

Aus dem Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Homa-Index in einer bevölkerungsbasierten Kohorte –
Verteilung mit Einflussgrößen**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Bassel Matli
Aus Hasaka-Syrien

Mainz, 2020

Tag der Promotion: 08. Dezember 2020

Inhaltsverzeichnis

Einführung	5
Ziel der Studie	5
Kapitel I: Einleitung	7
Übergewicht und Adipositas	7
Epidemiologie der Adipositas	7
Glucose	8
Regulation der Blutzuckerkonzentration	9
Insulin	10
Struktur des menschlichen Insulins	10
Insulin-Funktion	11
Insulinrezeptoren	13
Gegenregulierende Hormone	17
Insulinresistenz	17
Ursachen der Insulinresistenz	18
Pathophysiologie der Insulinresistenz	18
Zellulärer Mechanismus der Insulinresistenz	19
Insulinresistenz und Muskelglukosestoffwechsel	20
Fettsäure/Lipid-induzierte Insulinresistenz	21
Mechanismen der Lipidakkumulation in Skelettmuskulatur und Leber	21
Entzündung und Insulinresistenz	22
Negativ beeinflussende Faktoren des HOMA-IR Indexes	24
Positiv beeinflussende Faktoren des HOMA-IR Indexes	25
Klinische Manifestation der Insulinresistenz	25
Kontinuierliche Infusion von Glucose mit Modell-Assessment (CIGMA)	26
Homeostatic Model Assessment (HOMA)	27

Die physiologischen Grundlagen für das HOMA-Model	27
Typen der HOMA-Modellen	28
HOMA-1	28
HOMA-2	30
Probenahme	32
Diabetes mellitus	33
Diabetes mellitus Typ I	33
Diabetes mellitus Typ II	34
Prädiabetes	34
Epidemiologie des Diabetes mellitus	35
Kapitel II: Material und Methoden	37
Die Gutenberg-Gesundheitsstudie (GHS-Studie)	37
Studienpopulation	38
Untersuchungen im Studienzentrum	40
Biobanking	41
Genetische Analysen und Biomarkerbestimmungen	41
HOMA-IR Studie	42
Formeln und Definitionen in GHS-Studie	43
Viszeraler Adipositas-Index	43
Adipositas-Status	43
Ektopes Leberfett	44
Die Kriterien der Referenzgruppe für HOMA-IR	44
Vergleich der Insulinbestimmung mit 3 verschiedenen Methoden	45
ARCHITECT Insulin Assay	46
Elecsys Insulin Assay	49
IMMULITE® 2000 Insulin Assay	52
Glucose Bestimmung	54

Kapitel III: Ergebnisse	56
Statistische Werte in der GHS-Studie	56
Die Charakteristiken der GHS-Teilnehmer	57, 58
Die Referenzgruppe für HOMA-IR in der GHS-Studie	60
Definition eines Cutoffs des HOMA-IR in einer erwachsenen Population	60
Prädiabetes und Diabetes mellitus in der GHS-Studie	61
HOMA-IR und Gesamtmortalität	62
HOMA-IR Index und metabolisches Syndrom	63
Vergleich der Insulinbestimmung mit 3 verschiedenen Methoden	64
Entdeckung der Ausreißer	68
HOMA-IR-Cutoff Umrechnung	70
Kapitel IV: Diskussion	72
Definition eines Referenzbereichs	72
Auswahl von Referenzbereich-Studienpersonen	73
Bestimmung eines Cutoffs für HOMA-IR	74
Cut-offs-Werte für HOMA-IR in der neueren Literatur	77
HOMA-IR und Geschlecht	79
HOMA-IR und Alter	80
Harmonisierung/Standardisierung der Insulin-Messmethode	81
Harmonisierung der Insulinbestimmung in GHS-Studie	83
Zusammenfassung	85
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	87
Danksagung	89
Literaturverzeichnis	90
Lebenslauf	101

Einführung

Die Inzidenz von Adipositas hat in den letzten Jahren zugenommen und ist zu einem wichtigen Gesundheitsproblem geworden. Die Gründe sind Bewegungsmangel und kalorienreiche Ernährung (insbesondere kohlenhydratreiche oder zuckerreiche Ernährung). Übergewicht ist wiederum einer der wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung einer Insulinresistenz und eines Typ 2 Diabetes.⁽¹⁾ Dabei spielt für die Insulinresistenz besonders das omentale Fettgewebe, das in die Pfortader drainiert, eine wichtige Rolle.⁽²⁾

Viele Patienten mit Diabetes mellitus haben Jahre vor der Entwicklung von Typ-2-DM eine Insulinresistenz (IR). Patienten mit IR haben hohen Insulinspiegel im Plasma, am häufigsten mit einem Glucosespiegel im oberen Referenzbereich.

Der „Homeostasis model assessment“ Index (HOMA-IR) ist eine Methode zur Abschätzung der Insulinresistenz. Der HOMA-IR wird aus den Nüchternkonzentrationen von Insulin und Glukose im Serum/Plasma berechnet, wobei das Produkt aus Insulin- und Glucosespiegel durch eine empirisch ermittelte Konstante dividiert wird. Im Ergebnis führen erhöhte Konzentrationen von Insulin und/oder Glukose, die beide Ausdruck einer Insulinresistenz sind, zu einem erhöhten HOMA-IR: Folglich treten hohe HOMA-IR-Werte bei IR auf und können als diagnostischer Marker für IR verwendet werden.⁽³⁾

Ziel dieser Studie

Das Ziel dieser Studie ist es, die Verteilung des HOMA-IR und den Einfluss von Alter und Geschlecht darauf in einer populationsbasierten Kohorte zu

beschreiben und einen Grenzwert zu definieren, der mit einem niedrigen Risiko für die Entwicklung von Komorbiditäten einhergeht. Zusätzlich wurde untersucht, wie der HOMA-IR von der Auswahl des Insulinassays beeinflusst wird. Dazu wurden drei verschiedene kommerzielle Kits verglichen.

Kapitel I

Einleitung

Übergewicht und Adipositas

Die Begriffe Übergewicht und Adipositas bezeichnen das Auftreten von vermehrtem Körperfett. Gemäß der Einteilung der Weltgesundheitsorganisation (WHO) anhand des Body-Mass-Index (BMI) ist ein BMI zwischen 25 und 30 kg/m² als Übergewicht definiert (4) und ein BMI über 30 als Adipositas definiert (Box 1-1).

Box 1-1: Definition von Übergewicht und Adipositas

BMI (kg/m ²)	Klassifikation ⁽⁵⁾
< 18.5	Untergewicht
18.5 - 25.0	Normalgewicht
25.0 - 30.0	Übergewicht
30.0 - 35.0	Adipositas Grad I
35.0 - 40.0	Adipositas Grad II
> 40.0	Adipositas III

Ursachen für Adipositas sind: (1) Lebensstil (übermäßige Nahrungsaufnahme, Bewegungsmangel), (2) endokrinologische Ursachen (z.B. Hypothyreose und Cushing-Syndrom) und (3) genetische Veranlagung. Bei der großen Mehrheit der übergewichtigen Menschen liegt die Ursache an einer Kombination aus Lebensstil und genetischer Prädisposition. ⁽⁶⁾

Epidemiologie der Adipositas

Die Häufigkeit von Adipositas hat in den letzten Jahren zugenommen und ist zu einem wichtigen Gesundheitsproblem geworden. Abbildung 1.1 zeigt den

Anteil der Erwachsenen mit der Adipositas in Europa. Malta und Ungarn haben mit 25% bzw. 21% den relativ höchsten Anteil adipöser Menschen in Ihrer Bevölkerung. Deutschland liegt mit einem Anteil von 16% etwa im europäischen Mittel.

In den USA wächst das Problem der Adipositas kontinuierlich. Zwei Drittel der amerikanischen Männer gelten als übergewichtig oder adipös, und die Quote für Frauen ist sogar noch höher. Die USA haben einen der höchsten Prozentsätze an adipösen Menschen weltweit.

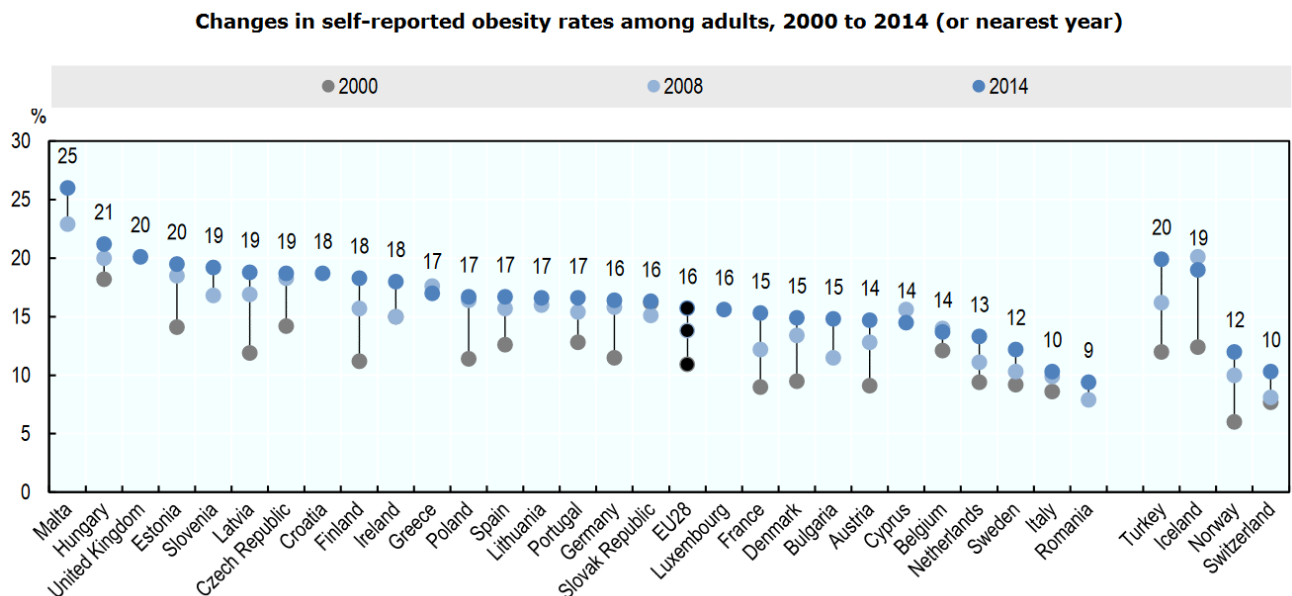


Abbildung 1-1: Adipositas in Europa (7)

Glucose

Glucose ist ein Monosaccharid mit der Summenformel $C_6H_{12}O_6$. Es wird hauptsächlich von Pflanzen und den meisten Algen während der Photosynthese aus H_2O und CO_2 unter Verwendung von Energie aus dem Sonnenlicht hergestellt. Glucose spielt eine wichtige Rolle im Energiestoffwechsel und ist in allen Organismen die wichtigste

Energiequelle. Glucose wird teilweise als Polymer gespeichert, in Pflanzen hauptsächlich als Stärke und Amylopektin und in Tieren als Glykogen.

Die natürlich vorkommende Form von Glucose ist D-Glucose, während L-Glucose in vergleichsweise geringen Mengen synthetisch hergestellt wird und eine geringere Bedeutung hat.

