrigsten bei der kalorienreduzierten Gruppe, gefolgt von der

Kontrollgruppe und schließlich von der Western-Diät-Gruppe.

3.2.4 NCMB-Mäuse gesamt

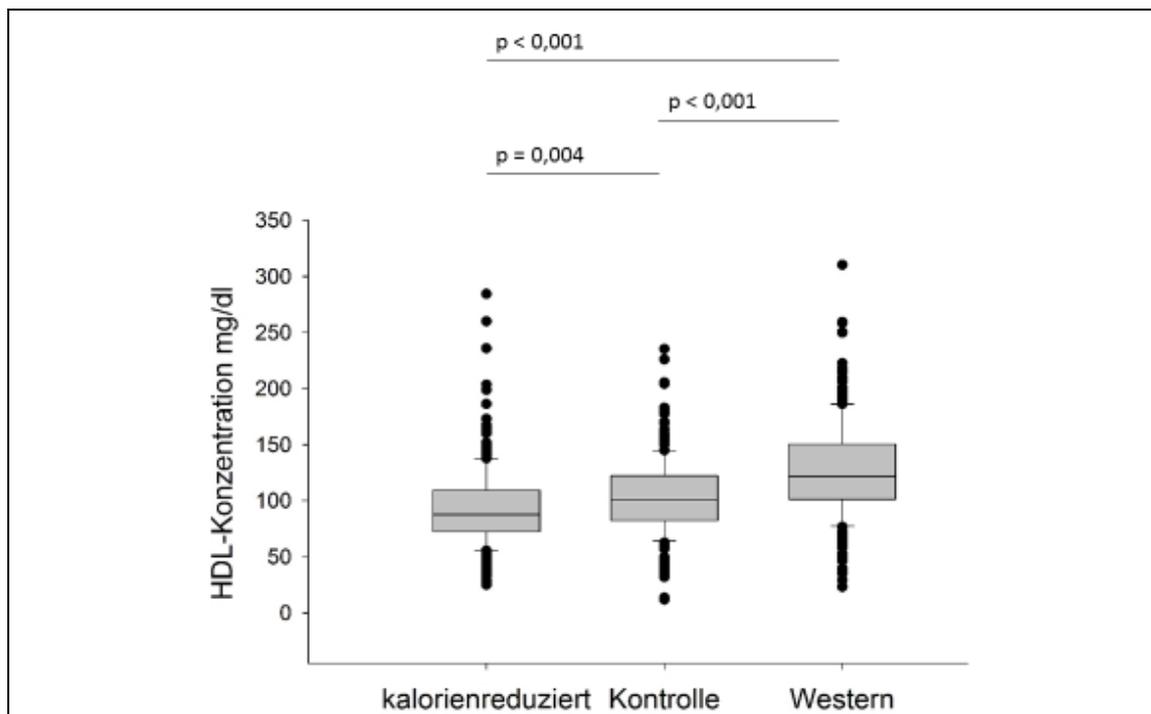


Abbildung Nr. 19: Serum-HDL-Konzentration NCMB-Mäuse G18-20

Alle untersuchten Generationen der NCMB-Mäuse zusammen betrachtet, ergab einen medianen Wert von 88,28 mg/dl in Bezug auf die Serum-HDL-Konzentration der kalorienreduzierten Gruppen. Die 25. Perzentile zeigte einen Wert von 70,69 mg/dl bei einer 75. Perzentile von 111,38 mg/dl. Die Kontrollgruppen insgesamt wiesen einen Median von 100,61 mg/dl bei einer 25. Perzentile von 84,39 mg/dl und einer 75. Perzentile von 126,02 mg/dl auf. Der Median der Western-Diät-Gruppe konnte bei 116,69 mg/dl lokalisiert werden, wobei sich die 25. Perzentile bei 100,26 mg/dl und die 75. Perzentile bei 136,43 mg/dl befand. Für den Vergleich von Western-Diät-Gruppe zu Kontrollgruppe und kalorienreduzierter Gruppe zeigten sich signifikante Unterschiede als Ausdruck von p-Werten von jeweils < 0,001. Die Untersuchung von

kalorienreduzierter Gruppe und Kontrollgruppe zeigte ebenfalls einen signifikanten Unterschied bei einem p-Wert von 0,004. Die höchsten Serum-HDL-Konzentrationen wurden bei der Western-Diät-Gruppe und danach bei der Kontrollgruppe gemessen, während bei der kalorienreduzierten Gruppe die niedrigsten Werte auftraten.

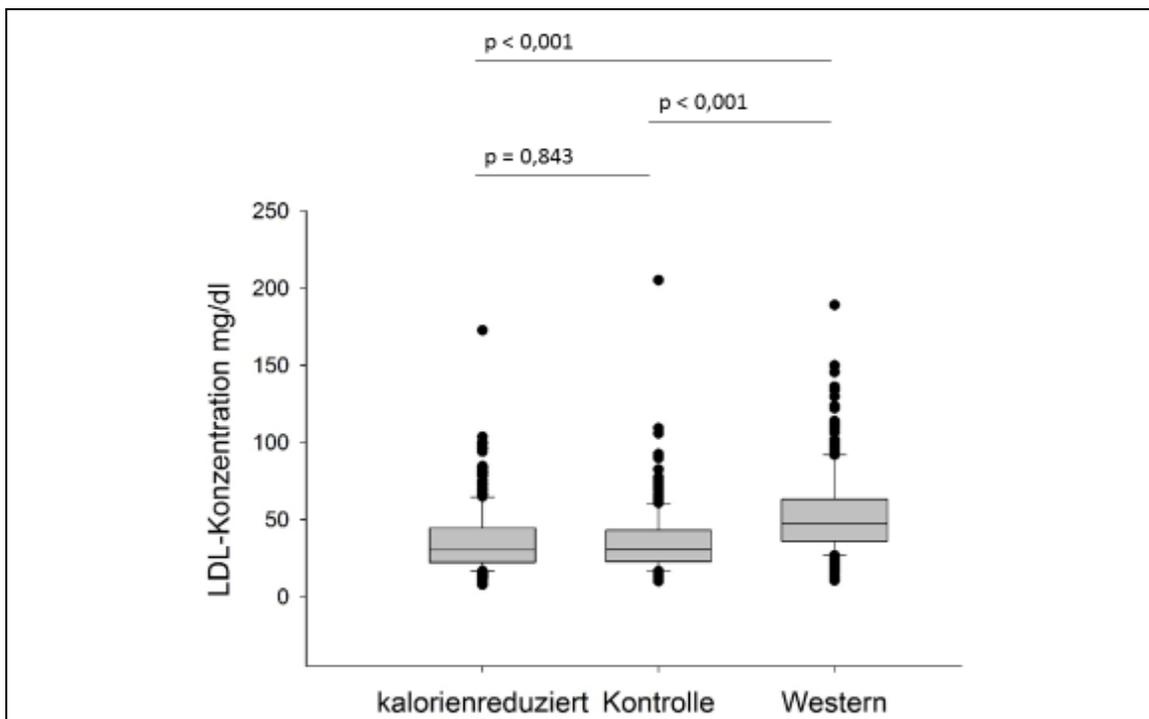


Abbildung Nr. 20: Serum-LDL-Konzentration NCMB-Mäuse G18-20

Die Auswertung der Serum-LDL-Konzentrationen für die Gesamtheit der verwendeten NCMB-Mäuse der kalorienreduzierten Gruppe führte zur Feststellung eines medianen Wertes von 26,52 mg/dl und einer 25. Perzentile von 19,83 mg/dl, sowie zu einer 75. Perzentile von 33,42 mg/dl. Die Kontrollgruppe zeigte einen Median von 30,73 mg/dl und eine 25. Perzentile von 23,90 mg/dl und darüber hinaus eine 75. Perzentile von 43,01 mg/dl. Bei der Western-Diät-Gruppe konnte der mediane Wert bei 42,17 mg/dl und die 25. Perzentile bei 31,65 mg/dl und ferner die 75. Perzentile bei 55,11 mg/dl lokalisiert werden. Die Werte der Western-Diät-Gruppe unterschieden sich

signifikant von denen der Kontrollgruppe und auch von denen der kalorienreduzierten Gruppe, was sich in p-Werten von jeweils $< 0,001$ niederschlug. Zwischen der kalorienreduzierten Gruppe und der Kontrollgruppe konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der p-Wert lag hier bei 0,843. Somit waren die Serum-LDL-Konzentrationen der Western-Diät-Gruppe bei ähnlichen Werten der kalorienreduzierten Gruppe und der Kontrollgruppe am höchsten.

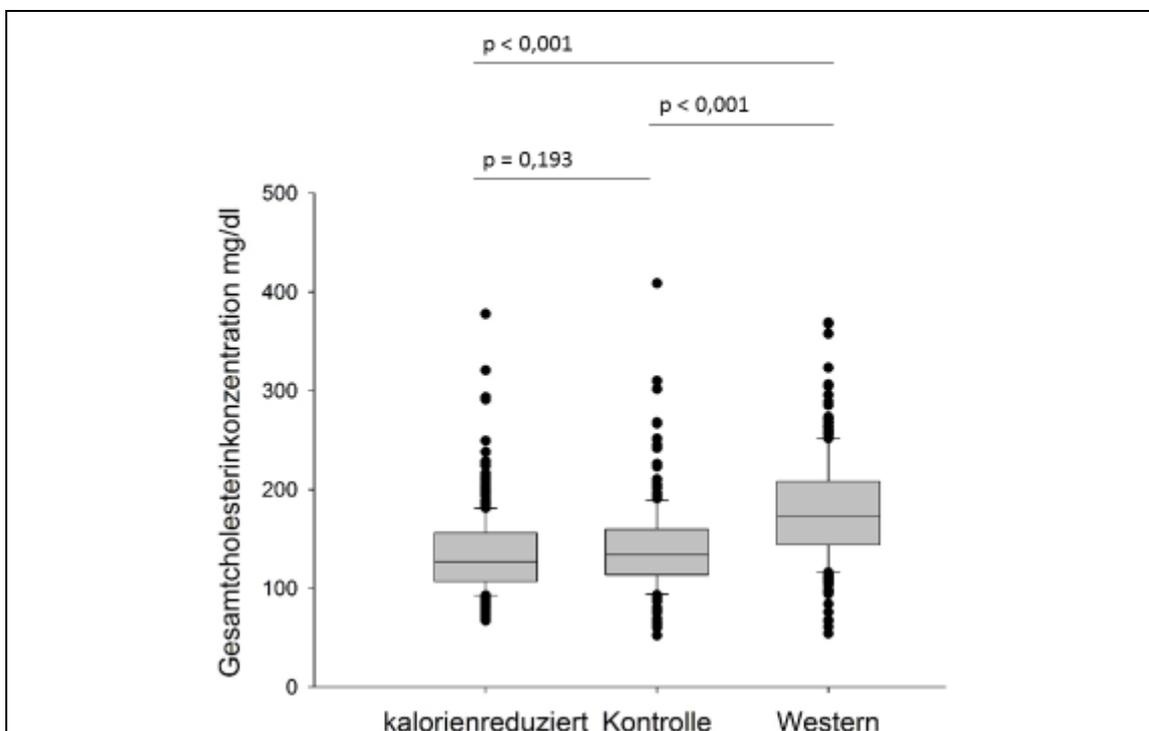


Abbildung Nr. 21: Serum-Gesamtcholesterinkonzentration NCMB-Mäuse G18-20

Die gemessenen Werte der Serum-Gesamtcholesterinkonzentrationen der kalorienreduzierten NCMB-Mäuse der Generationen 18 bis 20 ergaben einen medianen Wert von 112,92 mg/dl. Hier waren die Perzentilen wie folgt verteilt: Die 25. Perzentile lag bei 96,89 mg/dl und die 75. Perzentile bei 138,04 mg/dl. Bei den Kontrollgruppen befand sich der Median bei 134,65 mg/dl und die 25. Perzentile bei 113,38 mg/dl. Die 75. Perzentile zeigte einen Wert von 158,44 mg/dl. Schlussendlich ergab sich für die Western-Diät-Gruppen ein

medianer Wert von 151,76 mg/dl. Die 25. Perzentile war bei 133,47 mg/dl und die 75. Perzentile bei einem Wert von 183,81 mg/dl zu finden. Signifikante Unterschiede konnten in der Gegenüberstellung der Western-Diät-Gruppe mit der Kontrollgruppe als auch der kalorienreduzierten Gruppe ermittelt werden. Der p-Wert lag bei diesen Betrachtungen je bei $< 0,001$. Die Untersuchung von kalorienreduzierter Gruppe und Kontrollgruppe ergab einen p-Wert von 0,193. Somit war hier kein signifikanter Unterschied festzustellen. Während die Serum-Gesamtcholesterinkonzentration der kalorienreduzierten Gruppen sich auf einem ähnlichen Level wie die der Kontrollgruppen befanden, wurden bei den Western-Diät-Mäusen im Gegensatz dazu die höchsten Werte gemessen.

3.2.5 NZM2410/J-Mäuse

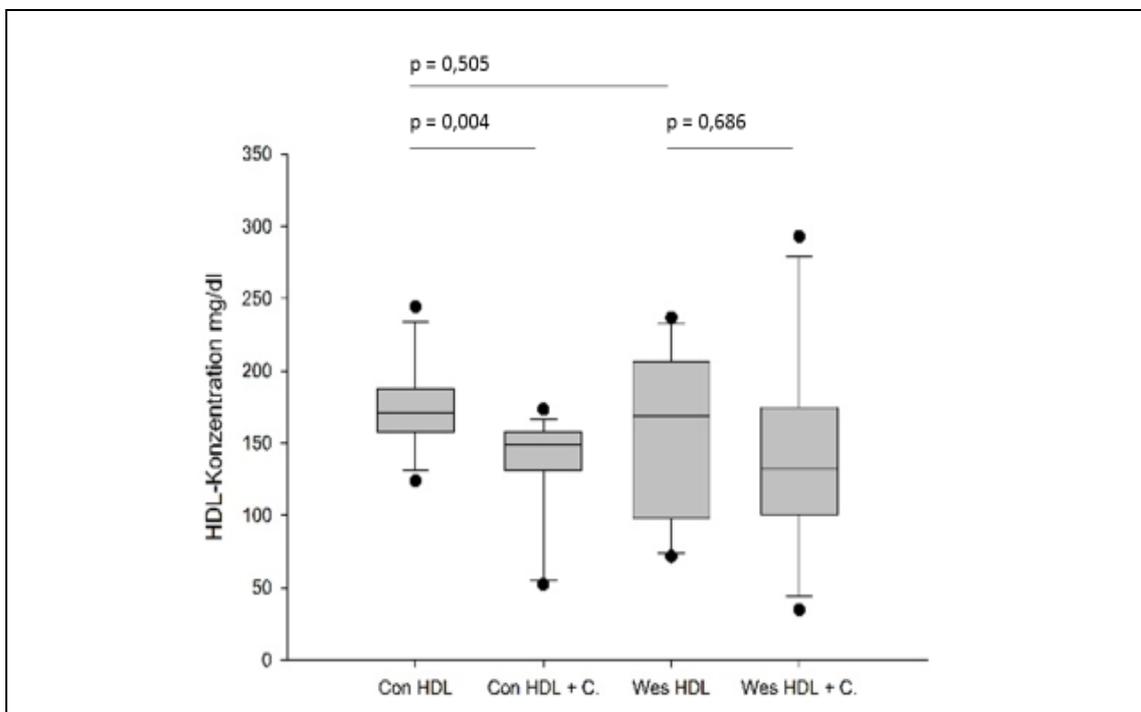


Abbildung Nr. 22: HDL-Konzentration NZM2410/J-Mäuse mit und ohne Cyclodextringabe. Con HDL = HDL-Serumkonzentrationen von Mäusen mit Kontrolldiät, Con HDL + C = HDL-Serumkonzentrationen von Mäusen mit Kontrolldiät und Cyclodextringabe, Wes HDL = HDL-Serumkonzentrationen von Mäusen mit Westerndiät, Wes HDL + C = HDL-Serumkonzentrationen von Mäusen mit Kontrolldiät und Cyclodextringabe.

Die Messung der HDL-Konzentration der Kontroll-Diät-NZM2410/J-Mäuse, welche kein Cyclodextrin erhielten, ergab einen medianen Wert von 171,30 mg/dl bei einer 25. Perzentile von 157,67 mg/dl und einer 75. Perzentile von 187,22 mg/dl. Die Seren der Kontrollgruppe, die Cyclodextrin erhielten, zeigten eine mediane HDL-Konzentration von 148,68 mg/dl sowie Werte von 131,19 mg/dl für die 25. und Werte von 157,97 mg/dl für die 75. Perzentile. Bei einem p-Wert von 0,004 ergab sich ein signifikanter Unterschied. Die Messung der Serum-HDL-Konzentration der Western-Diät-NZM2410/J-Mäuse ohne Cyclodextrinbehandlung ergab für den Median einen Wert von 168,45 mg/dl sowie eine 25. Perzentile von 97,61 mg/dl und eine 75. Perzentile von 206,36. Die Serum HDL-Konzentrationen der Mäuse des gleichen Diätregimes bei Cyclodextringabe ergaben Werte von 132,85 mg/dl für den Median, 100,77 mg/dl für die 25. Und 174,77 mg/dl für die 75. Perzentile. Der Vergleich beider Gruppen ergab einen p-Wert von 0,686 und zeigte somit keine signifikanten Unterschiede an. Ebenfalls ohne signifikanten Unterschied blieb der Vergleich der HDL-Level von Mäusen der Kontroll-Diät- und Western-Diät-Gruppe ohne Cyclodextrinbehandlung aus. Der p-Wert lag hier bei 0,505.

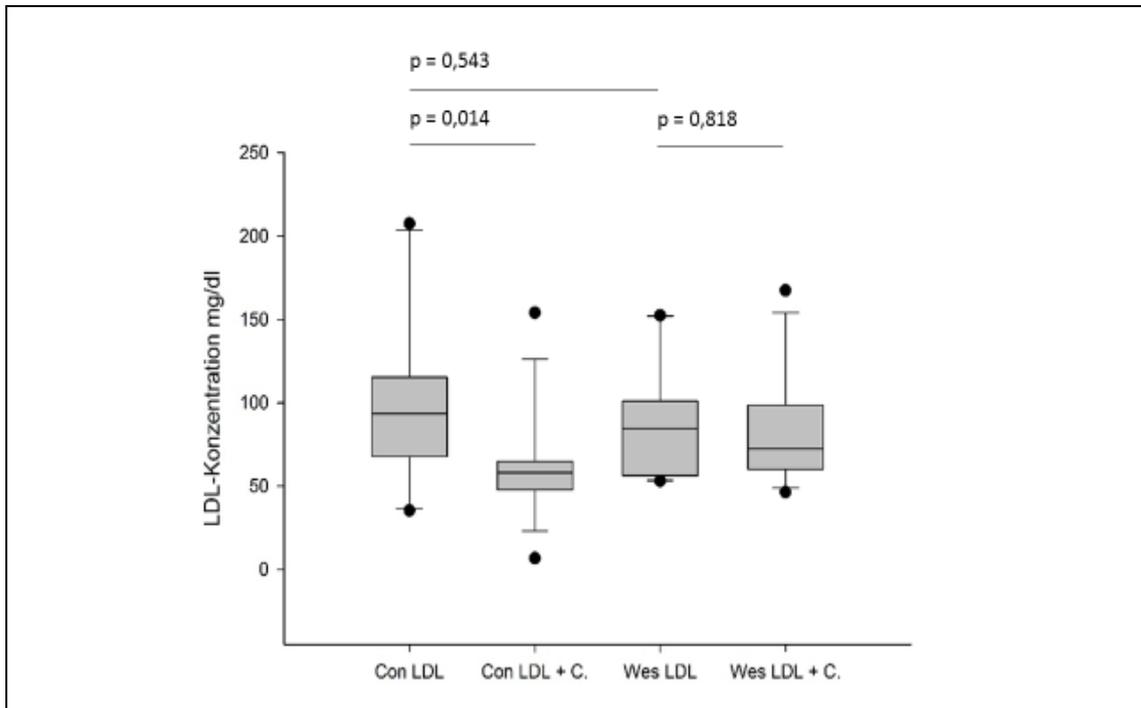


Abbildung Nr. 23: LDL-Konzentration NZM2410/J-Mäuse mit und ohne Cyclodextringabe. Beschriftung äquivalent zu Abbildung Nr. 22 hier jedoch LDL = LDL-Serumkonzentrationen.

Die LDL-Konzentrationen der Kontroll-Diät-NZM2410/J-Maus-Seren ohne Cyclodextringabe zeigten ihren medianen Wert bei 93,54 mg/dl. Die 25. Perzentile befand sich bei 67,78 mg/dl und die 75. Perzentile bei 115,40 mg/dl. Der Median der Werte der Kontroll-Diät-Gruppe mit Cyclodextringabe lag bei einer Konzentration von 58,09 mg/dl. Für die 25. Perzentile wurde ein Wert von 47,97 mg/dl und für die 75. Perzentile ein Wert von 64,80 mg/dl ermittelt. Der p-Wert lag bei Vergleich der Gruppen bei 0,014. Somit konnte ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die Kalkulation der LDL-Werte Western-Diät-Gruppe ohne Cyclodextringabe ergab einen Median von 84,50 mg/dl. Die 25. Perzentile lag bei 56,39 mg/dl und die 75. Perzentile bei 101,12 mg/dl. Bei den Seren der Western-Diät-Gruppe mit Cyclodextringabe kam es zu folgenden Werten: Median bei 72,33 mg/dl, die 25. Perzentile bei 59,96 mg/dl und die 75. Perzentile bei 98,62 mg/dl. Im Vergleich dieser Gruppen wurde ein p-Wert von 0,818 und somit kein signifikanter Unterschied festgestellt. Als p-Wert bei Vergleich von Kontroll- und Western-Diät-Gruppe ohne Cyclodextringabe

wurden 0,543 ermittelt, womit sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied ausmachen ließ.

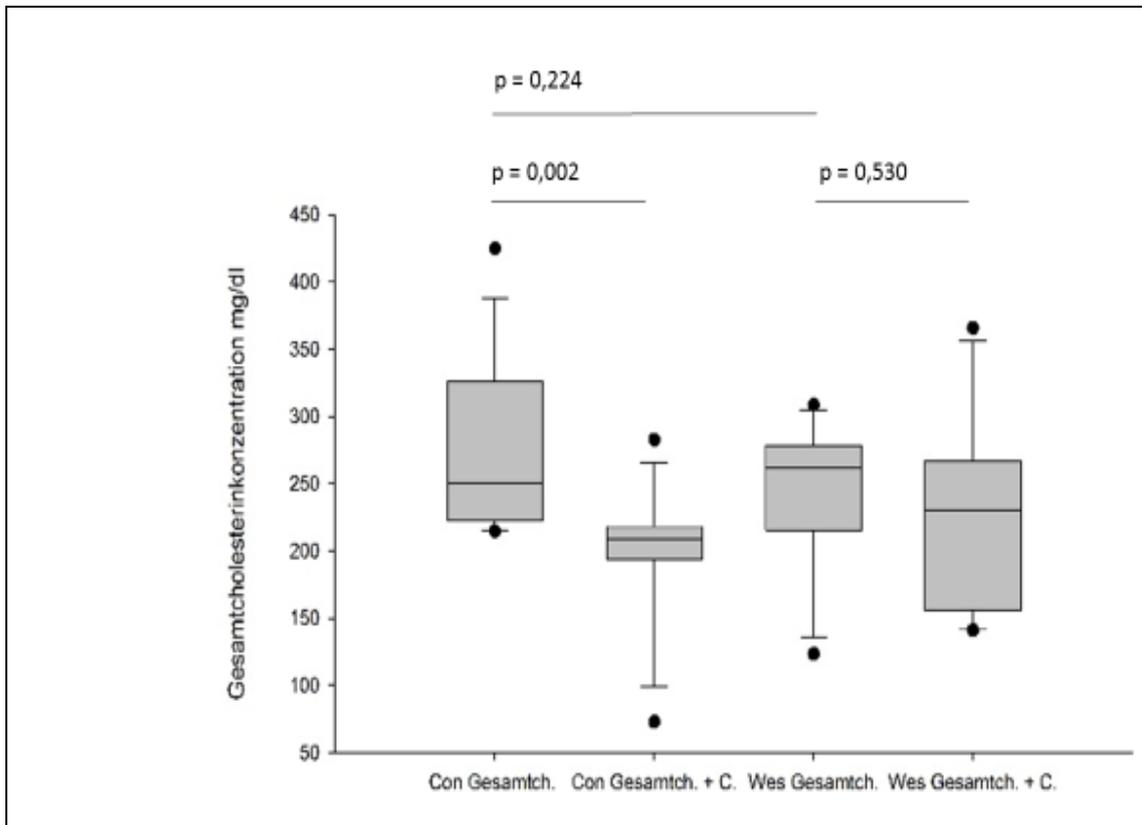


Abbildung Nr. 24: Gesamtcholesterinkonzentration NZM2410/J-Mäuse mit und ohne Cyclodextringabe. Beschriftung äquivalent zu Abbildung Nr. 22, hier jedoch Gesamth. = Gesamtcholesterinkonzentration im Serum.