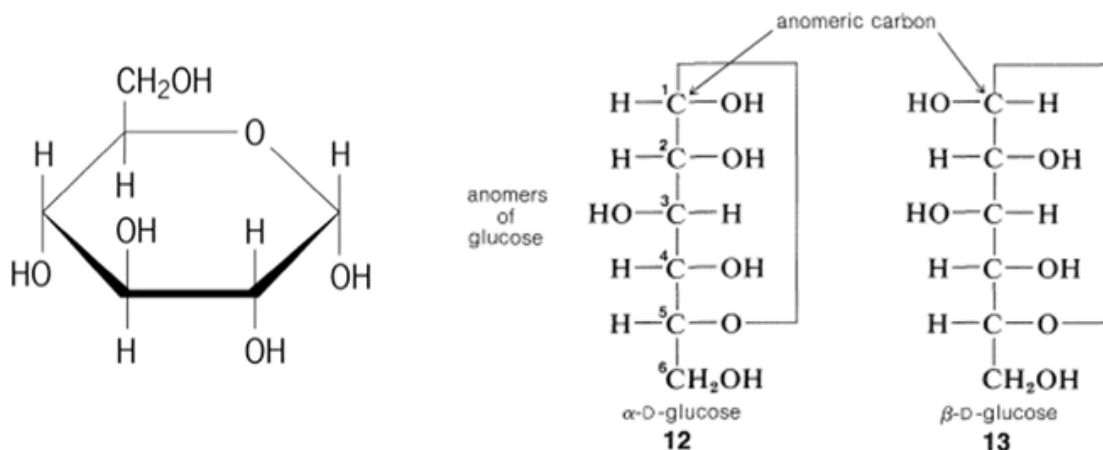


Abbildung 1-2: Struktur der Glucose

Regulation der Blutzuckerkonzentration

Die Glucosekonzentration im Blut wird normalerweise in engen Grenzen unter Kontrolle mehrere Hormone reguliert. Die Umwandlung von Glucose in Glykogen, Glykogenese genannt, und der umgekehrte Prozess, der Abbau von Glykogen in Glucose und andere Produkte, wird Glykogenolyse genannt. Die Konversion von Glucose oder anderen Hexosen in Lactat oder Pyruvat erfolgt durch Glykolyse. Die weitere Oxidation zu Kohlendioxid und Wasser erfolgt über den Krebszyklus (Zitronensäure) und die mitochondriale Elektronentransportkette, wodurch das Adenosintriphosphat (ATP) erzeugt wird, das chemische Energie für viele Körperprozesse bereitstellt. Die

Oxidation von Glucose zu CO_2 und H_2O erfolgt auch über den Pentosephosphatweg (Hexosemonophosphat-Shunt-Pathway), der die reduzierte Form von Nicotinamid-Adenin-Dinukleotidphosphat (NADPH) produziert.

Die Glucosekonzentration im Blut wird normalerweise trotz der großen Schwankungen des Angebots und des Bedarfs an Kohlenhydraten innerhalb eines engen Intervalls aufrechterhalten. Dies wird durch Hormone erreicht, die die Homöostase von Glucose im Körper regulieren. Dazu gehören Insulin, das den Blutzucker senkt, und die gegenregulatorischen Hormone (Glucagon, Epinephrin, Cortisol und Wachstumshormon), die die Blutzuckerkonzentration erhöhen.

Insulin

Insulin ist das einzige Hormon im menschlichen Körper, das den Blutzuckerspiegel senkt. Es ist ein Proteinhoromon, das von den Betazellen der Langerhans-Inseln im Pankreas produziert wird, und gilt als das wichtigste anabole Hormon des Körpers. ⁽⁸⁾

Struktur des menschlichen Insulins

Insulin besteht aus 51 Aminosäuren und hat eine Molekülmasse von 5808 Da. Es ist ein Dimer mit einer A-Kette und einer B-Kette, die durch zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Der Unterschied in der Aminosäuresequenz von Insulin bei verschiedenen Tierarten ist gering. Insulin aus tierischen Quellen wurde daher in der Vergangenheit vor der Einführung von gentechnisch hergestellten Humaninsulin zur Behandlung von Diabetes Mellitus eingesetzt. ^{(9) (10) (11)}

Insulin-Funktion

Insulin reguliert den Stoffwechsel von Glucose, Fetten und Proteinen, indem es die Aufnahme von Glucose aus dem Blut in Leber-, Fett- und Skelettmuskelzellen fördert. ⁽¹²⁾ In diesen Geweben wird die absorbierte Glucose entweder durch Glykogenese in Glykogen oder durch Lipogenese in Fette (Triglyceride) oder in beide in der Leber umgewandelt. ⁽¹²⁾ Die Glucoseproduktion und -sekretion der Leber wird durch hohe Insulinkonzentrationen im Blut stark gehemmt. ⁽¹³⁾ Zirkulierendes Insulin beeinflusst auch die Proteinsynthese in einer Vielzahl von Geweben. Es ist daher ein anaboles Hormon, das die Umwandlung kleiner Moleküle im Blut in große Moleküle in den Zellen fördert.

Die Insulinsekretion aus Betazellen ist empfindlich gegenüber der Glucosekonzentrationen. Wenn der Glucosespiegel hoch ist, sezernieren die Betazellen Insulin ins Blut. Bei niedrigen Glucosespiegeln wird die Insulinsekretion gehemmt. ⁽¹⁴⁾ Die Alpha-Zellen spielen im Pankreas die entgegengesetzte Rolle, sie sezernieren bei niedrigem Blutzucker Glukagon ins Blut und die Sekretion wird bei hohen Glucosekonzentrationen gehemmt. ⁽¹²⁾ ⁽¹⁴⁾ Glukagon, das die Leber durch Glykogenolyse und Glukoneogenese zur Freisetzung von Glucose stimuliert, hat den gegenteiligen Effekt von Insulin. ⁽¹²⁾ ⁽¹⁴⁾ Wenn die Betazellen durch eine Autoimmunreaktion zerstört werden, kann Insulin nicht mehr synthetisiert oder ins Blut abgegeben werden. Dies führt zu Typ-1-Diabetes mellitus, der durch ungewöhnlich hohe Blutzuckerkonzentrationen und deutlichen Gewichtsverlust gekennzeichnet ist. ⁽¹⁵⁾ Bei Typ-2-Diabetes mellitus ist die Zerstörung von Betazellen weniger ausgeprägt als bei Typ-1-Diabetes und nicht auf einen Autoimmunprozess zurückzuführen. Stattdessen kommt es zu einer Ansammlung von Amyloid

in den Pankreasinseln, was wahrscheinlich ihre Anatomie und Physiologie stört. ⁽¹⁴⁾

Die Glykierung spielt eine große Rolle bei der Entwicklung von Diabetes mellitus und der Schädigung von Betazellen der Bauchspeicheldrüse. Proteine in Amyloidablagerungen sind häufig glykiert, was auf eine direkte Korrelation zwischen Proteinglykierung und Amyloidose hindeutet. ⁽¹⁶⁾ Die Beta-Zellen in der Bauchspeicheldrüse produzieren neben der Insulinsynthese auch IAPP (Amylin). IAPP spielt eine Rolle bei der Aufrechterhaltung der Energiehomöostase, indem verschiedene Stoffwechselfparameter wie Sättigungsgefühl, Blutzuckerspiegel, Adipositas und Körpergewicht reguliert werden. ⁽¹⁷⁾ Hohe AGEs (Advanced Glycation Endproducts) führen durch das Hormon IAPP zur Pankreasinselamyloidose. AGEs, die durch die Reaktion von reduzierenden Zuckern mit Proteinen und Lipiden erzeugt werden, sind Liganden für den Rezeptor für AGE (RAGE), ebenso wie die toxischen präfibrillären Aggregate von IAPP, die während der Amyloidbildung erzeugt werden. ⁽¹⁸⁾ Toxische IAPP-Oligomere lagern sich in β -Zellen an, beeinträchtigen deren Funktion und verringern die Masse durch Zerstörung der Zellmembranen, was zum Versagen von β -Zellen führt, durch die Apoptose von Beta-Zellen. ^{(19) (20) (21)}

Patienten mit Typ-2-Diabetes zeigen eine verringerte Population von Insel-Beta-Zellen, eine reduzierte Sekretionsfunktion von überlebenden Insel-Beta-Zellen und eine Insulinresistenz des peripheren Gewebes. ⁽⁸⁾ Typ-2-Diabetes zeichnet sich durch hohe Glucagonsekretionsraten im Blut aus, die von der Glucosekonzentration im Blut nicht beeinflusst werden und auf diese nicht reagieren. Insulin wird immer noch als Reaktion auf den Blutzucker ins Blut abgegeben. ⁽¹⁴⁾ Infolgedessen sind die Insulinspiegel selbst bei normalem Blutzuckerspiegel viel höher als bei gesunden Personen. Es gibt

verschiedene Behandlungsschemata (z. B. Therapie mit Biguanide: Metformin; GLP-1 analog: Liraglutid) ⁽²²⁾, von denen keines völlig zufriedenstellend ist. Wenn die Kapazität der Bauchspeicheldrüse zur Insulinsekretion den Blutzuckerspiegel nicht mehr innerhalb der normalen Grenzen halten kann, werden Insulininjektionen verabreicht. ⁽²³⁾

Insulinrezeptoren

Der Insulinrezeptor (IR) ist ein dimeres Protein, das eine entscheidende Rolle bei der Kontrolle der Glukosehomöostase, der Regulierung des Lipid-, Protein- und Kohlenhydratstoffwechsels und der Modulation der Neurotransmitterspiegel im Gehirn spielt ⁽²⁴⁾ ⁽²⁵⁾. IR-Störungen wurden mit vielen Krankheiten in Verbindung gebracht, darunter Diabetes, Krebs und Alzheimer ⁽²⁴⁾ ⁽²⁶⁾ ⁽²⁷⁾.

Die Primärsequenz ist seit den 1980er Jahren bekannt ⁽²⁸⁾ und besteht aus einem extrazellulären Teil (Ektodomäne, ECD), einer einzelnen Transmembranhelix und einer intrazellulären Tyrosinkinase-domäne. Die Bindung von Insulin an das dimere ECD löst die Autophosphorylierung der Kinasedomäne und die anschließende Aktivierung der nachgeschalteten Signalmoleküle aus. Biochemische und Mutagenesedaten haben zwei mutmaßliche Insulinbindungsstellen (S1 und S2) ⁽²⁹⁾ identifiziert. Während Insulin, das an ein S1 enthaltendes ECD-Fragment und an die Apo-Ektodomäne gebunden ist, strukturell charakterisiert wurde ⁽³⁰⁾ ⁽³¹⁾

Insulinrezeptoren sind Transmembranrezeptoren, die durch Insulin IGF-I, IGF-II aktiviert werden können. Sie gehören zur großen Klasse der Tyrosinkinaserzeptoren. ⁽³²⁾ Die Insulinsignalisierung kontrolliert die Aufnahme von Blutzucker in die Körperzellen. Wenn Insulin abfällt, insbesondere bei Personen mit hoher Insulinsensitivität, haben die

Körperzellen nur die Möglichkeit Lipiden, für die kein Transport über die Membran erforderlich ist, aufzunehmen. Insulin ist auf diese Weise auch der Hauptregulator des Fettstoffwechsels. Biochemisch wird der Insulinrezeptor von einem einzelnen INSR-Gen kodiert, was aufgrund von alternativem während der Transkription entweder zu IR-A- oder IR-B-Isoformen führt (Abb. 1-3).⁽³³⁾

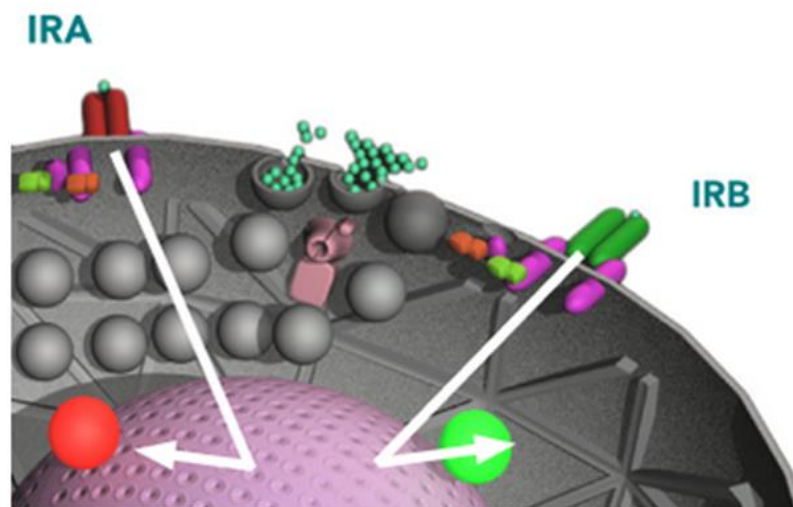


Abbildung 1-3: Über die Screening-Plattform kann festgestellt werden, ob eine Substanz (Peptid, Aptamer usw.) die Insulinsignalisierung über Insulinrezeptor A (IR-A) oder Insulinrezeptor B (IR-B) positiv oder negativ beeinflusst. Die Aktivierung von IR-A gegenüber IR-B kann durch eine Zunahme der roten bzw. grünen Fluoreszenz nachgewiesen werden. Fast jede Zelle im Körper hat sowohl IR-A als auch IR-B in ihrer Plasmamembran eingebettet. Typische Insulin-Zielgewebe wie Fett-, Muskel- und Leberzellen weisen überwiegend IR-B auf. Krebszellen haben dagegen meistens IR-A.⁽³⁴⁾

Der Insulinrezeptor (IR) ist ein Dimer der Heterodimere $(\alpha\beta)_2$ (28). Die α -Subunit und die N-terminalen ~ 190 -Reste der β -Ketten befinden sich auf der extrazellulären Seite der Plasmamembran und bilden zusammen die vollständige IR-ECD. Der Rest der β -Ketten umfasst eine Transmembranhelix, die Juxtamembrandomäne und die intrazelluläre Tyrosinkinasedomäne. Die Strukturen der einzelnen Subdomänen, die die ECD (L1-, CR-, L2- und Fibronectin-Typ-III-Domänen FnIII-1, 2 und 3) umfassen, sind bekannt, und die Kristallstruktur der Apo-IR-ECD8 bietet einen Überblick über ihre quartäre Organisation.

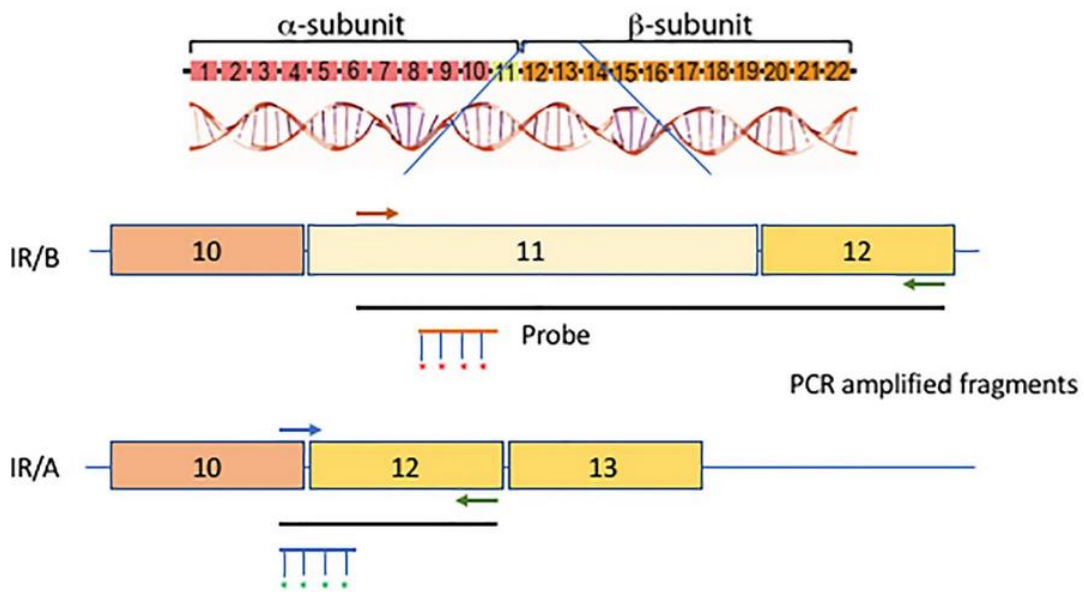


Abbildung 1-4: Diagramm des in situ RT-PCR/FISH-Designs für Insulinrezeptor-Isoformen A und B basierend auf den Exons 10–12 der kodierenden Region des Humaninsulinrezeptors. Die Primer wurden entwickelt, um die Insulinisoformen A oder B spezifisch zu amplifizieren. Mit Alexa 594 (IR/B) oder Alexa 488 (IR/A) markierte Sonden wurden in der FISH-Komponente des Assays zum Nachweis der amplifizierten Produkte verwendet. ⁽³⁵⁾

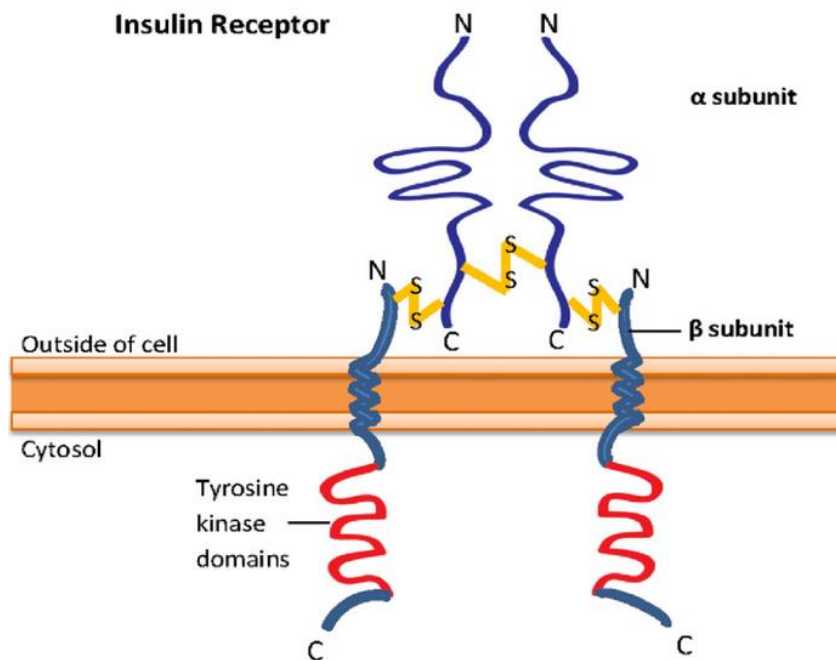


Abbildung 1-5: Struktur des Insulinrezeptors. Der Insulinrezeptor ist ein heterotetramer Rezeptor, der zwei α-Subunits, die extrazellulär sind und die Ligandenbindungsdomänen aufweisen, und zwei β-Subunits enthält, die aus extrazellulären, transmembranen und intrazellulären Domänen bestehen. Die Tyrosinkinasedomäne des Rezeptors liegt an den intrazellulären β-Subunits vor. ⁽³⁸⁾

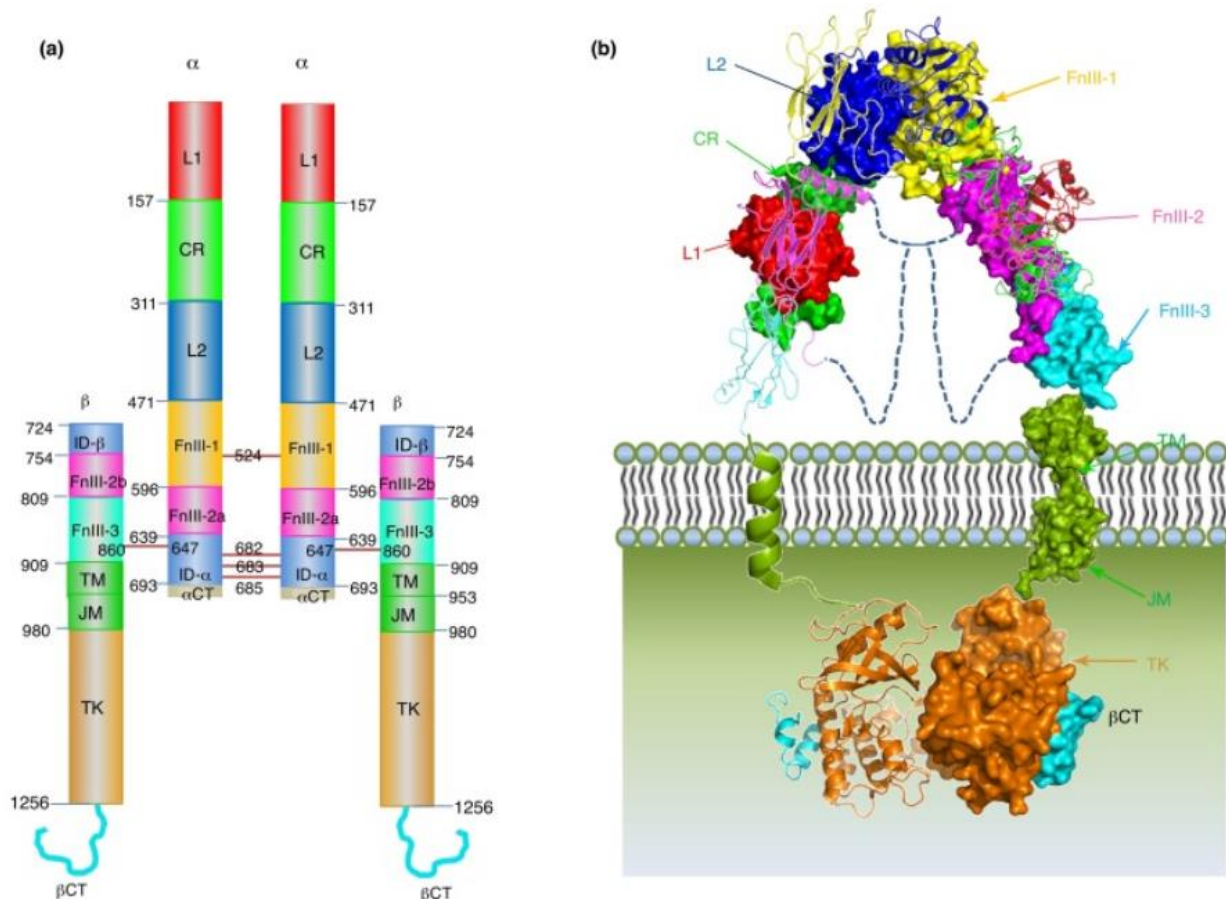


Abbildung 1-6: Überblick über die Architektur der Insulinrezeptordomäne (IR) und die derzeit strukturell aufgelösten Komponenten in der Datenbank der Proteindatenbank (PDB). (a) Schematische Darstellung der Domänenorganisation für das IR-Dimer voller Länge. Die Nummerierung der Reste erfolgt nach Entfernung des Signalpeptids (27 Reste). Die Nummerierung der β -Domäne folgt IR-B. (b) Karikaturdarstellung der IR-Dimerstruktur. Ein Rezeptormonomer ist in Form einer Sekundärstruktur dargestellt, während das andere Monomer als Oberflächenmodell vorliegt. Die Farben für jede Domäne entsprechen (a). ⁽³⁹⁾