Der Median der Gesamtcholesterinkonzentration der Kontroll-Diät-NZM2410/J-Maus-Seren ohne Cyclodextringabe lag bei 250,78 mg/dl. Für die 25. Perzentile ergab sich ein Wert von 222,18 mg/dl und für die 75. Perzentile ein Wert von 326,03 mg/dl. Für die Gesamtcholesterinkonzentrationen der cyclodextrinbehandelten Kontroll-Diät-Gruppe ergab die Berechnung des Median einen Wert von 209,21 mg/dl bei einer 25. Perzentile von 193,90 mg/dl und einer 75. Perzentile von 218,19 mg/dl. Der p-Wert lag bei 0,002. Der Vergleich beider Gruppen zeigte somit einen signifikanten Unterschied. Die Messung der Gesamtcholesterinkonzentration der Western-Diät-Gruppe ohne

Cyclodextringabe führte zu einem medianen Wert von 261,49 mg/dl, während die 25. Perzentile bei 215,29 mg/dl und die 75. Perzentile bei 278,24 mg/dl lag. Die Gesamtcholesterinwerte der cyclodextrinbehandelten Western-Diät-Gruppe lagen für den Median bei 230,83 mg/dl, für die 25. Perzentile bei 155,47 mg/dl und für die 75. Perzentile bei 267,02 mg/dl. Der p-Wert beim Vergleich beider Gruppen lag bei 0,530. Es lag kein signifikanter Unterschied vor. Im Vergleich der Werte der Gesamtcholesterinkonzentration der Kontroll- und der Western-Diät-Gruppe ohne Cyclodextringabe wurde ein p-Wert von 0,224 ermittelt. Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen konnte somit nicht gezeigt werden.

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

In allen 3 Generationen hatten die Mäuse der Western-Diät-Gruppe zu allen Messzeitpunkten mit Ausnahme der 2- und 4-Monatsmessung der Generation 18, bei der die Gewichte sich nicht von denen der Kontrollgruppe unterschieden, die höchsten Gewichtswerte, jeweils gefolgt von den Mäusen der Kontroll- und kalorienreduzierter Diät. In der Western-Diät und kalorienreduzierten Gruppe wurde zusätzlich eine intergenerationale Gewichtszunahme beobachtet. Die HDL-, LDL- und Gesamtcholesterinwerte waren bei den Western-Diät-Mäusen stets am höchsten. Die Mäuse mit Kontroll-Diät zeigten mit einer Ausnahme stets die zweithöchsten Werte. Die Werte der Mäuse mit kalorienreduzierter Diät zeigten in etwa der Hälfte der Fälle keine signifikanten Abweichungen dazu. Wenn doch, so waren sie die untersuchte Gruppe mit den niedrigsten Cholesterinwerten. Cyclodextrin senkte nur in der Kontroll-Diät- nicht aber in der Western-Diät-Kohorte signifikant die Werte von Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin.

4.2 Diskussion der Methoden

4.2.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden Mäuse gewählt. Die Generation 18 - 20 eines Auszuchtstammes aus 4 Inzuchtstämmen mit Prädisposition für unterschiedliche Autoimmunerkrankung wurden für Gewicht und Cholesterinmessung und ein Inzuchtstamm mit Anfälligkeit für Lupus Nephritis für den Cyclodextrinversuch von Artem Vorobev verwendet. Das Genom von Mäusen und Menschen ist zu großen Teilen identisch (Yue et al., 2015) sodass sich daraus Schlussfolgerungen für den Menschen zumindest in Grundzügen ableiten lassen können. Die Generationsdauer von Mäusen ist kurz und sie benötigen relativ wenig Lebensraum sowie Futter, was sie ökonomisch attraktiv macht. Darüber hinaus kann das Futter gezielt rationiert werden und die Haltungsbedingungen scheiden als Störfaktor größtenteils aus, weil sie für verschiedene Individuen nahezu identisch gehalten werden können. Durch gleichbleibende Temperatur und gleichbleibenden künstlich erzeugte Tag-Nacht-Zeiten blieb die zirkadiane Rhythmik der Tiere unbeeinflusst und unterschiedliche Jahreszeiten als Störfaktor auf das Fressverhalten der Versuchstiere wurde weitestgehend unterbunden. Die Fütterung betreffend, konnte bei den Tieren, die Futter zur freien Verfügung hatten, nicht bestimmt werden, wie viel sie täglich tatsächlich zu sich nahmen und ein Verhältnis von Kalorienaufnahme zu Gewicht oder Cholesterinkonzentrationen dargestellt werden. Auch lässt sich kein Vergleich der Aufnahme von Western-Diät zu normaler Diät darstellen. Lediglich bei den Tieren mit rationiertem Futter, die in Einzelkäfigen lebten, ließe sich dahingehend eine Bilanz aufstellen. Die Futterknappheit bei dieser Kohorte könnte in Käfigen mit mehreren Tieren dazu geführt haben, dass dominante Tiere mehr Nahrung zu sich nehmen konnten. Der Einfluss der Haltung der Tiere in Gruppen und alleine hat Einfluss auf die Stresslevel der Tiere (Brown und Grunberg, 1995) (Kamakura et al., 2016). Stress wiederum kann zu erhöhter Nahrungsaufnahme und konsekutiv erhöhtem Körpergewicht führen (Jeong et al., 2013) sowie die LDL-Cholesterinkonzentration erhöhen (Füchsl et al., 2013). Mäuse, die aufgrund

von aggressivem Verhalten gegenüber Artgenossen im gleichen Käfig isoliert gehalten werden mussten, könnten zu Hyperaktivität geneigt haben (Vöikar et al., 2005), was wiederum zumindest bei der kalorienreduzierten Gruppe zu reduziertem Gewicht und erniedrigtem Gesamt- und LDL-Cholesterinwerten (Jakicic et al., 2015) sowie zu erhöhten HDL-Cholesterinwerten (Carson et al., 2013) geführt haben könnte. Bei betroffenen Tieren der anderen Fütterungsregime ist nicht zu eruieren, ob die Hyperaktivität oder die durch isolierte Haltung stressinduzierte mögliche vermehrte Futteraufnahme einen stärkeren Effekt auf die untersuchten Parameter hatte. Das Wiegen fand in einer Zeitspanne statt, in denen das Gewicht nicht unterschiedlichen individuellen Entwicklungsstufen der Tiere unterliegen konnte. Alle Tiere waren sicher nicht mehr pubertär und noch nicht im Senium angelangt. Dies gilt ebenso für den Zeitpunkt der Tötung (Mouse Genome Informatics, 2017). Die Tötung mittels CO₂ Inhalation hat keinen Einfluss auf die Cholesterinkonzentrationen (Paula et al., 2017). Die Herzpunktion zur Blutgewinnung birgt das Risiko einer Punktion des in der Nähe gelegenen Ductus thoracicus. Dies könnte eine falsche HDL-Cholesterinmessung zur Folge haben, da Lymphe und Serum unterschiedliche Konzentrationen von HDL-Cholesterin aufweisen (Nanjee et al., 2001). Die Werte der Tiere, die vor der Tötung verstarben, wurden nicht berücksichtigt. Sollten hohes Körpergewicht oder Dyslipidämie bzw. die Manifestationen der beiden zum vorzeitigen Tod geführt haben, entgingen der Gesamtstatistik verändernde Werte der Messung.

4.2.2 Cholesterinbestimmung

Zur Serengewinnung wurden die Blutproben zentrifugiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei -20° C tiefgefroren. Die Gesamtcholesterinkonzentration wurde getrennt von der HDL- und LDL-Cholesterinkonzentration, jedoch nach dem gleichen Prinzip bestimmt. Das HDL-Cholesterin wurde mittels Präzipitation und Zentrifugation von der LDL-Cholesterin-Fraktion getrennt und

dann eine indirekte optische Dichtemessung nach Zugabe von NAD und Cholinesterase-Enzym durchgeführt. Zur genaueren Bestimmung wurde mit zwei Standards gearbeitet und deren Summe gemittelt. Als Fehlerquellen kommen hier in erster Linie Pipettierfehler in Betracht. Bei der Trennung von HDL- und LDL-Cholesterin war es notwendig, den LDL-cholesterinhaltigen Überstand von dem HDL-Pellet zu pipettieren. Ein nicht vollständiges Abpipettieren des Überstands hätte eine zu hoch gemessene HDL-Cholesterinkonzentration zur Folge gehabt, wobei eine versehentliche Mitnahme von den Teilen des HDL-Pellets eine falsch hohe LDL- und falsch niedrige HDL-Cholesterinkonzentration zur Folge gehabt hätte. Diese potenzielle Fehlerquelle ließe sich mit der Verwendung von zwei je HDL- und LDL-cholesterinspezifischen Cholinesterase-Enzymen umgehen. Durch das Auftauen der Proben kann es durch Ausfällung eines Teils der VLDL, die mit dem verwendeten Kit mitgemessen wurden, zu falsch niedrigen LDL-Cholesterinkonzentrationsmessungen gekommen sein (Buddecke und Fischer, 1992). Eine sofortige Probenverarbeitung hätte dies verhindern können. Bei hohen Triglyceridwerten über 1000 mg/dl kann die HDL-Wertbestimmung beeinträchtigt werden (Buddecke und Fischer, 1992). Eine zusätzliche Messung der Triglyceride hätte zum Ausschluss betroffener Proben führen können. Im Gegensatz zur im klinischen Alltag noch häufig genutzten Friedewald-Methode, bei der die LDL-Cholesterinkonzentration mittels der Formel: $\text{LDL-Cholesterin} = \text{Gesamtcholesterin} - \text{HDL-Cholesterin} - \frac{\text{Triglyceridwert}}{5}$ abgeschätzt wird und die bei hohen Triglyceridwerten oft falsche LDL Werte liefert, ist die verwendete direkte Methode im Vergleich überlegen (Anwar et al., 2014). Angeborene Fettstoffwechselstörungen, die mit veränderten Gesamt-, HDL- oder LDL-Konzentrationen einhergehen, können die Ergebnisse beeinträchtigen. Mit Prävalenzen von 1:500 – 1:200 für die familiäre Hypercholesterinämie (Brice et al., 2013) und 1:100 – 1:50 für die familiäre kombinierte Hyperlipidämie (Eichenbaum-Voline et al., 2004) sowie für weitere primäre Fettstoffwechselstörungen wäre es somit bei der Größe des untersuchten Kollektivs statistisch wahrscheinlich, dass sich einige so erkrankte Individuen

darin befanden. Hinzu kommen Erkrankungen, die eine sekundäre Veränderung der untersuchten Cholesterine bedingen wie beispielsweise: Diabetes mellitus, Hypothyreose, Nieren- und Lebererkrankungen (Biesalski et al., 2010). Für beide genannten Gruppen ist die Diät nicht als haupteinflussnehmender Faktor auf die Cholesterinwerte zu interpretieren. Um ein genaueres Ergebnis zu erhalten, hätte die Kohorte auf das Vorhandensein dieser Erkrankungen untersucht und betroffene Individuen ausgeschlossen werden müssen.

4.2.3 Gewichtsmessung

Die Gewichtsmessung fand im Alter von 2, 4 und 6 Monaten statt. Für die Gewichtsmessung der ersten aller Messzeitpunkte wurden die Tiere 12 Stunden nüchtern belassen. Einige Tiere setzten bei Tötung Kot oder Urin ab, gewogen wurden jedoch nur die Tiere, wodurch abweichende Gewichtswerte zustande gekommen sein könnten. Ein weiterer Aspekt sind individuelle Unterschiede in der Darmpassage, die mit 8 - 14 Stunden angegeben wird (Pies-Schulz-Hofen, 2004). Dementsprechend waren Tiere, die vor der Messung noch keinen Kot abgesetzt hatten schwerer als solche, bei denen die Darmpassage noch nicht abgeschlossen war. Diverse Erkrankungen gehen mit Gewichtsverlust einher. Sofern die Mäuse nicht aufgrund von Abbruchkriterien aus dem Versuch ausgeschlossen wurden, ist es möglich, dass Gewichte solcher Tiere bestimmt wurden und ihr Gewicht fälschlicherweise ihrer Diät oder anderen Umständen attribuiert wurde. Die Körpergewichtsmessung lässt keine Rückschlüsse auf die prozentuale Zusammensetzung der einzelnen Körperbestandteile, die zum gemessenen Körpergewicht geführt haben, zu. Die individuelle Körpergröße der Mäuse variiert (Berry, 1970). Der Einfluss der Körpergröße auf das Gewicht blieb somit ebenso unbeachtet wie Unterschiede in der Muskelmasse oder im Skelettaufbau. Ein genaueres Maß für die Abschätzung einer Adipositas hätte die Bestimmung des BMI, des Taillenumfangs oder der Taillen-Hüft-Ratio ergeben. Im besonderen Hinblick

auch auf die Abschätzung des kardiovaskulären Risikos (Dalton et al., 2003).

4.3 Diskussion der Ergebnisse

4.3.1 Zusammengefasste Diskussion aller Gewichtsmessungen

Die kontinuierliche Gewichtszunahme im untersuchten Zeitraum und die höheren Gewichte bei Western-Diät-Mäusen im Vergleich zu Kontroll-Diät-Mäusen wurden auch von List et al. (List et al., 2013) und Desmarchelier et al. (Desmarchelier et al., 2012) gezeigt. Die Gewichte der Kontrolldiätmäuse im Vergleich mit List et al. differieren nur wenig, jedoch wogen die Western-Diät-Mäuse in List et al.'s Studie um 48 g und somit mehr als in meiner Untersuchung. Allerdings benutzten sie eine noch fettreichere Diät und die Untersuchung wurde ausschließlich mit männlichen Mäusen einer anderen Mauslinie durchgeführt. Desmarchelier et al.'s Kontroll-Diät Mäuse erreichten bei der 2 Monatsmessung ähnliche Gewichte wie in meiner Studie, die Western-Diät-Mäuse sind mit Körpergewichten bei 40 g jedoch schwerer. Auch hier wurde mit einer fettreicheren Diät gearbeitet. Mull et al. zeigten bei MRL/MpJ-Mäusen, dass eine fettreiche Diät in größerer Körpermasse im Vergleich zu einer Kontrolldiät führt (Mull et al., 2014). Cast/EiJ-Mäuse zeigten beim Vergleich der Körpermasse unter fettreicher (20 %) im Vergleich zu fettarmer (10 %) Diät keinen Unterschied (O'Connor et al., 2014). Zu NZM2410/J- und BXD2/TyJ-Mäusen existieren diesbezüglich keine Daten. Kim et al. zeigten einen Rückgang des Körpergewichts von mit 2 g Standardfutter täglich im Gegensatz zu mit Standardfutter zur freien Verfügung gefütterten C57BL/6J db/db-Mäusen von ca. 45 g auf ca. 30 g Körpergewicht nach 12 Wochen Fütterungsregime (Kim et al., 2016). Allerdings setzten hier die unterschiedlichen Diätregime erst nach 12 Wochen ein und die Futtermenge war geringer als in meiner Studie. Büttner zeigte 1998 rassenspezifische Unterschiede im Körpergewicht und der Körperzusammensetzung beim Vergleich von NMRI-, HLG- und C57BL/6J-Mäusen, die er im Alter von 70 Tagen für 14 Wochen auf eine Standardfutter- und eine mengenreduzierte

Standardfutter Diät setzte. C57BL/6J-Mäuse verloren durch die Kalorienreduktion nicht signifikant an Körpergewicht (Büttner, 1998). MRL/lpr-Mäuse nahmen bei 40 %iger Kalorienreduktion im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ab einem gewissen Zeitpunkt nicht mehr an Gewicht zu. Die Werte stabilisierten sich, wohingegen Mäuse mit einer Kontroll-Diät ad libitum weiter an Gewicht zunahmen (Troyer et al., 1998). Für die anderen Elternstämme meiner Studie, NZM2410/J, BXD2/TyJ und Cast/EiJ wurden mittels Pubmed-Recherche keine Publikationen zu Versuchen mit kalorienreduzierter Diät gefunden. Die Rangfolge der Gewichtswerte der einzelnen Diätregime entspricht somit den erwarteten Werten. Dies gilt ebenfalls für die kontinuierliche Gewichtszunahme der Kontroll-Diät- und der Western-Diät-Gruppe. Für die kalorienreduzierte Gruppe stellte sich im Untersuchungszeitraum noch keine Gewichtsstabilisierung ein. Diese wäre im weiteren zeitlichen Verlauf bei Fortführung des Fütterungsregimes zu erwarten gewesen. Die intergenerationalen Schwankungen der Gewichtswerte bei Betrachtung gleicher Diätregime könnte auf unterschiedliche Geschlechterverhältnisse zurückzuführen sein. Männchen wiegen durchschnittlich mehr als Weibchen und dementsprechend sind die durchschnittlichen Gewichtswerte umso höher, je mehr Männchen zur Gewichtsbestimmung zur Verfügung standen. Als Ausblick wäre es interessant, die Individuen, welche trotz kalorienreduzierter Diät überdurchschnittlich hohe Gewichtswerte aufwiesen, genetisch zu untersuchen. Sollten sich Gemeinsamkeiten im Genom feststellen lassen, könnten adipöse Patienten, die einer Therapie zugeordnet werden sollen, ebenfalls genetisch getestet werden, um eventuelle Non-Responder einer kalorienreduzierten Diät zur Gewichtsreduktion frühzeitig einer operativen Therapie zuführen zu können. Für unterdurchschnittlich leichte Individuen der Kontroll-Diät und der Western-Diät-Gruppe wäre interessant herauszufinden, welche Mechanismen die Individuen vor einer Gewichtszunahme schützt, um daraus Therapieoptionen für adipöse Patienten ableiten zu können. Ansätze zum Verständnis der Physiologie haben bereits Germain et al., 2014 und Ling et al., 2016 geliefert. Im Rahmen eines

weiterführenden Projektes wurden die hier untersuchten Mausstämme bereits genetisch untersucht. Die in meinem Versuch festgestellte hohe Schwankungsbreite der gemessenen Gewichtswerte, vor allem bei den Mäusen unter Western-Diät lässt sich, die einzelnen Inzuchtstämme betrachtet, vermutlich auch durch eine genetische Kontrolle der Gewichtswerte erklären. Körpergewichtsmessungen von Cast/EiJ-Mäusen wiesen unter normaler Diät eine Standardabweichung von 1,22 auf, MRL/MpJ-Mäuse zeigten eine Standardabweichung von 1,6 (<https://phenome.jax.org/measures/25006>; Tag Des Zugriffs: 3.10.2018), NZM2410/J-Mäuse eine Standardabweichung von 1,91 (<https://phenome.jax.org/measures/31888>, Tag des Zugriffs: 3.10.2018) und BXD2/TyJ-Mäuse eine Standardabweichung von 5,66 (<https://phenome.jax.org/measures/36601>, Tag des Zugriffs 3.10.2018).

4.3.2 Cholesterinmessung NCMB-Mäuse G18

Die HDL-Konzentrationen unterschieden sich nicht bei den Western-Diät- und Kontroll-Diät-Mäusen und waren höher als die der kalorienreduzierten-Diät-Mäuse. Die LDL-Konzentrationen waren bei Western-Diät-Mäusen am höchsten, während Kontroll-Diät- und kalorienreduzierte-Mäuse keine Unterschiede aufwiesen. Die Gesamtcholesterinkonzentration folgte der absteigenden Reihenfolge Western-, Kontroll- und kalorienreduzierte-Diät-Mäuse.

4.3.3 Cholesterinmessung NCMB-Mäuse G19

Die HDL-Konzentration war bei Western-Diät-Mäusen höher als die der kalorienreduzierten-Diät-Mäuse und diese wiederum höher als die der Kontroll-Diät-Mäuse. Die LDL-Konzentration war bei Western-Diät-Mäusen am höchsten und Kalorien- und Kontroll-Diät-Mäuse unterschieden sich nicht. Die Gesamtcholesterinkonzentrationen waren in der Reihenfolge Western-, kalorienreduzierte- und Kontroll-Diät-Mäuse absteigend.

4.3.4 Cholesterinmessung NCMB-Mäuse G20

Die höchsten HDL-, LDL- und Gesamtcholesterinkonzentrationen waren je bei den Western-Diät-Mäusen zu finden. Die Kontroll-Diät-Mäuse wiesen die zweithöchsten Werte vor den kalorienreduzierten Diät-Mäusen auf.

4.3.5 Cholesterinmessung NCMB-Mäuse gesamt

Die HDL-Konzentrationen folgten der absteigenden Reihenfolge Western-Diät-, Kontroll-Diät- und kalorienreduzierte-Diät-Mäuse. LDL- und Gesamtcholesterinkonzentration waren je bei den Western-Diät-Mäusen am höchsten während Kontroll-Diät- und kalorienreduzierte-Mäuse keine Unterschiede zwischen einander aufwiesen.

4.3.6 Gesamtdiskussion Cholesterinmessung NCMB-Mäuse

O'Connor et al., zeigten 2014 höhere Gesamtcholesterinwerte bei Cast/EiJ-Mäusen, die eine fetthaltigere Diät als eine Kontrollgruppe erhalten hatten (O'Connor et al., 2014). Anders als bei dem in dieser Studie verwendeten Futter, hatten beide der verwendeten Futter den gleichen Anteil an Cholesterin. Die Zunahme des Serumcholesterins in meiner Studie ist somit zumindest nicht auf den alleinigen Anteil des in der Western-Diät enthaltenen Cholesterins zurück zu führen. Jedoch hat diätetisches Cholesterin Einfluss auf Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterinwerte. Eine Metaanalyse zeigte einen Anstieg sämtlicher zuvor genannten Cholesterinwerte als Antwort auf erhöhte mit der Nahrung zugeführte Mengen von Cholesterin. Alle drei Serumkonzentrationen veränderten sich ab dem Überschreiten einer gewissen Menge zugeführtem Nahrungscholesterin nicht mehr und die HDL-Serumkonzentration benötigte die höchsten Mengen an zugeführtem Nahrungscholesterin, um eine signifikante Erhöhung zu zeigen (> 650 mg/d) (Berger et al., 2015). Ob und in welchem

Maße das dem in meiner Studie Western-Diät-Futter zugesetzte Cholesterin Einfluss auf die einzelnen gemessenen Serumparameter hatte, ist somit nicht eindeutig zu klären. Die erhobenen Werte könnten jedoch als Grundlage für weitergehende Untersuchungen verwendet werden, bei denen ein bis auf den Cholesterinanteil identisches Futter oder mehrere im Cholesterinwert abgestufte Futter verwendet werden könnten, um eine Relation zu den daraus folgenden Veränderungen der Cholesterinwerte ableiten zu können. Desmarchelier et al. verwendeten C57Bl/6NCrl-Mäuse und setzten sie auf Kontrolldiät und Western-Diät, die ein Verhältnis der Hauptbestandteile von Fett mit 11 % zu 60 % und Kohlenhydraten von 66 % zu 21 %, sowie Cholesterin von 0 mg/kg zu 290 mg/kg Futtergewicht aufwiesen. Die medianen Werte für Gesamtcholesterin betragen für Kontroll- v.s. Western-Diät 95 mg/dl zu 181 mg/dl und für HDL-Cholesterin 71 mg/dl zu 123 mg/dl (Desmarchelier et al., 2012). Im Gegensatz zu meiner Studie (40 % zu 40,8 % Kohlenhydrate sowie 4 % zu 21 % Fett) mit resultierenden Gesamtcholesterin Werten von 134,65 mg/dl zu 151,76 mg/dl und HDL-Cholesterin Werten von 100,61 mg/dl zu 116,69 mg/dl betrachtet auf alle untersuchten Generationen zeigt den gleichen Trend, jedoch sind die Unterschiede bei Desmarchelier größer. Die Unterschiede könnten aus einer kleineren Fallzahl (n = 12), dem gleichen Geschlecht der untersuchten Tiere bei Desmarchelier und der größeren Variabilität des Genoms der untersuchten Tiere meiner Studie als auch der unterschiedlichen Futterzusammensetzung zuzuschreiben sein. Es wäre jedoch zu erwarten gewesen, dass die Tiere meiner Kontroll-Diätgruppe im Vergleich mit den Tieren der Kontroll-Diät Gruppe von Desmarchelier niedrigere Gesamtcholesterinkonzentrationen bei sowohl niedrigeren Fett- als auch Kohlenhydratanteilen in ihrem zur Verfügung stehenden Futter aufweisen. Daraus folgt, dass die unterschiedliche Höhe der eben angesprochenen Werte am ehesten nicht dem verwendeten Futter zu Grunde liegen, es sei denn die Fett- und Kohlenhydratanteile, welche kausal für erhöhte Gesamtcholesterin- und HDL-Cholesterinwerte verantwortlich sind, wären in meinem verwendeten Futter höher gewesen. Dies war jedoch nicht zu eruieren. Welche Entitäten von Fett oder Kohlenhydraten unterschiedlichen