Es gibt drei Hormonen, die an die endogenen Liganden des Insulinrezeptors binden können, und das sind Insulin, IGF-I und IGF-II. Die Bindung des Liganden an die α -Ketten der IR-Ektodomäne induziert strukturelle Veränderungen im Rezeptor, die zur Autophosphorylierung verschiedener Tyrosinreste in der intrazellulären TK-Domäne der β -Kette führen. Diese Veränderungen erleichtern die Rekrutierung spezifischer Adapterproteine wie der Insulinrezeptorsubstratproteine (IRS) zusätzlich zu SH2-B (Src Homology 2-B), APS und Proteinphosphatasen wie PTP1B und fördern schließlich nachgelagerte Prozesse, die an der Blutglukosehomöostase beteiligt sind. ⁽⁴⁰⁾

Gegenregulierende Hormone

Mehrere Hormone wirken dem Insulin entgegengesetzt. Diese gegenregulatorischen Hormone sind katabol und erhöhen die Glucoseproduktion in der Leber, indem sie zunächst den Abbau von Glykogen zu Glucose (Glykogenolyse) und später die Stimulierung der Glucosesynthese (Gluconeogenese) fördern. Die anfängliche Reaktion des Körpers (innerhalb von Minuten) auf einen niedrigen Blutzuckerspiegel ist eine Erhöhung der Glucoseproduktion, stimuliert durch Glucagon und Epinephrin. Nach 3 bis 4 Stunden erhöhen Wachstumshormon und Cortisol die Glucosemobilisierung und verringern den Glucoseverbrauch.

Insulinresistenz

Dieser Begriff Insulinresistenz bezieht sich auf ein geringes Ansprechen von Körperzellen, insbesondere Leber-, Muskel- und Fettzellen, auf Insulin. Diese Einschränkung ist auf den Widerstand dieser Zellen gegenüber der Aufnahme der zusätzlichen Glucose mit den normalen Insulinspiegeln zurückzuführen, und daher benötigen sie eine zusätzliche Stimulation von Humaninsulin, um den Zweck zu erreichen, den Blutzuckerspiegel zu senken. In diesem Fall hat der Patient offensichtlich hohe Insulinspiegel und/oder hohe Glucosespiegel.

Insulinresistenz führt nach einiger Zeit zur Entwicklung eines Prädiabetes und danach zu einem Diabetes mellitus Typ II. Die große Mehrheit der Menschen, die an IR leiden, haben häufig gleichzeitig ein metabolisches Syndrom (siehe Kriterien für das metabolische Syndrom in Box 1-2).

Box1-2 NCEP ATP III Definition des metabolischen Syndroms

Mindestens 3 der 5 folgenden Kriterien müssen erfüllt sein, um ein metabolisches Syndrom zu diagnostizieren:

- Adipositas im abdominalen Bereich: Taillenumfang von ≥ 94 cm bei Männern und ≥ 80 cm bei Frauen
- Hypertriglyceridämie: ≥ 150 mg/dl
- Niedriges HDL: < 40 mg/dl bei Männern und < 50 mg/dl bei Frauen
- Hoher Blutdruck (BP): $> 130/85$ mmHg
- Erhöhte Nüchternblutglucose (FPG): > 110 mg/dl

Ursachen der Insulinresistenz

- Übergewicht oder Adipositas
- kalorienreiche Diät (insbesondere kohlenhydratreiche oder zuckerreiche Diät)
- Bewegungsmangel
- Therapie mit hohen Steroiddosen über einen längeren Zeitraum
- Chronischer Stress
- Morbus Cushing

Pathophysiologie der Insulinresistenz

Die zwei wichtigsten Faktoren, die zu Insulinresistenz führen, sind Genotyp und Lebensstil (Bewegungsmangel und übermäßiges Essen).^{(41) (42)} Es gibt viele zirkulierende Faktoren, die die Insulinsensitivität im Zielgewebe wie Adipokine, Plasmalipide und zirkulierende Hormone regulieren,^{(43) (44)} zusätzlich zu mehreren anorektischen (appetitreduzierenden) Darmhormonen, zu denen (1) Cholecystokinin, (2) Glucagon like Peptid-1,

(3) Oxyntomodulin und (4) Pankreaspolypeptid, und bis heute gibt es nur ein bekanntes orexigenes Hormon (appetitanregendes Hormon), nämlich Ghrelin. Die oben genannten Hormone zirkulieren im Blut und signalisieren über Vagusnerven-Afferenzen eine Kommunikation mit dem Hypothalamus und dem Hirnstamm. ⁽⁴⁵⁾ Adipokine sind Hormone, die von Adipozyten sezerniert werden, von denen einige stimulieren und andere die Insulinsensitivität hemmen. Im peripheren Gewebe wird die Insulinwirkung durch Leptin und Adiponektin stimuliert. Andererseits unterdrücken TNF α , Resistin, IL-6 und Retinol-Bindungsprotein 4 die Insulinsensitivität. ⁽⁴⁶⁾ Auch wenn der Stoffwechsel und die Ernährung durch von Adipozyten generierten Faktoren reguliert werden, können Lebensstil, Übergewicht und genetische Faktoren dieses Gleichgewicht stören. ⁽⁴²⁾ Es zeigt sich, dass es bei Adipositas zu einem Anstieg der inhibitorischen Adipokine und zirkulierenden Fettsäuren kommt. ⁽⁴³⁾

Zellulärer Mechanismus der Insulinresistenz

Auf molekularer Ebene erkennt eine Zelle Insulin über Insulinrezeptoren, wobei sich das Signal über eine Signalkaskade ausbreitet, die als PI3K/Akt/mTOR-Signalweg bezeichnet wird. ⁽⁴⁷⁾ Neuere Studien legen nahe, dass der Signalweg unter physiologischen Bedingungen für bestimmte Zelltypen als stabiler Schalter fungiert und die Insulinreaktion ein Schwellenwertphänomen sein könnte. ⁽⁴⁷⁾ ⁽⁴⁸⁾ Die Empfindlichkeit des Signalwegs gegenüber Insulin kann durch viele Faktoren wie freie Fettsäuren ⁽⁴⁹⁾ gemindert werden, was zu einer Insulinresistenz führt. Es ist jedoch üblich, die Empfindlichkeit (einschließlich der Empfindlichkeitsreduzierung) so einzustellen, dass sich ein Organismus an die sich ändernden Umgebungs- oder Stoffwechselbedingungen anpasst. ⁽⁵⁰⁾

Insulinresistenz und Muskelglukosestoffwechsel:

Die ^{13}C -MRS-Studien zur Glukoseentsorgung bei Gesunden ⁽⁵¹⁾ legten nahe, dass der Skelettmuskel den größten Teil der Insulin-stimulierten Glukoseaufnahme ausmacht und dass >80% dieser Glukose dann als Glykogen gespeichert werden. ⁽⁵²⁾ Die Geschwindigkeit der Glykogensynthese im Skelettmuskel war bei Diabetikern ca. 50% niedriger als bei normalen Probanden.⁽⁵²⁾ Das einzige andere Organ, das in der Lage ist, eine signifikante Menge Glykogen zu speichern, ist die Leber. Auch hier war die Kapazität des gespeicherten Glykogens bei Diabetikern reduziert. ⁽⁵¹⁾ ⁽⁵³⁾ ^{13}C - und ^{31}P -MRS wurden zusammen verwendet, um die intrazelluläre Glucose-6-phosphat-Konzentration und die intramuskuläre Glycogensynthese während des hyperinsulinämisch-hyperglykämischen Status zu überwachen.⁽⁵⁴⁾ Glucose-6-phosphat ist ein Zwischenprodukt zwischen dem Glucose-transport in die Zelle und der anschließenden Phosphorylierung durch Hexokinase und Glykogensynthese. Die Zunahme der Glucose-6-phosphat-Konzentration war bei Typ-2-Diabetikern signifikant verringert, was darauf hindeutet, dass der Glucosetransport oder die Phosphorylierung des geschwindigkeits-kontrollierenden Schrittes bei der insulinstimulierten Glucoseabgabe im Skelettmuskel sein muss und nicht bei der Glykogensynthese. ⁽⁵⁴⁾ Ähnliche Beobachtungen wurden auch gemacht bei insulinresistenten Typ-2-Diabetikern ⁽⁵⁵⁾, was darauf hindeutet, dass dieser Defekt der Entwicklung von Typ-2-Diabetes vorausgeht. Der Glukose-transport in der Skelettmuskulatur wird hauptsächlich durch einen spezifischen insulinempfindlichen Transporter, dem sogenannten Glukosetransporter 4 (GLUT4), vermittelt, während die Glukose-phosphorylierung durch Hexokinase katalysiert wird.

Fettsäure/Lipid-induzierte Insulinresistenz: Lipidinfusionen zur Erhöhung der Plasmafettsäurekonzentration bei Menschen und Nagetieren reduzieren die insulinstimulierte Glukoseentsorgung.^{(56) (57)} Außerdem tritt die Abnahme der Insulinsensitivität während solcher Lipidinfusionen nur einige Stunden nach Erhöhung der Fettsäurekonzentrationen auf, was der Vorstellung entspricht, dass die Fettsäureakkumulation in Skelettmuskel und Leber für dieses Phänomen verantwortlich ist.⁽⁵⁷⁾ Eine Fettsäureinfusion könnte möglicherweise direkte Auswirkungen auf die GLUT4-Aktivität haben oder den insulinregulierten GLUT4-Transport zwischen intrazellulären Kompartimenten und der Zellmembran verändern.⁽⁵⁸⁾

Mechanismen der Lipidakkumulation in Skelettmuskulatur und Leber:

Die Lipidakkumulation an ektopischen Stellen kann auf drei Arten erfolgen: Erhöhte Aufnahme von Fettsäuren, erhöhte Synthese im betroffenen Gewebe oder verringerte Oxidation/Beseitigung von Fettsäuren. Wie bereits erwähnt, führt eine Lipidinfusion zu einer Ansammlung von Lipiden im Skelettmuskel, und eine kurzzeitige Fütterung mit hohem Fettgehalt führt zu einer Erhöhung der Lebertriglyceride,⁽⁵⁹⁾ in beiden Fällen kommt es zu einer vorübergehenden Insulinresistenz. Erhöhte Fettsäurekonzentrationen sind typisch für eine Reihe von insulinresistenten Zuständen, einschließlich Adipositas, Typ-2-Diabetes und insulinresistenten Typ-2-Diabetikern, was darauf hindeutet, dass dies durchaus zur Akkumulation von ektopischen Lipiden beiträgt.⁽⁶⁰⁾ Eine Hyperinsulinämie ist beteiligt am Entstehen der Lipogenese in Muskel und Leber durch Erhöhung der Expression des sterolregulatorischen Elementbindungsproteins 1c (SREBP1c).⁽⁶¹⁾ SREBP1c ist ein wichtiger Transkriptionsregulator der De-novo-Lipogenese. Damit wäre zu erwarten, dass ein Defekt in der Fettsäureoxidation eine Lipidakkumulation induziert.