Einfluss auf die gemessenen Cholesterinkonzentrationen haben, soll in der weiteren Diskussion aufgegriffen werden. Rivellese et al. zeigten anhand von zwei isoenergetischen Diäten mit gleichem Gehalt an Fett, aber einer Diät reich an gesättigten und einer Diät reich an ungesättigten Fettsäuren höhere LDL-Konzentrationen bei Individuen, die sich von der reich an gesättigten Fettsäuren Diät ernährten hatten (Rivellese et al., 2003). Im Vergleich einer Diät reich an Transfettsäuren mit einer Diät reich an Ölsäure, einer einfach ungesättigten Fettsäure, und einer Diät reich an gesättigten Fettsäuren, zeigten sich bei den untersuchten Individuen die niedrigsten Gesamtcholesterin-Werte bei der Ölsäure, gefolgt von der Transfett- und der gesättigten Fettsäure-Diät. LDL-Werte waren bei der gesättigten Fettsäure-Diät vor der Transfett-, gefolgt von der Ölsäurediät, am höchsten. Die höchsten HDL-Werte resultierten aus der gesättigten Fettsäure- vor der Ölsäure-, gefolgt von der Transfettsäure-Diät (Mensik und Katan, 1990). Welsh et al. zeigten eine Verschlechterung des kardiovaskulären Blutprofils im Sinne einer LDL-Cholesterin-Erhöhung und HDL-Erniedrigung bei zunehmenden Mengen von Zucker in der aufgenommenen Nahrung (Welsh et al., 2010). Einen positiven Effekt auf LDL- und HDL-Konzentrationen konnten Diäten in Studien erzielen, die entweder reich an komplexen Kohlenhydraten oder an einfach ungesättigten Fettsäuren waren (Archer et al., 2003). Wolfe und Giovanetti erzielten ähnliche Ergebnisse im Sinne einer LDL- und Gesamtcholesterin-Senkung, sowie HDL-Cholesterin-Erhöhung mit einer proteinreichen im Vergleich zu einer proteinarmen Diät bei gleichem Fettgehalt, die jedoch reicher an Kohlenhydraten war (Wolfe und Giovanetti, 1991). Aus den vorhergehenden Informationen ergibt sich die Frage, welcher diätetische Ansatz den besten Effekt auf den Cholesterinstoffwechsel verspricht. Appel et al. verglichen hierzu 3 nachweislich gesundheitsfördernde Diäten, alle arm an gesättigten Fettsäuren, eine reich an komplexen Kohlenhydraten, eine reich an ungesättigten Fettsäuren und eine reich an Proteinen. Die niedrigsten LDL-Konzentrationen wurden bei der proteinreichen Diät gefunden, jedoch mit einhergehenden niedrigeren HDL-Konzentrationen im Vergleich zu den anderen Diäten. Die HDL-Konzentrationen

wiederum waren bei der ungesättigten Fettsäuren-Diät am höchsten. Bezogen auf das 10-Jahres-Risiko zur Entwicklung einer koronaren Herzerkrankung, waren die proteinreiche Diät und die Diät reich an ungesättigten Fettsäuren der Kohlenhydrat-Diät in gleichem Maße überlegen (Appel et al., 2005). Bezüglich des Einflusses einer kalorienreduzierten Diät auf den Cholesterinstoffwechsel, dokumentierten Fontana et al. erniedrigte Gesamt- und LDL-Konzentrationen sowie erhöhte HDL-Konzentrationen als Folge einer kalorienreduzierten Diät nach einem Jahr bei 18 Menschen im Vorher- Nachher-Vergleich (Fontana et al., 2004). Eine andere Studie zeigt niedrigere Gesamt-, LDL- und HDL-Konzentrationen als Folge einer Kalorienreduktion (Verdery et al., 1998). Über die Gesamtheit aller untersuchten Generationen konnte, mit Ausnahme der untersuchten Generation 19, das Ergebnis einer HDL-Erhöhung durch Kalorienreduktion nicht reproduziert werden. Eine Erniedrigung der HDL-Konzentration sowie kein signifikanter Unterschied bezüglich LDL- und Gesamtcholesterin beim Vergleich von kalorienreduzierter zu Kontrolldiät waren das Ergebnis. Es gibt jedoch in den zwei vorangehend beschriebenen Studien keine Information über die genaue Relation von Kontrolldiät zu kalorienreduzierter Diät, bzw. der genauen Zusammensetzung der einzelnen Nahrungsregime. Auch erfolgten die Versuche nicht unter Laborbedingungen sondern an Menschen in natürlicher Umgebung, waren also einem nicht so starken Kontrollmechanismus wie die Tiere meiner Kohorte ausgeliefert und dementsprechend störungsanfälliger. Insgesamt erscheint eine Kalorienreduktion jedoch einem günstigen Cholesterinprofil zuträglich, es sei denn, sie wird so exzessiv betrieben, dass aus ihr eine Mangelsituation entsteht. Die einzelnen Nahrungsbestandteile sind essenziell auch bei isokalorischen Diäten mit Fokus auf die Cholesterinhomöostase und ihr Zusammenwirken komplex. Ausblickend wäre eine Untersuchung analog den Tieren mit niedrigen Gewichtswerten trotz Western-Diät im Sinne eines günstigen kardiovaskulären Cholesterinrisikoprofils bei eben genannter Diät interessant, um neue Erkenntnisse zur Ableitung von medikamentösen Therapien einer Hypercholesterinämie zu gewinnen. Ebenso als Grundlage für

die Früherkennung von für eine „ungesunde“ Diät anfälligen Patienten für eine Hypercholesterinämie, abgeleitet von Mäusen mit hohen LDL-Cholesterinwerten über alle Diätregime. Zur genaueren Abschätzung der Gefährdung für die Gesundheit durch ungünstige Cholesterin-Profile schließlich wäre es noch interessant, die vorher beschriebene HDL-Efflux-Capacity der Individuen der einzelnen Diätregime zu untersuchen und zu vergleichen, da sie ein differenzierteres Bild als der bloße Vergleich der absoluten Konzentrationen der HDL-Konzentrationen zu versprechen scheint. Darüber hinaus wurde eine hohe Schwankungsbreite bei allen gemessenen Cholesterinwerten des verwendeten Auszuchtstammes NCMB festgestellt. Verglichen mit Werten der Inzuchtstämme, beispielsweise BXD2/TyJ mit einer Standardabweichung bei LDL-Cholesterinwerten von 8,76 (<https://phenome.jax.org/measures/46402>, Tag des Zugriffs: 3.10.2018), MRL/MpJ mit einer Standardabweichung bei Gesamtcholesterinwerten von 19,1, NZM2410/J mit einer Standardabweichung bei Gesamtcholesterinwerten von 19,5 und Cast/EiJ mit einer Standardabweichung bei Gesamtcholesterinwerten von 18,6 (die drei letztgenannten: <https://phenome.jax.org/measures/31841>, Tag des Zugriffs: 3.10.2018), deuten die hier erhobenen Ergebnisse auf eine genetische Kontrolle hin, was in einem weiterführenden Projekt eingehender untersucht wurde.

4.3.7 Cholesterinmessung NZM2410/J-Mäuse

Die Cholesterinmessung in Zusammenhang mit diesem Projekt sollte aufzeigen, ob Cyclodextrin einen Einfluss auf die Serumcholesterinkonzentrationen besitzt und sich dieser mit den durch das Projekt erzielten Ergebnissen in Einklang bringen ließ. Bei den untersuchten Mäusen waren erhöhte LDL-Cholesterinkonzentrationen mit erhöhter Inzidenz von Nephritis assoziiert. Die Inzidenz der Nephritis sank signifikant bei Gabe von Cyclodextrin. Bezüglich der Cholesteinkonzentrationen zeigte die Cyclodextringabe eine signifikante Verringerung der HDL-, LDL- und

Gesamtcholesterinkonzentration bei Kontroll-Diät-Mäusen nicht aber bei Western-Diät-Mäusen. HDL- LDL- und Gesamtcholesterinkonzentration unterschieden sich nicht zwischen Western-Diät- und Kontroll-Diät-Mäusen. Wagner et al. fütterten zwei Gruppen von LDLr-KO-Mäusen mit einer isokalorischen Western-Diät, wobei einer Diät alpha-Cyclodextrin zugesetzt wurde. Gesamt- und LDL-Konzentrationen waren in der Cyclodextrin-Gruppe signifikant niedriger, wohingegen die HDL-Konzentrationen keine Unterschiede aufwiesen (Wagner et al., 2008). Ein anderes Experiment mit subkutaner Gabe von 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin ebenfalls bei LDLr-KO-Mäusen mit vergleichbaren Diätregimen führte zu keiner Veränderung der Gesamtcholesterin-Konzentration bei Gabe von Cyclodextrin oder Placebo innerhalb der Western-Diät-Gruppe (Walenbergh et al., 2015). In einem Versuch mit Ratten reduzierte der Nahrungszusatz von beta-Cyclodextrin Gesamt-, LDL- und HDL-Konzentrationen (Favier et al., 1995). Bei erhöhter Kalorienzufuhr scheint Cyclodextrin keinen wesentlichen Effekt auf die Cholesterinhomöostase ausüben zu können, was die Verwendung als Pharmazeutikum nur in Kombination mit einer ausgewogenen Ernährung sinnvoll erscheinen lässt. Inwiefern die Reduktion aller drei untersuchter Cholesterinwerte günstig auf vor allem die kardiovaskuläre Gesundheit ist, könnte mit Untersuchungen der arteriellen Gefäße der Versuchstiere auf Plaques ermittelt werden. Eine neue Versuchsreihe mit einer größeren Kohorte könnte bezüglich des Langzeitüberlebens der Individuen und anschließender Untersuchung der Tiere nach ihrem natürlichen Tod etabliert werden. Darüber hinaus wäre eine genauere Analyse der Subfraktionen der LDL-Konzentrationen zur Abschätzung des kardiovaskulären Risikos interessant, da bekannt ist, dass die small-dense Subfraktion des LDL eine größere Aussagekraft auf das kardiovaskuläre Risiko eines Individuums hat als die LDL-Konzentration allein (Hoogeveen et al., 2014).

5 Zusammenfassung

Der moderne Lebensstil, vor allem in der industrialisierten Welt, einhergehend mit freier Verfügbarkeit von hochkalorischen Lebensmitteln und oftmals mangelnder körperlicher Bewegung in Beruf und Freizeit, hat dazu geführt, dass Adipositas und Dyslipidämie in den letzten Jahren zu stetig wachsenden Problemen unserer Gesellschaft geworden sind. Ziel der durchgeführten Arbeit war es, den Einfluss kalorienreduzierter, normaler und eine der Ernährung des modernen Menschen nachempfundenen fett- und kalorienreichen Western-Diät auf die Parameter Körpergewicht und Cholesterinstoffwechsel zu untersuchen. Hierfür wurden die Serum-Gesamtcholesterin-, -HDL-, und -LDL-Werte und das Körpergewicht von drei aufeinander folgenden Generationen von Mäusen eines Auszuchtstammes untersucht. Die Seren von 816 sowie die Gewichte von 810 Mäusen konnten untersucht werden. Während die Seren nach Tötung der Mäuse im Alter von 6 Monaten analysiert wurden, fanden Gewichtsmessungen auch im zeitlichen Verlauf statt. In allen drei Generationen hatten die Mäuse der Western-Diät-Gruppe zu allen Messzeitpunkten mit zwei Ausnahmen die höchsten Gewichtswerte, jeweils gefolgt von den Mäusen mit normaler und kalorienreduzierter Diät. In der Western-Diät- und der kalorienreduzierten Gruppe wurde zusätzlich eine intergenerationale Gewichtszunahme beobachtet. Die HDL-, LDL- und Gesamtcholesterinwerte waren bei den Western-Diät-Mäusen stets am höchsten. Die Mäuse mit normaler Diät zeigten mit einer Ausnahme stets die zweithöchsten Werte. Die Werte der Mäuse mit kalorienreduzierter Diät zeigten in etwa der Hälfte der Fälle keine signifikanten Abweichungen dazu. Wenn doch, so stellten sie die untersuchte Gruppe mit den niedrigsten Cholesterinwerten dar. Zusätzlich wurde der Einfluss von Cyclodextrin auf oben genannte Cholesterinwerte in einer Kohorte von 50 Mäusen eines Inzuchtstammes untersucht. Cyclodextrin senkte nur in der Kontroll-Diät-, nicht aber in der Western-Diät-Kohorte signifikant die Werte von Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin. Somit konnte im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden, dass ein Mäuseauszuchtstamm geeignet ist, den Einfluss von Diät auf metabolische Phänotypen zu untersuchen. Dies stellt die Grundlage

zur Untersuchung des Zusammenspiels der Genetik und Umwelt (Diät) auf diese Phänotypen dar.

6 Literaturverzeichnis

1. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR) *Atherosclerosis* 253 (2016) 281-344.
2. AACE 2017 Guidelines, American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Guidelines for Management of Dyslipidemia and Prevention of Cardiovascular Disease
3. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. 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 Oct 20; 120 (16): 1640-5.
4. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus: provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998; 15: 539–553.
5. Al-Hamodi Z, AL-Habori M, Al-Meerri A, Saif-Ali R. Association of adipokines, leptin/adiponectin ratio and C-reactive protein with obesity and type 2 diabetes mellitus. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 2014, 6: 99.

-
6. American Diabetes Association, Dyslipidemia Management in Adults with Diabetes. *Diabetes Care* 2004 Jan; 27; 68-71.
 7. Anwar M, Khan DA, Khan FA. Comparison of friedewald formula and modified friedewald formula with direct homogeneous assay for low density lipoprotein cholesterol estimation. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2014 Jan; 24 (1): 8-12.
 8. Appel LJ, Sacks FM, Carey VJ, Obarzanek E, Swain JF, Miller ER 3rd, Conlin PR, Erlinger TP, Rosner BA, Laranjo NM, Charleston J, McCarron P, Bishop LM, OmniHeart Collaborative Research Group. Effects of protein, monounsaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids: results of the OmniHeart randomized trial. *JAMA.* 2005 Nov 16; 294 (19): 2455-64.
 9. Archer WR, Lamarche B, St-Pierre AC, Mauger JF, Dériaz O, Landry N, Corneau L, Després JP, Bergeron J, Couture P, Bergeron N. High carbohydrate and high monounsaturated fatty acid diets similarly affect LDL electrophoretic characteristics in men who are losing weight. *J Nutr.* 2003 Oct ;133 (10): 3124-9.
 10. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation: European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med.*, 1999, 16, 442–443.
 11. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res.* 2004 Oct 15; 95 (8): 764-72.
 12. Berger S, Raman G, Vishwanathan R, Jacques PF, Johnson EJ. Dietary cholesterol and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* August 2015 vol. 102 no. 2 276-294.
 13. Berry, R.J. The natural history of the house mouse. *Field Studies.* Field Studies Council 1970, 3: 219–62.
 14. Biesalski HK, Bischoff SC, Puchstein C. *Ernährungsmedizin: Nach dem Curriculum Ernährungsmedizin der Bundesärztekammer und der DGE.* Gebundene Ausgabe. Thieme Verlag, Stuttgart New York, 2010, 4. Auflage, S: 521.
 15. Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, Pedersen TR, LaRosa JC, Nestel PJ, Simes RJ, Durrington P, Hitman GA, Welch KM, DeMicco DA,

-
- Zwinderman AH, Clearfield MB, Downs JR, Tonkin AM, Colhoun HM, Gotto AM Jr, Ridker PM, and Kastelein JJ. Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B-levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: a meta-analysis. *JAMA*. 2012; 307: 1302–1309.
16. Brice P, Burton H, Edwards CW, Humphries SE, Aitman TJ. Familial hypercholesterolaemia: a pressing issue for European health care. *Atherosclerosis*. 2013 Dec; 231 (2): 223-6.
 17. Brown KJ, Grunberg NE. Effects of housing on male and female rats: crowding stresses male but calm females. *Physiol Behav*. 1995 Dec; 58 (6): 1085-9.
 18. Buddecke E und Fischer M: Pathophysiologie, Pathobiochemie, klinische Chemie: für Studierende der Medizin und Ärzte, de Gruyter Verlag, Berlin, 1992, S. 134.
 19. Büttner D.: Energie- und proteinreduziertes Futter – Körpergewichtsentwicklung, Futtermittelverbrauch und Körpermerkmale im Vergleich zum Standardfutter. *Ssniff informationen*, 1998 Nr. 70: 902-906.
 20. Carson V, Ridgers ND, Howard BJ, Winkler EA, Healy GN, Owen N, Dunstan DW, Salmon J. Light-intensity physical activity and cardiometabolic biomarkers in US adolescents. *PLoS One*. 2013 Aug 9; 8 (8): e71417. Datum des Zugriffs: 28.08.2017.
 21. Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, et al. HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation*. 1977; 55: 767–72.
 22. Castelli WP, Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study. *The Canadian Journal of Cardiology* 1988, 4 Suppl A: 5A-10A.
 23. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration Protocol for a prospective collaborative overview of all current and planned randomized trials of cholesterol treatment regimens. *Am J Cardiol*. 1995; 75 (16): 1130–1134.

-
24. Clark JE, Diet, exercise or diet with exercise: comparing the effectiveness of treatment options for weight-loss and changes in fitness for adults (18–65 years old) who are overfat, or obese; systematic review and meta-analysis. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2015; 14; 31.
 25. Creatore MI, Glazier RH, Moineddin R, Fazli GS, Johns A, Gozdyra P, Matheson FI, Kaufman-Shriqui V, Rosella LC, Manuel DG, Booth GL. Association of Neighborhood Walkability With Change in Overweight, Obesity, and Diabetes. *JAMA*. 2016; 315 (20): 2211–2220.
 26. Christakis NA und Fowler JH. The spread of obesity in a large social network over 32 years. *N Engl J Med*. 2007 July 26; 357 (4): 370–379.
 27. Dalton M, Cameron AJ, Zimmet PZ, Shaw JE, Jolley D, Dunstan DW, Welborn TA; AusDiab Steering Committee. Waist circumference, waist-hip ratio and body mass index and their correlation with cardiovascular disease risk factors in Australian adults. *J Intern Med*. 2003 Dec; 254 (6): 555-63.
 28. Danne T, Kordonouri O. Adipositas, Diabetes und Fettstoffwechselstörungen im Kindesalter. Band 1, de Gruyter Verlag, Berlin, 2016, S. 8.
 29. Davidson MH, Hauptman J, DiGirolamo M, et al. Weight control and risk factor reduction in obese subjectstreated for 2 years with orlistat: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999; 281: 235–242.
 30. Dekker JM, Girman C, Rhodes T, et al. Metabolic syndrome and 10-year cardiovascular disease risk in the Hoorn Study. *Circulation* 2005; 112: 666–673.
 31. Desmarchelier C, Dahlhoff C, Keller S, Sailer M, Jahreis G, Daniel H. C57Bl/6 N mice on a western diet display reduced intestinal and hepatic cholesterol levels despite a plasma hypercholesterolemia. *BMC Genomics*, 2012, 13, 84.
 32. Deutsche Adipositas-Gesellschaft (DAG) e.V., Deutsche Diabetes Gesellschaft (DDG), Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) e.V., Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin (DGEM) e.V., Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur „Prävention und Therapie der Adipositas“ (2014), Version 2.0, April 2014, 050/001.

-
33. Deutsche Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie, S3-Leitlinie: Chirurgie der Adipositas und metabolischer Erkrankungen, Version 2.3 (Februar 2018), 088-001.
 34. Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaften: <http://www.dgfett.de/material/fszus.php> Datum des Zugriffs: 02.04.2017.
 35. Di Angelantonio E, Gao P, Pennells L, Kaptoge S, Caslake M, Thompson A, Butterworth AS, Sarwar N, Wormser D, Saleheen D, Ballantyne CM, Psaty BM, Sundström J, Ridker PM, Nagel D, Gillum RF, Ford I, Ducimetiere P, Kiechl S, Koenig W, Dullaart RP, Assmann G, D'Agostino RBSr, Dagenais GR, Cooper JA, Kromhout D, Onat A, Tipping RW, Gómez-de-la-Cámara A, Rosengren A, Sutherland SE, Gallacher J, Fowkes FG, Casiglia E, Hofman A, Salomaa V, Barrett-Connor E, Clarke R, Brunner E, Jukema JW, Simons LA, Sandhu M, Wareham NJ, Khaw KT, Kauhanen J, Salonen JT, Howard WJ, Nordestgaard BG, Wood AM, Thompson SG, Boekholdt SM, Sattar N, Packard C, Gudnason V und Danesh J. Emerging Risk Factors Collaboration. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. *JAMA*. 2012; 307: 2499–2506.
 36. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, Wood AM, Lewington S, Sattar N, Packard CJ, Collins R, Thompson SG, Danesh J. Emerging Risk Factors Collaboration. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA* 2009; 302: 1993–2000.
 37. Eichenbaum-Voline S, Olivier M, Jones EL, Naoumova RP, Jones B, Gau B, Patel HN, Seed M, Betteridge DJ, Galton DJ, Rubin EM, Scott J, Shoulders CC, Pennacchio LA. Linkage and association between distinct variants of the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Jan; 24 (1): 167-74.
 38. Ervin RB. Prevalence of metabolic syndrome among adults 20 years of age and over, by sex, age, race and ethnicity, and body mass index: United States, 2003–2006. *Natl Health Stat Report* 2009; 5: 1–7.
 39. Favier ML, Rémésy C, Moundras C, Demigné C. Effect of cyclodextrin on plasma lipids and cholesterol metabolism in the rat. *Metabolism*. 1995 Feb; 44 (2): 200-6.

-
40. Fontana L, Meyer TE, Klein S, Holloszy JO. Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101 (17), 6659–6663.
 41. Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care* 2005; 28: 2745–2749.
 42. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 2007; 316: 889–894.
 43. French SA, Story M und Jeffery RW. Environmental influences on eating and physical activity. *Annu Rev Public Health* 2001; 22: 309–335.
 44. Füchsl AM, Uschold-Schmidt N, Reber SO. Chronic psychosocial stress in male mice causes an up-regulation of scavenger receptor class B type 1 protein in the adrenal glands. *Stress*. 2013 Jul; 16 (4): 461-8.
 45. Galassi A, Reynolds K und He J. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Am J Med* 2006; 119: 812–819.
 46. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: The Framingham study. *The American Journal of Medicine*. 1977; 62: 707–14.
 47. Gößwald A, Schienkiewitz A, Nowossadeck E, Busch MA. Abteilung für Epidemiologie und Gesundheitsmonitoring, Robert-Koch-Institut, Berlin. Prävalenz von Herzinfarkt und koronarer Herzkrankheit bei Erwachsenen im Alter von 40 bis 79 Jahren in Deutschland Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1). *Bundesgesundheitsbl.* 2013; 56: 650–655.
 48. Gotto AM. Jeremiah Metzger Lecture: Cholesterol, Inflammation and Atherosclerotic Cardiovascular Disease: Is It All LDL? *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*. 2011; 122: 256-289.
 49. Greenway FL, Fujioka K, Plodkowski RA, et al. Effect of naltrexone plus bupropion on weight loss in overweight and obese adults (COR-1): a

- multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376: 595–605.
50. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Spertus JA, Costa F. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement *Circulation*. 2005; 112: 2735-2752.
 51. Hao W, Friedman A. The LDL-HDL Profile Determines the Risk of Atherosclerosis: A Mathematical Model. *PLoS One*. 2014; 9 (3): e90497.
 52. Hernáez Á, Castañer O, Elosua R, Pintó X, Estruch R, Salas-Salvadó J, Corella D, Arós F, Serra-Majem L, Fiol M, Ortega-Calvo M, Ros E, Martínez-González MA, de la Torre R, López-Sabater MC, Fitó M Mediterranean Diet Improves High-Density Lipoprotein Function in High-Cardiovascular-Risk Individuals A Randomized Controlled Trial *Circulation*; 2017; 135: 633-643.
 53. Hofker M und Wijmenga C. A supersized list of obesity genes. *Nat Genet* 2009; 41: 139–140.
 54. Holmes MV, Asselbergs FW, Palmer TM, Drenos F, Lanktree MB, Nelson CP, Dale CE, Padmanabhan S, Finan C, Swerdlow DI, Tragante V, van Iperen EP, Sivapalaratnam S, Shah S, Elbers CC, Shah T, Engmann J, Giambartolomei C, White J, Zabaneh D, Sofat R, McLachlan S; UCLEB consortium, Doevendans PA, Balmforth AJ, Hall AS, North KE, Almoguera B, Hoogeveen RC, Cushman M, Fornage M, Patel SR, Redline S, Siscovick DS, Tsai MY, Karczewski KJ, Hofker MH, Verschuren WM, Bots ML, van der Schouw YT, Melander O, Dominiczak AF, Morris R, Ben-Shlomo Y, Price J, Kumari M, Baumert J, Peters A, Thorand B, Koenig W, Gaunt TR, Humphries SE, Clarke R, Watkins H, Farrall M, Wilson JG, Rich SS, de Bakker PI, Lange LA, Davey Smith G, Reiner AP, Talmud PJ, Kivimäki M, Lawlor DA, Dudbridge F, Samani NJ, Keating BJ, Hingorani AD, Casas JP. Mendelian randomization of blood lipids for coronary heart disease. *Eur Heart J* 2015; 36: 539–550.
 55. Holsten JE. Obesity and the community food environment: a systematic review. *Public Health Nutrition*, Volume 12, Issue 3 March 2009, 397-405.
 56. Hoogeveen RC, Gaubatz JW, Sun W, Dodge RC, Crosby JR, Jiang J, Ballantyne CM. Small Dense LDL Cholesterol Concentrations Predict

Risk for Coronary Heart Disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2014, 34 (5), 1069–1077.

57. <http://jaxmice.jax.org/strain/000075.html> (Tag des Zugriffs: 11.04.2015).
58. <http://jaxmice.jax.org/strain/000486.html> (Tag des Zugriffs: 11.04.2015).
59. <http://jaxmice.jax.org/strain/000928.html> (Tag des Zugriffs: 11.04.2015).
60. <http://jaxmice.jax.org/strain/002676.html> (Tag des Zugriffs: 11.04.2015).
61. <https://phenome.jax.org/measures/25006> (Tag des Zugriffs: 3.10.2018).
62. <https://phenome.jax.org/measures/31841> (Tag des Zugriffs: 3.10.2018).
63. <https://phenome.jax.org/measures/31888> (Tag des Zugriffs: 3.10.2018).
64. <https://phenome.jax.org/measures/36601> (Tag des Zugriffs: 3.10.2018).
65. <https://phenome.jax.org/measures/46402> (Tag des Zugriffs: 3.10.2018).
66. <http://www.adipositas-gesellschaft.de/index.php?id=39> (Tag des Zugriffs: 09.10.2016).
67. <http://www.informatics.jax.org/silver/chapters/4-3.shtml>, Mouse Genom Informatics (Tag des Zugriffs: 31.03.2017).
68. Jakicic JM, King WC, Marcus MD, Davis KK, Helsel D, Rickman AD, Gibbs BB, Rogers RJ, Wahed A, Belle SH. Short-Term Weight Loss with Diet and Physical Activity in Young Adults: the IDEA Study. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 2015, 23 (12), 2385–2397.
69. Jean-Pierre Despres Abdominal obesity: the most prevalent cause of the metabolic syndrome and related cardiometabolic risk. *European Heart Journal Supplements* (2006) 8 (Supplement B), B4–B12.
70. Jeong JY, Lee DH, Kang SS. Effects of chronic restraint stress on body weight, food intake, and hypothalamic gene expressions in mice. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2013 Dec; 28 (4): 288-96.
71. Kamakura R, Kovalainen M, Leppäluoto J, Herzig KH, Mäkelä KA. The effects of group and single housing and automated animal monitoring on