Entzündung und Insulinresistenz:

Adipositas ist eine sehr häufige Ursache für Insulinresistenz. Wie oben erwähnt, ist ein möglicher Mechanismus für diesen Zusammenhang die Ansammlung von ektopischen Lipiden. Adipositas ist jedoch auch mit einer systemischen chronischen Entzündungsreaktion verbunden, die durch eine veränderte Zytokinproduktion und die Aktivierung entzündlicher Signalwege gekennzeichnet ist.⁽⁶²⁾ Aktuelle Veröffentlichungen haben diese Entzündungsreaktion auf zwei verschiedene Arten mit der Entwicklung einer Insulinresistenz in Verbindung gebracht. Erstens kann die Aktivierung entzündlicher Signalintermediate direkt an der Serinphosphorylierung von IRS-1 in insulinempfindlichen Zelltypen wie Hepatozyten und Myozyten beteiligt sein und dadurch die Insulinresistenz induzieren. Zweitens kann eine entzündliche Zellinfiltration im Fettgewebe an der Veränderung des Fettstoffwechsels der Adipozyten beteiligt sein (beispielsweise wird berichtet, dass der Tumornekrosefaktor- α [TNF- α] die Lipolyse fördert) sowie an der Veränderung der Zytokinproduktion durch Fettgewebe, was wiederum möglicherweise Effekte in anderen metabolisch wichtigen Geweben haben kann.⁽⁶³⁾

Fettgewebe sezerniert eine Reihe von zytokinähnlichen Proteinen ("Adipokine"). Einige davon scheinen von Adipozyten selbst sekretiert zu werden, während andere größtenteils von Zellen in der Stromovaskulären Fraktion des Fettgewebes produziert werden.⁽⁶⁴⁾ Makrophagen machen einen signifikanten Anteil der Stromovaskulären Fraktion aus. Ihre Anzahl ist in adipösen Zuständen signifikant erhöht, in denen sie einen wesentlichen Beitrag zur Genexpression im Fettgewebe zu leisten scheinen.⁽⁶⁵⁾ ⁽⁶⁶⁾ Diese Zellen stammen aus Knochenmarksvorläufern und scheinen in adipösen Zuständen das Fettgewebe zu infiltrieren.

Zusätzlich zu den oben genannten Faktoren kann auch ein Mangel oder Überschuss einer Reihe anderer Adipokine an der Pathogenese der Insulinresistenz beteiligt sein.^(67, 68) Im Allgemeinen ist die Rolle dieses Proteinclusters bei der Modifizierung der Insulinsensitivität ungewiss. Einige der Proteine werden von anderen Zellen/Geweben als Adipozyten (z. B. PAI-1 und Apolipoprotein E) produziert, wobei einige genau definierte biologische Rollen haben, wodurch es schwierig ist, ihre funktionelle Bedeutung für den Fettgewebestoffwechsel zu bestimmen. Adiponektin ist eine Ausnahme von diesem Konzept, da es, obwohl es eine starke Sequenzhomologie mit Kollagen Typ VIII und X und der Komplementkomponente C1q aufweist und eine ähnliche Tertiärstruktur wie TNF- α aufweist, in differenzierten Adipozyten hoch und spezifisch exprimiert wird.⁽⁶⁹⁾ Adiponektin Rezeptoren 1 und 2 wurden identifiziert und werden in wichtigen insulinsensitiven Geweben wie Leber und Skelettmuskel exprimiert.⁽⁷⁰⁾

Der Nährstoffüberschuss führt zu einer Insulinresistenz, vermutlich durch vermehrte Expression von mitochondrialer Superoxiddismutase (MnSOD) im Skelettmuskel der intakten Mäuse.⁽⁷¹⁾ Das MnSOD-Enzym wirkt hier als antioxidativer Abwehrmechanismus.

Sowohl oxidativer Stress als auch die Mitochondrien sind an der IR beteiligt, was zu der Hypothese führt, dass der mitochondriale oxidative Stress dieser beiden Prozesse mit der IR korreliert. Die Vermutung liegt nahe, dass sich die Insulinresistenz schnell umkehren lässt bei Applikation von Wirkstoffen (1), die agieren als mitochondriale Entkoppler, (2) oder ETC-Hemmer oder (3) mitochondriale Superoxiddismutase-Mimetika. Darüber hinaus führte die akute Induktion der mitochondrialen Superoxidproduktion unter Verwendung

des Komplexes III Antagonist Antimycin A zu einer raschen Abschwächung der Insulinwirkung. ⁽⁷¹⁾

Die folgenden Faktoren wirken sich negativ auf die Insulinresistenz aus: ⁽⁷²⁾

1. Adipositas und Fettverteilung, zentral (Bauch und Taille) platziertes Fettgewebe, insbesondere in den Eingeweiden, sind mit Insulinresistenz verbunden. Ebenfalls vermutet wird der Einfluss zweier molekularer Peptide: Leptin und Adiponectin.
2. Alter: Mit zunehmendem Alter verringert sich die Insulinsensitivität.
3. Genetik: Insulinresistenz wurde mehreren Genmutationen zugeschrieben, deren Funktion nicht ausreichend geklärt ist. Die wenigen Mutationen, die bekannt sind, sind nicht häufig, unter 4%. Ein Beispiel ist der Peroxisom-Proliferator, der den Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor gamma (PPAR- γ) aktiviert. Die genetische Prädisposition der Betazell-Dysfunktion beginnt mit der Schwangerschaft durch die Kindheit bis zum Erwachsenenalter.
4. Diätetische Nährstoffe: Weltweit orientieren sich die Menschen in Richtung westlicher, raffinierter Kohlenhydrate und einer fettreichen Diät, die die Insulinsensitivität reduziert. Die Freisetzung freier Fettsäuren und ihrer Metaboliten löst eine entzündliche Reaktion aus, wobei Zytokine und Adipokine freigesetzt werden, was wiederum die Insulinsensitivität verringert.
5. Medikamente wie Wachstumshormone, Steroide und Nikotinsäure reduzieren die Insulinsensitivität.

Die folgenden Faktoren wirken sich positiv auf die Insulinresistenz aus:

1. Regelmäßige körperliche Aktivität.
2. Ausreichend Schlaf. ⁽⁷³⁾
3. Diätetische Maßnahmen: Reduktion von Kohlenhydraten, ausreichende Aufnahme an ungesättigten Fettsäuren. ⁽⁷⁴⁾

Insulin hat viele Wirkungen, die die Lagerung von Kohlenhydraten in verschiedenen Formen fördern: ⁽⁷⁵⁾

1. In der Skelettmuskulatur erhöht es den Transmembrantransport über GLUT4 in die Zelle zur Phosphorylierung von Glucose und damit zur Synthese von Glykogen.
2. In der Leber erhöht es die Synthese von Glykogen und erneuert die Lipogenese, obwohl die Glukoneogenese unterdrückt wird.
3. Im Fettgewebe hemmt es die Lipolyse und erhöht die Lipogenese.

Klinische Manifestation der Insulinresistenz

IR wird auch als 5H-Syndrom bezeichnet: (1) Hyperinsulinismus mit (2) Hyperglykämie, (3) Hyperlipoproteinämie, (4) Hypertonie, (5) Hirsutismus und dem polyzystischen Ovary-Syndrom.⁽⁷⁶⁾ IR ist auch mit dem metabolischen Syndrom oder Syndrom X korreliert. Zu den Anzeichen und Symptomen der IR gehören:

- Erhöhter Hunger nach Zucker oder kohlenhydratreichen Lebensmitteln
- Gewichtszunahme und Schwierigkeiten beim Abnehmen
- Müdigkeit
- Lethargie
- Brain-Fog und Konzentrationsschwäche

- Hoher Blutzucker
- Hoher Cholesterinspiegel bei niedrigem HDL-Spiegel
- Fettansammlung um die Bauchorgane
- Bluthochdruck
- Acanthosis nigricans, das entsteht, weil Insulin die Lipolyse von Fettgewebe verhindert.
- Akne mit großen Poren im Gesicht. Insulin und Insulin-like Growth Factor-1 (IGF1) fördern höhere Testosteronspiegel und erhöhen die Empfindlichkeit des Gesichtes gegenüber Testosteron.
- Polyzystisches Ovarialsyndrom (PCO)
- Haarausfall bei Frauen (männliches Muster).
- Erhöhtes Gichtisiko. Insulinresistenz führt zu einer hohen Umwandlung von Fructose zu Harnsäure. Erhöhte Harnsäure kann das Risiko von Gicht und Nierensteinen erhöhen.

Kontinuierliche Infusion von Glucose mit Modell-Bewertung (CIGMA)

CIGMA ist eine Methode, die von den Autoren von HOMA-IR verwendet wurde, um die Glukosetoleranz, Insulinresistenz und Betazellfunktion zu bestimmen. Es besteht aus einer kontinuierlichen Glukoseinfusion von 5 mg Glucose/kg Körpergewicht pro Minute für 60 Minuten mit Messung der Plasmaglukose- und Insulinkonzentrationen. Diese ähneln den postprandialen Spiegeln, ändern sich langsam und hängen von der dynamischen Wechselwirkung zwischen dem produzierten Insulin und seiner Auswirkung auf den Glukoseumsatz ab. Die Konzentrationen können unter Verwendung eines mathematischen Modells der Glukose- und

Insulinhomöostase interpretiert werden, um die Insulinresistenz und die Betazellfunktion zu bestimmen. ⁽⁷⁷⁾

Homeostatic Model Assessment (HOMA)

1985 haben Matthews et al. als erste den HOMA Index zur Quantifizierung der Insulinresistenz und der Betazellfunktion beschrieben. ⁽⁸¹⁾ Die HOMA-Autoren haben große Datenmenge aus physiologischen Studien verwendet, um mathematische Gleichungen zu entwickeln, um die Glucose-Regulation als Rückkopplungsschleife zu beschreiben. Sie haben Computersoftware verwendet, um diese Gleichungen zu lösen. Der Zweck dieser Gleichungen besteht darin, die Insulinresistenz und die β -Zellfunktion aus den Nüchtern-glucose und -insulinspiegeln abzuschätzen.

Später haben die Autoren das Computermodell zu einem HOMA2-Modell ⁽⁷⁸⁾ aktualisiert, um eine bessere Reflexion der menschlichen Physiologie zu erreichen, zusätzlich zur Neukalibrierung für moderne Insulinassays. In dieser Version wurde die Aktualisierung sowohl der Insulinsensitivität als auch der β -Zellfunktion aus der Paarung der Nüchternplasmaglucose mit drei Parametern bestimmt: Insulin (bestimmt mit RIA), spezifisches Insulin und C-Peptid-Konzentrationen. ^(79, 80)

Das Computermodell ist auch heutzutage verfügbar, wird jedoch nicht so häufig verwendet wie die Approximationsformeln. HOMA wurde gegen eine Vielzahl physiologischer Methoden validiert.

Die physiologischen Grundlagen für das HOMA-Modell

Das HOMA-Modell liefert eine Abschätzung der Insulinsensitivität und der Funktion der β -Zellen aus Nüchternkonzentrationen von Insulin und Glucose ⁽⁸¹⁾. Es gibt eine Beziehung zwischen Plasmaglucose und Insulin im basalen

Zustand, die das Gleichgewicht zwischen der Glucoseproduktion in der Leber und der Insulinsekretion widerspiegelt, die durch eine Rückkopplungsschleife zwischen Leber und β -Zellen aufrechterhalten wird ⁽⁸²⁾. Die im Modell verwendeten Vorhersagen beruhen auf experimentellen Daten bei Menschen und Tieren.

Die Insulinsensitivität wurde modelliert, indem die Wirkung der Insulinkonzentrationen im Plasma sowohl in der Leber als auch in der Peripherie proportional verringert wurde, während die Abnahme der β -Zellfunktion durch Änderung der β -Zellantwort auf die Plasmaglukosekonzentrationen modelliert wurde. ⁽⁸²⁾ In beiden Fällen bleibt der Glucoseumsatz im Modell konstant. Es wurde kein Unterschied zwischen der Leberinsulinsensitivität und der peripheren Insulinsensitivität festgestellt.

Typen der HOMA-Modelle

HOMA1

Dies ist die ursprüngliche HOMA-Modellform von Matthews et al (Abb. 1-7). Sie verwendeten eine einfache mathematische Approximation der ursprünglichen nichtlinearen Lösung zu den iterativen Gleichungen. Diese gängigen Gleichungen sind vereinfacht (siehe Gleichungen 1 bis 4). ⁽⁸¹⁾ Bei HOMA-IR ist IR die Abkürzung für Insulinresistenz, dieser Parameter hat keine Einheit und ist das Resultat der Multiplikation von Insulin und Glucose durch eine feste Zahl, je nachdem welche Einheit von Insulin benutzt ist. Die normalen Werte von HOMA-IR liegen unter 2.5 bei einer gesunden japanischen Bevölkerung unter Verwendung des oberen 97,5-Perzentils ⁽⁸³⁾, wogegen die Werte > 2.5 auf Insulinresistenz hindeuten können. Patienten mit DM haben meistens deutlich hohe Werte. Bei HOMA- β ist β die Abkürzung für Betazellen-Funktion im Pankreas. HOMA- β wird angegeben

in % und ein Wert von 100% HOMA- β deutet auf optimale Funktion der Betazellen hin, auf der anderen Seite: wenn ein Patient absoluten Insulinmangel oder Zustand nach Pankreatektomie hat, dann hat er konsequenterweise kein messbares Insulin und in diesem Fall wird HOMA- β 0%.

$$\text{HOMA} - \text{IR} = \frac{\text{Glucose (mmol/L)} \times \text{Insulin (mIU/L)}}{22} \quad (1)$$

$$\text{HOMA} - \text{IR} = \frac{\text{Glucose (mg/dL)} \times \text{Insulin (mIU/L)}}{405} \quad (2)$$

$$\text{HOMA} - \text{IR} = \frac{\text{Glucose (mg/dL)} \times \text{Insulin (pmol/L)}}{2419.86} \quad (3)$$

$$\text{HOMA} - \beta = \frac{20 \times \text{Insulin (mIU/L)}}{\text{Glucose (mmol/l)} - 3.5} \% \quad (4)$$

$$\text{HOMA} - \beta = \frac{360 \times \text{Insulin (mIU/L)}}{\text{Glucose (mg/dl)} - 63} \% \quad (5)$$

Abbildung 1-7 zeigt die Verteilung zwischen Plasmaglucoese und Insulinproduktion aus Beta-Zellen, wobei die Verschiebung nach rechts und unten auf eine geringe Insulinproduktion und die Verschiebung nach oben auf eine Insulinresistenz hinweist.

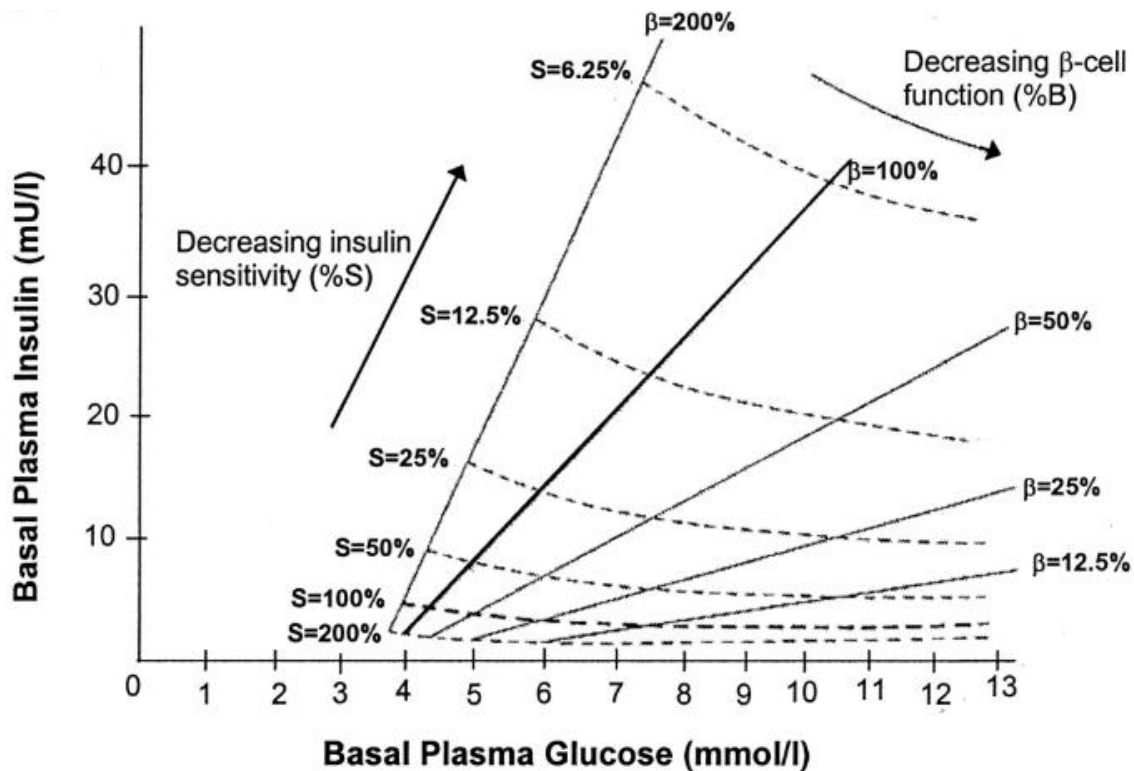


Abbildung 1-7: HOMA1-Modell (das 1985 HOMA-Modell) ⁽⁸⁴⁾

HOMA2: Das aktualisierte HOMA-Modell

Das korrekt gelöste Computermodell ⁽⁸⁵⁾ hat nichtlineare Lösungen (Abb. 1-8). Diese sollten verwendet werden, wenn HOMA mit anderen Modellen verglichen wird (z. B. dem Minimalmodell). (Das HOMA2-Modell ist unter www.OCDem.ox.ac.uk verfügbar.

Abbildung 1-8 zeigt die Verteilung von Insulin und Blutglucose. Auf der rechten Seite der Kurve sieht man eine hohe Glukosekonzentration mit niedrigen Insulinspiegeln, was auf eine beeinträchtigte Betazellenfunktion hinweist. Die hohen Insulinspiegel mit einer hohen Glukosekonzentration oder einem oberen Normalwert beziehen sich auf die Insulinresistenz (vergleiche hohe Insulinspiegel zwischen 5 und 10 mmol/l Glucose). Der

Unterschied zwischen Abb. 1-7 und 1-8 liegt in der Linearität der Darstellung der Insulinsensitivität als auch der B-Zellenfunktionalität.

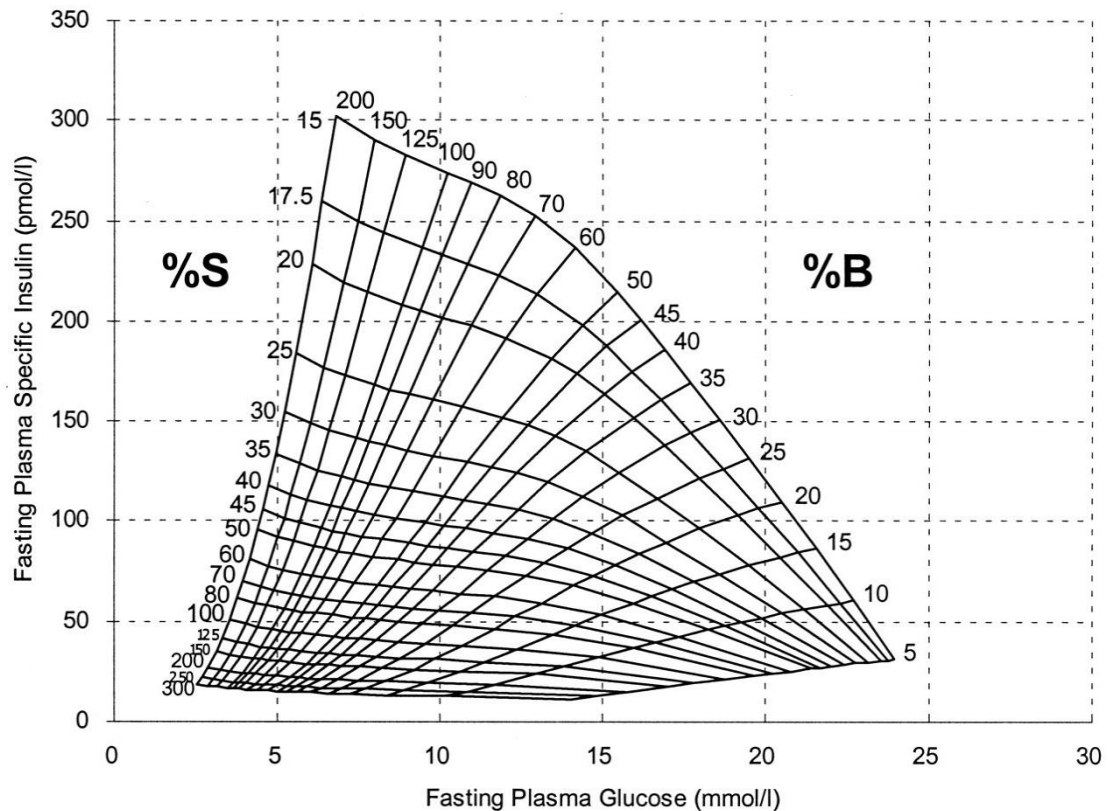


Abbildung 1-8: HOMA2: (das 1996 HOMA-Modell) ⁽⁸⁶⁾

Das Computermodell kann verwendet werden, um die Insulinsensitivität (%S) und die β -Zellfunktion (%B) aus der Paarung von Nüchternplasmaglucoose mit (1) RIA-Insulin, (2) spezifischem Insulin oder (3) C-Peptidkonzentrationen in einem Bereich von 1 - 2200 pmol/l für Insulin und 1 - 25 mmol/l (18 - 450 mg/dl) für Glucose zu bestimmen. Bei der Dateneingabe ist ein klinisches Urteilsvermögen erforderlich: Zum Beispiel stellt ein Blutzuckerwert von $<2,5$ mmol/l eine Hypoglykämie dar, bei der es sich nicht um eine Steady-State Situation handelt, oder um ein Assay-Problem. In beiden Fällen ist es klar, dass solche Werte nicht im Modell verwendet werden sollten.