- urinary corticosterone levels in male C57BL/6 mice. *Physiol Rep*. 2016 Feb; 4 (3). e12703.
72. Kant AK und Graubard BI. Secular trends in patterns of self-reported food consumption of adult Americans: NHANES 1971–1975 to NHANES 1999–2002. *Am J Clin Nutr*. 2006 November; 84(5): 1215–1223.
 73. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989; 149: 1514–1520.
 74. Kaur Y, de Souza RJ, Gibson WT, Meyre D. A systematic review of genetic syndromes with obesity. *Obesity Reviews*, 2017, 18: 603–634.
 75. Kelly IE, Han TS, Walsh K, et al. Effects of a thiazolidinedione compound on body fat and fat distribution of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 683–689.
 76. Kim JH, Jeong MH, Hong YJ, Lee KH, Kim IS, Choi YH, Lee MG, Park KH, Sim DS, Kim JH, Ahn Y, Cho JG, Park JC, Kang JC. Low Density Lipoprotein-Cholesterol/High Density Lipoprotein-Cholesterol Ratio Predicts Plaque Vulnerability in Patients With Stable Angina Korean *Circ J*. 2012 Apr; 42 (4): 246–251.
 77. Kim KE, Jung Y, Min S, Nam M, Heo RW, Jeon BT, ... Hwang GS. Caloric restriction of db/db mice reverts hepatic steatosis and body weight with divergent hepatic metabolism. *Scientific Reports*, 2016, 6, 30111.
 78. Kipke MD, Iverson E, Moore D, et al. Food and park environments: neighborhood-level risks for childhood obesity in east Los Angeles. *J Adolesc Health*. 2007 April; 40 (4): 325–333.
 79. Klein S, Krupka S, Behrendt S, Pulst A, Bleß HH. *Weißbuch Adipositas*, Medizinisch Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Berlin, 2016, S.17.
 80. Kunutsor SK, Zaccardi F, Karppi J, Kurl S, Laukkanen JA. Is High Serum LDL/HDL Cholesterol Ratio an Emerging Risk Factor for Sudden Cardiac Death? Findings from the KIID Study. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2017; 24 (6): 600-608.

-
81. Laaksonen DE, Lakka HM, Salonen JT, et al. Low levels of leisure-time physical activity and cardiorespiratory fitness predict development of the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2002; 25: 1612–1618.
 82. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Grosse Y, Bianchini F, Straif K; International Agency for Research on Cancer Handbook Working Group. Body Fatness and Cancer--Viewpoint of the IARC Working Group. *N Engl J Med*. 2016 Aug 25; 375 (8): 794-8.
 83. Lehnert, H: Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel, Band 4, Georg Thieme Verlag KG Stuttgart New York, (2014), S. 518.
 84. Ling Y, Galusca B, Hager J, Feasson L, Valsesia A, Epelbaum J, Alexandre V, Wynn E, Dinet C, Palaghiu R, Peoc'h M, Boirie Y, Montaurier C, Estour B, Germain N. Rational and design of an overfeeding protocol in constitutional thinness: Understanding the physiology, metabolism and genetic background of resistance to weight gain. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2016 Oct; 77 (5): 563-569.
 85. List EO, Berryman DE, Wright-Piekarski J, Jara A, Kopchick JJ. The effects of weight cycling on lifespan in male C57BL/6J mice. *International journal of obesity* 2013; 37 (8): 1088-1094.
 86. Loos RJ und Yeo GS. The bigger picture of FTO: the first GWAS-identified obesity gene. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 10: 51–61.
 87. Lyall DM, Celis-Morales C, Ward J, et al. Association of Body Mass Index With Cardiometabolic Disease in the UK BiobankA Mendelian Randomization Study. *JAMA Cardiol*. 2017; 2 (8): 882–889.
 88. Malik S, Wong ND, Franklin SS, et al. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heartdisease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation* 2004; 110: 1245–1250.
 89. Mason KE, Pearce N, Cummins S. Associations between fast food and physical activity environments and adiposity in mid-life: cross-sectional, observational evidence from UK Biobank. *The Lancet Public Health* 2018; 3 (1), pp. e16-e23.

-
90. März W, Kleber ME, Scharnagl H et al. Klinische Bedeutung des HDL-Cholesterins. *Herz* 2017; 42: 58.
 91. Mensink RP, Katan MB. Effect of Dietary trans Fatty Acids on High-Density and Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Healthy Subjects. *N Engl J Med* 1990; 323: 439-445.
 92. Moebus S, Hanisch JU, Aidelsburger P, Bramlage P, Wasem J, Jöckel KH. Impact of 4 different definitions used for the assessment of the prevalence of the Metabolic Syndrome in primary healthcare: The German Metabolic and Cardiovascular Risk Project (GEMCAS) *Cardiovasc Diabetol.* 2007; 6: 22.
 93. Mozumdar A, Liguori G. Persistent increase of prevalence of metabolic syndrome among U.S. adults: NHANES III to NHANES 1999–2006. *Diabetes Care* 2011; 34: 216–219.
 94. Mull AJ, Berhanu TK, Roberts NW, Heydemann A. The Murphy Roths Large (MRL) mouse strain is naturally resistant to high fat diet-induced hyperglycemia. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 2014, 63 (12), 1577–1586.
 95. Nanjee MN, Cooke CJ, Wong JS, Hamilton RL, Olszewski WL, Miller NE. Composition and ultrastructure of size subclasses of normal human peripheral lymph lipoproteins: quantification of cholesterol uptake by HDL in tissue fluids *The Journal of Lipid Research*, 04/2001, 42, 639-648.
 96. National Cholesterol Education Program (NCEP): Expert Panel on Detection and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. 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) final report. *Circulation* 2002, 106, 3189.
 97. National Institute for Health and Care Excellence. Lipid modification: cardiovascular risk assessment and the modification of blood lipids for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. National Institute for Health and Care Excellence, London; 2014
 98. NCD Risk Factor Collaboration Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based

measurement studies with 19.2 million participants *The Lancet* 04/2016, Volume 387, Issue 10026, 1377 – 1396.

99. Neuhauser H, Ellert U. Prävalenz des metabolischen Syndroms in Deutschland: eine Sensitivitätsanalyse. 2005; <http://www.egms.de/en/meetings/gmds2005/05gmds183.shtml> (Tag des Zugriffs: 4.10.2016).
100. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, Biryukov S, Abbafati C, Abera SF, Abraham JP, Abu-Rmeileh NM, Achoki T, AlBuhairan FS, Alemu ZA, Alfonso R, Ali MK, Ali R, Guzman NA, Ammar W, Anwari P, Banerjee A, Barquera S, Basu S, Bennett DA, Bhutta Z, Blore J, Cabral N, Nonato IC, Chang JC, Chowdhury R, Courville KJ, Criqui MH, Cundiff DK, Dabhadkar KC, Dandona L, Davis A, Dayama A, Dharmaratne SD, Ding EL, Durrani AM, Esteghamati A, Farzadfar F, Fay DF, Feigin VL, Flaxman A, Forouzanfar MH, Goto A, Green MA, Gupta R, Hafezi-Nejad N, Hankey GJ, Harewood HC, Havmoeller R, Hay S, Hernandez L, Husseini A, Idrisov BT, Ikeda N, Islami F, Jahangir E, Jassal SK, Jee SH, Jeffreys M, Jonas JB, Kabagambe EK, Khalifa SE, Kengne AP, Khader YS, Khang YH, Kim D, Kimokoti RW, Kinge JM, Kokubo Y, Kosen S, Kwan G, Lai T, Leinsalu M, Li Y, Liang X, Liu S, Logroscino G, Lotufo PA, Lu Y, Ma J, Mainoo NK, Mensah GA, Merriman TR, Mokdad AH, Moschandreas J, Naghavi M, Naheed A, Nand D, Narayan KM, Nelson EL, Neuhouser ML, Nisar MI, Ohkubo T, Oti SO, Pedroza A, Prabhakaran D, Roy N, Sampson U, Seo H, Sepanlou SG, Shibuya K, Shiri R, Shiue I, Singh GM, Singh JA, Skirbekk V, Stapelberg NJ, Sturua L, Sykes BL, Tobias M, Tran BX, Trasande L, Toyoshima H, van de Vijver S, Vasankari TJ, Veerman JL, Velasquez-Melendez G, Vlassov VV, Vollset SE, Vos T, Wang C, Wang X, Weiderpass E, Werdecker A, Wright JL, Yang YC, Yatsuya H, Yoon J, Yoon SJ, Zhao Y, Zhou M, Zhu S, Lopez AD, Murray CJ, Gakidou E. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014 Aug 30; 384 (9945): 766-81.
101. Nguyen DM, und El-Serag HB. The Epidemiology of Obesity. *Gastroenterology Clinics of North America* 2010, 39 (1), 1–7.
102. Noble RE. Waist-to-hip ratio versus BMI as predictors of cardiac risk in obese adult women. *Western Journal of Medicine*. 2001; 174 (4): 240-241.

-
103. O'Connor A, Quizon PM, Albright JE, Lin FT, Bennett BJ. Responsiveness of cardiometabolic-related microbiota to diet is influenced by host genetics. *Mammalian Genome*, 2014, 25 (11-12), 583–599.
 104. O'Neill S und O'Driscoll L "Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies". *obesity reviews* 16.1 (2015): 1-12.
 105. Paula P, Fredrik J, Yusuf R, Oskar K. The Choice of Euthanasia Method Affects Metabolic Serum Biomarkers. 3. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017 Feb 28.
 106. Pierozan P, Jernerén F, Ransome Y, Karlsson O. The Choice of Euthanasia Method Affects Metabolic Serum Biomarkers. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017 Aug; 121 (2): 113-118.
 107. Pies-Schulz-Hofen R: *Die Tierpflegerausbildung*, 3. Auflage, Parey Verlag, Singhofen, 2004, S. 344.
 108. Pouliot MC, Després JP, Lemieux S, Moorjani S, Bouchard C, Tremblay A, Nadeau A, Lupien PJ. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: Best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *The American Journal of Cardiology* March 1, 1994, Volume 73, Issue 7, 460–468.
 109. Prentice AM, Jebb SA. Obesity in Britain: gluttony or sloth? *BMJ*. 1995 August 12; 311 (7002): 437–439.
 110. Rivellese AA, Maffettone A, Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Berglund L, Louheranta A, Meyer BJ, Riccardi G. 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, Volume 167, Issue 1, 149-158.
 111. Robinson JG, Wang S und Jacobson TA. Meta-analysis of comparison of effectiveness of lowering apolipoprotein B versus low-density lipoprotein cholesterol and nonhigh-density lipoprotein cholesterol for cardiovascular risk reduction in randomized trials. *Am J Cardiol*. 2012; 110: 1468–1476.
 112. Rohatgi A, Khera A, Berry JD, Givens EG, Ayers CR, Wedin KE, Neeland IJ, Yuhanna IS, Rader DR, de Lemos JA, Shaul PW. HDL

-
- cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. *N Engl J Med* 2014; 371: 2383–2393.
113. Scheidt-Nave C, Du Y, Knopf H, Schienkiewitz A, Ziese T, Nowossadeck E, Gößwald A, Busch MA. *Bundesgesundheitsbl.* (2013) 56: 661.
 114. Schipf S, Alte D, Völzke H, Friedrich N, Haring R, Lohmann T, Rathmann W, Nauck M, Felix SB, Hoffmann W, John U, Wallaschofski H. Prävalenz des Metabolischen Syndroms in Deutschland: Ergebnisse der Study of Health in Pomerania (SHIP) Prävalenz of Metabolic Syndrome in Germany: Results from the “Study of Health in Pomerania” (SHIP). *Diabetologie und Stoffwechsel* 2010; 5 (3): 161-168.
 115. Sjöström CD, Lissner L, Wedel H, et al. Reduction in incidence of diabetes, hypertension and lipid disturbances after intentional weight loss induced by bariatric surgery: the SOS Intervention Study. *Obes Res* 1999; 7: 477–484.
 116. Swinburn B, Egger G und Raza F. Dissecting obesogenic environments. The development and application of a framework for identifying and prioritizing environmental interventions for obesity. *Prev Med* 1999; 29: 563–570.
 117. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA*, 1984; 251 (3): 351-364.
 118. Troyer DA, Venkatraman JT, Fernandes G. Effects of calorie restriction and ω -3 dietary fat on aging in short-and long-lived rodents. *Age (Omaha)*. 1998 Oct; 21 (4): 175-82.
 119. Tun HM, Bridgman SL, Chari R, et al. Roles of Birth Mode and Infant Gut Microbiota in Intergenerational Transmission of Overweight and Obesity From Mother to Offspring. *JAMA Pediatr.* 2018;172 (4): 368–377.
 120. Verdery RB, Walford RL. Changes in Plasma Lipids and Lipoproteins in Humans During a 2-Year Period of Dietary Restriction in Biosphere 2. *Arch Intern Med.* 1998; 158 (8): 900-906.
 121. Vöikar V, Polus A, Vasar E, Rauvala H. Long-term individual housing in C57BL/6J and DBA/2 mice: assessment of behavioral consequences. *Genes Brain Behav.* 2005 Jun; 4 (4): 240-52.