Die Gleichungen geben Schätzungen von HOMA1-IR und HOMA1-% B an, die zwischen Populationen verwendet werden können (mit der Maßgabe, dass Insulin- und Glucoseassays vergleichbar sind) oder zur Untersuchung von longitudinalen Veränderungen. Die Gleichungen basierten jedoch auf dem HOMA1-Modell von 1985, das mit einem in den 70er Jahren verwendeten Insulintest kalibriert wurde und %S systematisch unterschätzte und folglich %B im Vergleich zu neueren Assays überschätzte. Die Gleichungen funktionieren gut bei der Beurteilung der relativen Veränderung. Das heißt, die prozentuale Änderung oder Differenz in einem Modell wird als ähnliche prozentuale Änderung oder Differenz in dem anderen Modell angezeigt. Bei der Beurteilung der absoluten Resistenz oder der Funktion der β -Zellen sollte jedoch das korrigierte nichtlineare (Computer-) Modell verwendet werden, da dieses gemäß den aktuellen Insulintests neu kalibriert und erweitert wurde, um bei Bedarf die Verwendung von C-Peptid zu ermöglichen. Die Gleichungen werden derzeit für die Verwendung mit neueren Assays angepasst.

Probenahme

Aufgrund der Pulsatilitätssekretion von Insulin ist die Verwendung des Mittelwerts von drei Proben, die in Abständen von 5 Minuten zur Berechnung von HOMA genommen wurden, theoretisch besser als die Verwendung einer einzelnen Probe ⁽⁸¹⁾. In der Praxis wird jedoch häufig nur eine einzige Probe genommen. Dies ist ein akzeptabler Kompromiss und führt zu ähnlichen Ergebnissen in großen Datensätzen. Daten von 30 Probanden mit diätbehandeltem Typ-2-Diabetes ⁽⁸⁷⁾ zeigen nahezu perfekte Korrelationen zwischen HOMA2-% B und HOMA2-% S, berechnet aus dem Mittelwert von drei Basalproben im Abstand von 5 Minuten und aus einer einzelnen Basalprobe ($r = 0,99$, $P < 0,0001$). Wenn jedoch HOMA zur

Bestimmung der β -Zellfunktion und Insulinsensitivität bei Personen verwendet wird, ergeben sich bei Verwendung einer einzigen Probe Variationskoeffizienten (CVs) von 10,3% für HOMA-% S und 7,7% für HOMA-% B ⁽⁸⁷⁾ verglichen mit 5,8 bzw. 4,4%, wenn drei Proben genommen werden; Unter diesen Umständen ist die Verwendung der mittleren Insulinkonzentration aus drei Proben ratsam.

Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus ist eine Stoffwechselstörung, bei der der Körper die Fähigkeit verliert, die hohen Glucosespiegel im Blut zu kontrollieren, entweder aufgrund von B-Zellen-Dysfunktion (Typ I DM) oder aufgrund des Insulinresistenz-mechanismus (Typ II DM), so dass der Blutzucker über den normalen Bereich steigt.

Diabetes mellitus Typ 1

Diabetes mellitus Typ 1 ist seltener als Typ 2 DM (ca. 5 - 10% aller Personen mit Diabetes mellitus). Typ 1 DM ist idiopathisch. Bei vielen Patienten des Typ-1-DM-Patienten liegen verschiedene Autoantikörper (IAA, ICA, IA2 und GAD) vor. Auf diese Weise greift das Immunsystem, das normalerweise schädliche Bakterien oder Viren bekämpft, Insulinproduzierenden Zellen (Betazellen) im Pankreas an und zerstört sie. Das führt zu unzureichender Insulinproduktion bis hin zu absolutem Insulinmangel. Einige Wissenschaftler waren der Meinung, dass Typ I DM durch eine Kombination aus genetischer Prädisposition und Umweltfaktoren verursacht wird. Daher ist die genaue Ursache noch unklar.

BOX 1-3 Die diagnostischen Kriterien für Diabetes Mellitus

Das Vorliegen eines der folgenden Kriterien ist ausreichend für die Diagnose DM:

Glucose	Nüchternblutzucker (FPG) ≥ 126 mg/dl für mindestens 8 Stunden Spontane Plasmaglucoese ≥ 200 mg/dl mit Symptomen einer Hyperglykämie wie Polyurie, Polydipsie und unerklärlicher Gewichtsverlust Plasmaglucoese nach 2 Stunden ≥ 200 mg/dl während eines OGTT-Tests
Hämoglobin A1c (HbA1c)	HbA1c $\geq 6,5\%$ (die Messung muss mit einer Standardmethode durchgeführt werden und die Verwendung von POCT ist für die Diagnose nicht akzeptabel.)

Notiz: Wenn die Werte nicht offensichtlich erhöht sind, muss ein Bestätigungstest an einem anderen Tag wiederholt werden.

Diabetes mellitus Typ 2

Beim Diabetes mellitus Typ 2 treten anfangs hohe Insulinspiegel mit einer deutlichen Insulindysfunktion oder der sogenannten Insulinresistenz auf. Hier kann die Glucose, die aus dem Darm aufgenommen wurde, nicht von Muskeln genutzt oder im Fettgewebe gespeichert werden, und daher steigt die Glucosekonzentration im Blut. BOX 1-3 zeigt die diagnostischen Kriterien von DM.

Prädiabetes

Dieser Begriff bezieht sich auf 2 Fälle: (1) gestörte Nüchternglucose (IFG) wenn die Nüchternglucose im Bereich von 100 - 125 mg/dl liegt, (2) gestörte Glucosetoleranz (IGT) wenn die Plasmaglucoese nach 2 Stunden im OGTT im Bereich von 140 bis 199 mg/dl liegt. Für die Diagnose von Prädiabetes oder Diabetes werden zwei Glucosemessungen an zwei verschiedenen Tagen benötigt. Box 1-4 zeigt die diagnostischen Kriterien für Prädiabetes. In GHS-Studie wurde der Prädiabetes über die HbA1c-Konzentration definiert.

BOX 1-4 Kriterien für die Diagnose von Prädiabetes ⁽⁸⁸⁾

Glucose	gestörte Nüchtern-glucose (IFG) Nüchternblutzucker im Bereich von 100 - 125 mg/dl
	gestörte Glucosetoleranz (IGT) Es sind zwei Kriterien erforderlich: Nüchternblutzucker <126 mg/dl Die Plasmaglukose nach 2 Stunden im OGTT liegt zwischen 140 und 199 mg/dl
HbA_{1c}	HbA _{1c} ≤5.7% - <6.5%

Epidemiologie des Diabetes Mellitus

Typ-2-Diabetes mellitus hat sich zu einem weltweiten Problem mit pandemischen Ausmaß entwickelt, und derzeit sind die Medien damit beschäftigt, dieses Problem aufzuzeigen, und auch die Pharmaindustrie versucht immer, neue Antidiabetika zu entwickeln. In den Industrieländern ist Diabetes mellitus die Hauptursache für Erblindung bei Erwachsenen im erwerbsfähigen Alter, ⁽⁸⁹⁾ Niereninsuffizienz im Endstadium (ESRD) ⁽⁹⁰⁾ und Diabetischer Fuß ⁽⁹¹⁾. DM ist auch die fünfthäufigste Todesursache. ⁽⁹²⁾

In Europa leiden ca. 60 Millionen Menschen an Diabetes mellitus, das entspricht ca. 10,3% der Männer und ca. 9,6% der Frauen über 25 Jahre. Die Prävalenz von DM nimmt aufgrund des sitzenden Lebensstils bei Menschen jeden Alters zu. ⁽⁹³⁾

Die geschätzten Gesamtkosten für diagnostizierten Diabetes mellitus im Jahr 2017 in den USA betragen 327 Milliarden US-Dollar, darunter 237 Milliarden US-Dollar an direkten medizinischen Kosten und 90 Milliarden US-Dollar wegen reduzierter Produktivität. ⁽⁹²⁾

In Deutschland beliefen sich die Pro-Kopf-Kosten für Menschen mit Typ-2-Diabetes auf 4.957 € im Jahr 2009 und auf 5.146 € im Jahr 2010. Menschen mit Typ-2-Diabetes hatten 1,7-mal höhere Gesundheitsausgaben als Menschen ohne Diabetes. Zehn Prozent der gesamten gesetzlichen Krankenversicherungskosten, insgesamt 16,1 Milliarden Euro, entfielen auf die medizinische Versorgung von Menschen mit Typ-2-Diabetes. ⁽⁹⁴⁾ Diese Kosten beinhalten nur die gesetzlichen Krankenversicherungskosten und nicht die Kosten der Privatkrankenversicherung. Die gesamten Kosten sind aufgeführt im deutschen Gesundheitsbericht für Diabetes 2017: „Pro Jahr entstehen durch Diabetes und seine Folgekrankheiten Kosten von rund 35 Milliarden Euro für Behandlung, Pflege, Arbeitsunfähigkeit und Frühverrentung“. Darüber hinaus entstehen Kosten durch schlecht eingestellten Blutzucker, der nach gewisser Zeit zu Amputationen, einem Leben mit Dialyse oder Herz- und Gefäßkomplikationen, sowie Herzinfarkt oder Schlaganfall führen kann. ⁽⁹⁵⁾

Kapitel II

Material und Methoden

Die Gutenberg Gesundheitsstudie (GHS-Studie)

Die GHS-Studie ist eine populationsbasierte prospektive monozentrische Kohortenstudie, die 2007 am Universitätsklinikum Mainz startete. Das Projekt konzentriert sich auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebs, Augenerkrankungen, Stoffwechselerkrankungen, Erkrankungen des Immunsystems und psychische Störungen. Ziel der Studie ist es, die individuelle Risikovorhersage für Krankheiten zu verbessern.

Dazu werden laborchemische Parameter, Parameter für intermediäre, subklinische Erkrankungen, der Einfluss genetischer Varianten, Umwelt- und psychosoziale Faktoren und der Lebensstil untersucht. Außerdem sollen der prädiktive Wert neuer diagnostischer Instrumente und die Prävalenz- und Inzidenzraten genetischer Varianten und von Umweltfaktoren beurteilt werden. Zusätzlich soll eine umfangreiche Biomaterialbank aufgebaut werden.

Der primäre Endpunkt ist eine Kombination aus dem primären Myokardinfarkt und dem kardialen Tod. Sekundäre Endpunkte sind als Schlaganfall, Diabetes mellitus, Herzinsuffizienz, Vorhofflimmern und Tod jeglicher Ursache definiert. Tertiäre Endpunkte gibt es viele aus den Bereichen der Onkologie, Augen- und Stoffwechselerkrankungen, Erkrankungen des Immunsystems und der Psyche.