-
122. Wagner EM, Catherine Jen KL, Artiss JD, Remaley AT. Dietary alpha-cyclodextrin lowers LDL-C and alters plasma fatty acid profile in LDLr-KO mice on a high-fat diet. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 2008, 57 (8), 1046–1051.
 123. Walenbergh SMA, Houben T, Hendriks T, Jeurissen MLJ, van Gorp PJ, Vaes N, ... Shiri-Sverdlov R. Weekly Treatment of 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin Improves Intracellular Cholesterol Levels in LDL Receptor Knockout Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16 (9), 21056–21069.
 124. Welsh JA, Sharma A, Abramson JL, Vaccarino V, Gillespie C, Vos MB. Caloric Sweetener Consumption and Dyslipidemia Among US Adults. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 2010, 303 (15), 1490–1497.
 125. WHO 2017 The top 10 causes of death-
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/> Aufgerufen am 22.03.2017.
 126. Wolfe BM, Giovannetti PM. Short-term effects of substituting protein for carbohydrate in the diets of moderately hypercholesterolemic human subjects. *Metabolism* 1991; 40: 338–43.
 127. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO Consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1999.
 128. Yue F, Cheng Y, Breschi A, Vierstra J, Wu W, Ryba T, ... Ren B. A Comparative Encyclopedia of DNA Elements in the Mouse Genome. *Nature*, 2014, 515 (7527), 355–364.

7 Anhänge

7.1 Votum der Ethikkommission

Alle im Rahmen des Projektes durchgeführten Tierversuche wurden von der zuständigen Ethikkommission unter folgendem Aktenzeichen genehmigt: V 312-72241.122-5 (27-2/13).

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zusammenspiel der Faktoren des metabolischen Syndroms	13
Abbildung 2: Projektverlauf und Hypothese NCMB-Mäuse	16
Abbildung 3: Projektverlauf und Hypothese NZM2410/J	17
Abbildung 4: Generierung des Auszuchtstamms	20
Abbildung 5: Gewichtsentwicklung Mäusegeneration 18	27
Abbildung 6: Gewichtsentwicklung Mäusegeneration 19	29
Abbildung 7: Gewichtsentwicklung Mäusegeneration 20	30
Abbildung 8: Gewichtsentwicklung Mäusegeneration 18-20 gesamt	31
Abbildung 9: Gewichtsentwicklung NZM2410/J-Mäuse	34
Abbildung 10: Serum-HDL-Konzentration NCMB-Mäuse G18	35
Abbildung 11: Serum-LDL-Konzentration NCMB-Mäuse G18	36
Abbildung 12: Serum-Gesamtcholesterinkonzentration NCMB-Mäuse G18	37
Abbildung 13: Serum-HDL-Konzentration NCMB-Mäuse G19	38
Abbildung 14: Serum-LDL-Konzentration NCMB-Mäuse G19	39
Abbildung 15: Serum-Gesamtcholesterinkonzentration NCMB-Mäuse G19	40
Abbildung 16: Serum-HDL-Konzentration NCMB-Mäuse G20	41
Abbildung 17: Serum-LDL-Konzentration NCMB-Mäuse G20	42
Abbildung 18: Serum-Gesamtcholesterinkonzentration NCMB-Mäuse G20	43
Abbildung 19: Serum-HDL-Konzentration NCMB-Mäuse G18-20	44
Abbildung 20: Serum-LDL-Konzentration NCMB-Mäuse G18-20	45
Abbildung 21: Serum-Gesamtcholesterinkonzentration NCMB-Mäuse G18-20	46

Abbildung 22: HDL-Konzentration NZM2410/J-Mäuse mit und ohne Cyclodextringabe	47
Abbildung 23: LDL-Konzentration NZM2410/J-Mäuse mit und ohne Cyclodextringabe	49
Abbildung 24: Gesamtcholesterinkonzentration NZM2410/J-Mäuse mit und ohne Cyclodextringabe	50

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: nach WHO 2000, Grade der Übergewichtigkeit in Abhängigkeit des BMI	5
Tabelle 2: Definitionen des metabolischen Syndroms	12
Tabelle 3: Übersicht Mediane und Standardabweichungen für alle Mäuse im zeitlichen Verlauf	33

7.4 Futter

7.4.1 Standardfutter

Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG
 Im Seelenkamp 20 - D-32791 Lage
 Tel.: +49 (0)5232/6088-0 - Fax: +49 (0)5232/6088-20
 E-Mail: info@altromin.de - http://www.altromin.de



Seite: 1

Nummer Lfd. Nummer
 132003 132003 Altr. 1324 rats/mice - maintenance diet

Nr.	Inhaltsstoff	Einheit	Bedarf	Gehalt	Differenz
1	Rohprotein / Crude Protein	mg/kg		191970,400	
2	Rohfett / Crude Fat	mg/kg		40803,010	
3	Rohfaser / Crude Fibre	mg/kg		60518,480	
4	Rohasche / Crude Ash	mg/kg		69364,890	
5	Feuchtigkeit / Moisture	mg/kg		112946,890	
7	Disaccharide(s)	mg/kg		49463,050	
8	Polysaccharide(s)	mg/kg		358852,330	
9	Umsetzb. Energie/Metab. Energy	kcal/kg		3188,487	
10	Lysin / Lysine	mg/kg		8026,060	
11	Methionin / Methionine	mg/kg		2738,230	
12	Cystin / Cystine	mg/kg		3171,100	
13	Threonin / Threonine	mg/kg		6611,300	
14	Tryptophan	mg/kg		2458,450	
15	Arginin / Arginine	mg/kg		11503,050	
16	Histidin / Histidine	mg/kg		4465,100	
17	Isoleucin / Isoleucine	mg/kg		7560,450	
18	Leucin / Leucine	mg/kg		13416,500	
19	Phenylalanin / Phenylalanine	mg/kg		8326,500	
20	Valin / Valine	mg/kg		8858,100	
21	Alanin / Alanine	mg/kg		8557,750	
22	Asparaginsäure / Aspartic acid	mg/kg		15905,350	
23	Glutaminsäure / Glutamic acid	mg/kg		38495,600	
24	Glycin / Glycine	mg/kg		8345,100	
25	Prolin / Proline	mg/kg		12427,300	
26	Serin / Serine	mg/kg		9127,550	
27	Tyrosin / Tyrosine	mg/kg		5962,050	
28	Vitamin A	I.E./kg		15000,000	
29	Vitamin D3	I.E./kg		600,000	
30	Vitamin E	mg/kg		110,350	
31	Vitamin K3 als/as Menadion(e)	mg/kg		3,000	
32	Vitamin B1	mg/kg		18,000	
33	Vitamin B2	mg/kg		12,000	
34	Vitamin B6	mg/kg		9,000	
35	Vitamin B12	mg/kg		0,024	
36	Nikotinsäure / Nicotinic acid	mg/kg		36,000	
37	Pantothenensäure / Pantothenic acid	mg/kg		21,000	
38	Folsäure / Folic acid	mg/kg		2,33500	
39	Biotin	mg/kg		0,250	
40	Cholinchlorid/Choline chloride	mg/kg		699,000	
44	Vitamin C	mg/kg		36,000	
45	Calcium	mg/kg		7114,940	
46	Ges.Phosphor / Phosphorus	mg/kg		5090,560	
47	Verd.Phosphor/Digest.Phosphorus	mg/kg		1537,500	
48	Magnesium	mg/kg		2436,930	
49	Natrium / Sodium	mg/kg		2156,565	
50	Kalium / Potassium	mg/kg		9214,900	
51	Schwefel / Sulfur	mg/kg		1198,200	
52	Chlor / Chlorine	mg/kg		3541,000	
53	Eisen / Iron	mg/kg		198,037	
54	Mangan / Manganese	mg/kg		97,686	

Seite: 2

Nr.	Inhaltsstoff	Einheit	Bedarf	Gehalt	Differenz
55	Zink / Zinc	mg/kg		94,876	
56	Kupfer / Copper	mg/kg		13,582	
57	Jod / Iodine	mg/kg		1,623	
58	Molybdän / Molybdenum	mg/kg		1,129	
59	Fluor / Fluorine	mg/kg		2,192	
60	Selen / Selenium	mg/kg		0,265	
61	Kobalt / Cobalt	mg/kg		0,351	
67	Palmitinsäure C-16:0	mg/kg		3581,475	
70	Stearinsäure C-18:0	mg/kg		1094,300	
71	Ölsäure C-18:1	mg/kg		6292,225	
72	Linolsäure C-18:2	mg/kg		14896,725	
73	Linolensäure C-18:3	mg/kg		2038,700	
74	Arachinsäure C-20:0	mg/kg		40,000	
75	Eicosaensäure C-20:1	mg/kg		50,000	
111	Aluminium	mg/kg		97,963	
155	Volumen / Volume	kg		1000,000	

7.4.2 Western-Diät-Futter

product No.	Atherogen (Fat +Cholesterol) S0587-E020
Casein, %	18.600
Corn starch, pre-gelat., %	10.000
Maltodextrin, 10 DE, %	9.690
Sucrose, %	30.000
pur. Cellulose powder, %	5.000
L-Cystine, %	0.200
DL-Methionine, %	0.100
Vitamin premix, AIN93G, %	1.000
Mineral premix, AIN93G, %	3.500
Choline Cl, %	0.250
Ca hydrogenphosphate, %	0.500
BHT, %	0.010
Cholesterol, %	0.150
Butter fat, %	20.000
Soybean oil, %	1.000
<hr/>	
Crude protein, %	16.6
Crude fat, %	21.0
Crude fibre, %	5.0
Crude ash, %	3.5
Starch, %	9.8
Sugar, %	31.0
Lysine, %	1.36
Methionine, %	0.61
Cystine, %	0.27
Met + Cys, %	0.88
Threonine, %	0.72
Tryptophan, %	0.22
Energy (Atwater), MJ/kg	19.3

8 Danksagungen

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Enno Schmidt, Direktor des Instituts für Experimentelle Dermatologie, für die Möglichkeit der Durchführung meiner Arbeit, sowie für die Bereitstellung des dermatologischen Forschungslabors.

Mein großer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Ralf Ludwig für die Überlassung des Themas, die fortwährende Unterstützung, sowie die Anregungen vor und während der Verfassung der Arbeit.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei Hiroshi Koga, M.D. Ph.D und Dr. med. Artem Vorobyev für die Einführung in die Laborarbeit und die jederzeitige Hilfsbereitschaft im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit.

Ich danke dem gesamten Team des Lübecker Instituts für Experimentelle Dermatologie für jegliche Unterstützung während der Laborzeit.

Ebenso bedanken möchte ich mich bei Dr. med. Annemarie Uhlig, MPH für die Hilfe bei Erstellung von Grafiken.

Ich danke meinen Eltern für ihre Unterstützung während der Studienzeit.

Mein besonderer Dank gilt meiner Verlobten Steffi Tecklenburg für die Ermutigung zum Beginn des Studiums, die Hilfe bei der Strukturierung des Textes, für die Aufmunterung während des Schreibens und das Verständnis für die Zeit, die ich dafür aufgewendet habe.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Körber-Ahrens
Vorname: Heiko
Geburtsdatum: 07.08.1983



Hochschulstudium

10/2010 - 07/2012 Studium der Humanmedizin Universität zu Lübeck, vorklinischer Abschnitt
09/2012 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2012 – 07/2015 Studium der Humanmedizin Universität zu Lübeck, klinischer Abschnitt
10/2015 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
12/2016 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

11/2015 – 03/2016 Chirurgie: Sana Kliniken Lübeck
03/2016 – 06/2016 Urologie: Universitätsmedizin Göttingen
06/2016 – 10/2016 Innere Medizin: Universitätsmedizin Göttingen

Beruflicher Werdegang

08/2004 - 02/2007	Ausbildung zum Bankkaufmann Sparkasse Einbeck
02/2007 - 09/2010	Bankkaufmann Sparkasse Einbeck
12/2016 - gegenwärtig	Assistenzarzt, Klinik für Urologie, Universitätsmedizin Göttingen

Zeitraum der Dissertation

03/2014 - 04/2015	Fütterung der Versuchstiere, Tötung, Probenentnahme und Bestimmung der 6-Monatsgewichte der Generationen 19 und 20, Durchführung der Experimente: Lübecker Institut für Experimentelle Dermatologie
04/2015 – 09/2019	Verfassen der Dissertation

10 Publikation

Vorobyev A, Gupta Y, Sezin T, Koga H, Bartsch Y, Belheouane M, Künzel S, Sina C, Schilf P, Körber-Ahrens H, Beltsiou F, Ernst AL, Khil'chenko S, Al-Aasam H, Manz R A., Diehl S, Steinhaus M, Jascholt J, Kouki P, Boehncke W-H, Mayadas T N., Zillikens D, Sadik C D., Nishi H, Ehlers M, Möller S, Bieber K, Baines J F., Ibrahim S M. & Ludwig RJ. Gene-diet interactions associated with complex trait variation in an advanced intercross outbred mouse line. *Nat Commun*, 2019, **10**, 4097