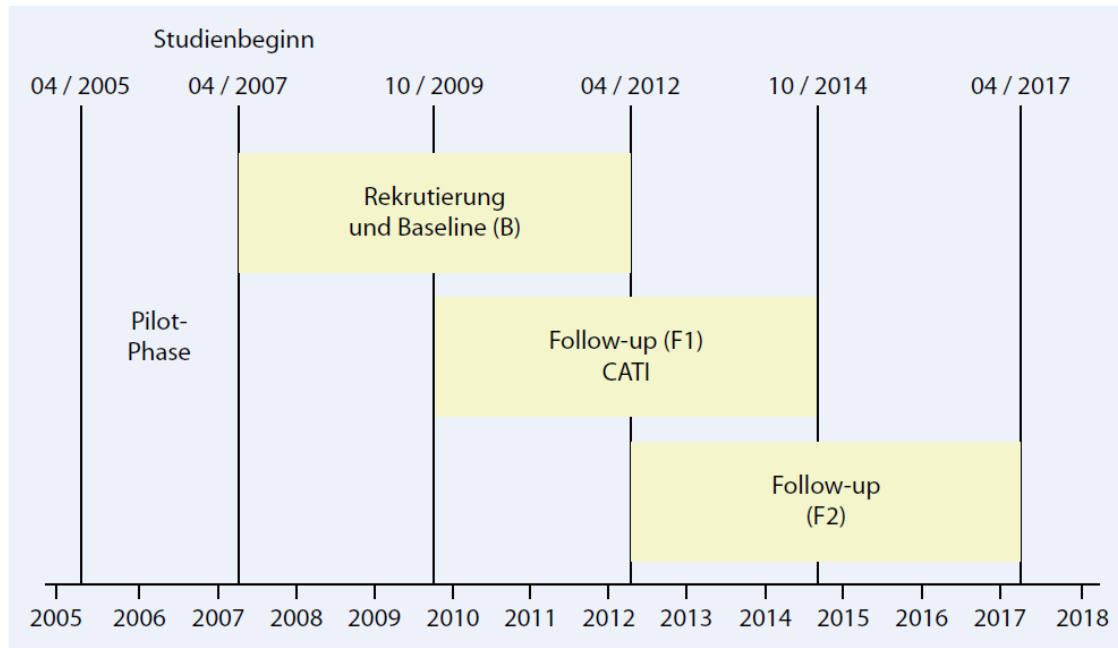


Abb. 2-1 Ablaufschema der Gutenberg-Gesundheitsstudie

Zu Beginn wird eine fünfstündige Basisuntersuchung durchgeführt. Nach 2,5 Jahre erfolgt ein computerassistiertes Telefoninterview (CATI), nach fünf Jahren findet eine detaillierte Follow-Up-Untersuchung statt (Abb. 2-1), weitere Nachuntersuchungen sind geplant. Es wurde eine Kohortengröße von 15000 Probanden für die Basisuntersuchung definiert, entsprechend der Fallzahlenberechnung für den primären Endpunkt.

Die Studienbasis liegt in Westdeutschland, Rheinland-Pfalz, Rhein-Main-Region und beinhaltet die Stadt Mainz und den Landkreis Mainz-Bingen (Abb. 2-2). Dort lebten Anfang 2007 insgesamt 397.796 Menschen, davon 196.425 in der Stadt Mainz, 201.371 im Landkreis Mainz-Bingen. ⁽⁹⁶⁾

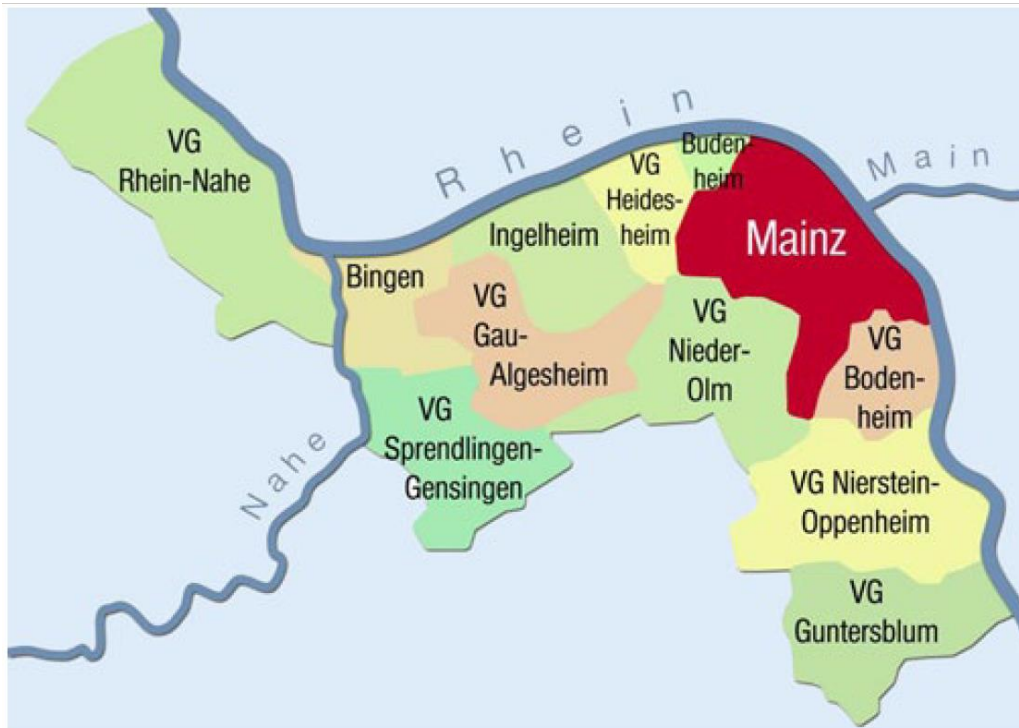


Abb. 2-2 Die Studienbasis der Gutenberg- Gesundheitsstudie: Die Stadt Mainz und der Landkreis Mainz-Bingen. © ⁽⁹⁶⁾

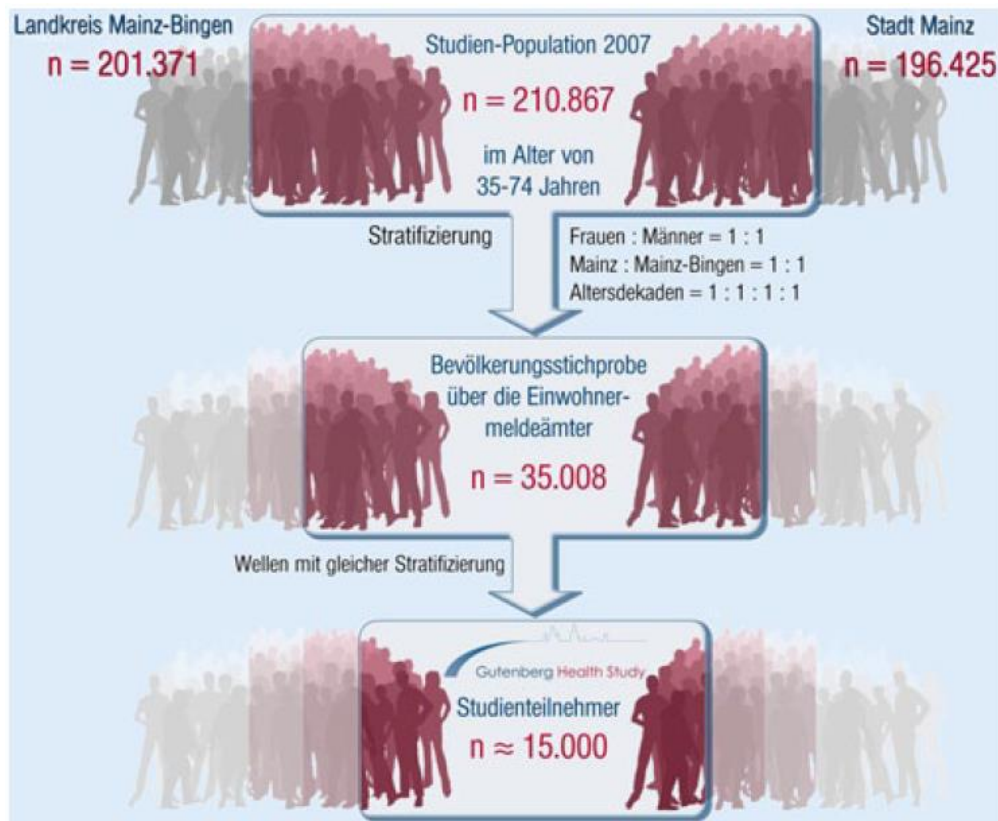


Abb. 2-3 Verfahren zur Stichprobenziehung aus der Studienpopulation ⁽⁹⁷⁾

Als Zielgruppe wurden Männer und Frauen im Alter von 35 bis 74 Jahren definiert (n=210.867), wobei das Verhältnis 1:1 für das Geschlecht und 1:1 für den Wohnort (Stadt und Landkreis) betragen sollte, sowie 1:1:1:1 für die vier Altersdekaden. Die Stichproben wurden aus den Einwohnermeldeämtern erhoben, ein standardisiertes Rekrutierungsverfahren (Abb.2-3), so dass auch Zwischenauswertungen möglich waren. Personen, die nicht in der Lage waren, das Studienzentrum aufzusuchen oder der deutschen Sprache nicht mächtig waren, wurden aus Machbarkeitsgründen gemäß Studienprotokoll ausgeschlossen.

Untersuchungen im Studienzentrum

Damit die Studienergebnisse vergleichbar sind, werden die Teilnehmer um eine definierte Vorbereitung gebeten, so sollen sie acht Stunden vor der Untersuchung nüchtern sein. Die Untersuchungen selbst laufen in einer vorgegebenen Reihenfolge ab und sind in Standard Operating Procedures (SOPs) definiert. Es handelt sich um ein computerassistiertes persönliches Interview, zahlreiche medizinisch-technische Untersuchungen, eine Befragung mit standardisierten Fragebögen sowie ein umfassendes Biobanking (Box 2-1). Die komplette Untersuchung dauert fünf Stunden.

Nach der Untersuchung erhalten die Teilnehmer einen Studienaussweis, ein Tagebuch, in das sie alle Erkrankungen, die länger als drei Wochen dauern, eintragen sollen, und eine Zusammenfassung aller klinisch bedeutsamen Untersuchungsergebnisse, die sie mit ihrem Hausarzt besprechen können.

Box 2-1

Untersuchungen im Studienzentrum der GHS-Studie ⁽⁹⁷⁾

Medizinisch technische Untersuchungen

- Spirometrie
- Messung von Kohlenmonoxid in der Alveolarluft
- Blutdruck und Herzfrequenz im Ruhe, Körpertemperatur
- Simultane Bestimmung von flussmediierter Vasodilatation sowie arterieller Steifigkeit mittels Messung der Reaktivität der A. brachialis mittels Ultraschall, Volumenplethysmographie der Digitalarterie mittels Endo-PAT sowie digitaler photoplethysmo-graphischer Pulskurvenanalyse
- Neurokardiale Regulation
- Verschlussdruckmessung der Beine mit Bestimmung des Ankle-Brachial-Index
- Erfassung der aktuellen Wetterdaten
- Anthropometrie
- Elektrokardiogramm, Rhythmusstreifen
- Venöse Blutentnahme mit Bestimmung laborchemischer Routineparameter
- Sonographie der Halsschlagadern
- Zwei- und dreidimensionale Echokardiographie
- Ophthalmologische Untersuchung mit Bestimmung von Visus und Refraktion, Perimetrie (FDT), Fundusfotografie, Pachymetrie, Tonometrie und Spaltlampenuntersuchung

Gewinnung von Biomaterialien für das Biobanking

- Blutplasma
- Blutserum
- DNA (isoliert)
- RNA (isoliert)
- Gewaschene Erythrozyten
- Urin
- Zahntaschenabstrich

Die Biomaterialien werden unmittelbar nach Entnahme verarbeitet. Die genomische DNA eines Probanden wird aus den Leukozyten zweier EDTA-Blutproben nach der Miller-Methode isoliert ⁽⁹⁸⁾, wobei der DNA-Gehalt und auch die Qualität und Reinheit der Probe spektralphotometrisch bestimmt werden. Die monozytäre RNA wird mit Trizol und dem RNeasy Midi Kit extrahiert. Dazu werden die Monozyten vorab aus dem Vollblut mittels

Negativselektion durch einen Cocktail zur Anreicherung humaner Monozyten separiert. Außerdem wird RNA aus peripheren mononukleären Zellen (PBMCs) isoliert. Die Quantität und Reinheit der RNA wird mittels NanoDrop N-1000, die Qualität mittels Bioanalyzer 2100 überprüft. Alle Prozesse werden dokumentiert und elektronisch gespeichert. Die Proben werden bei -80 °C unter Standardbedingungen in zwei räumlich getrennten Lagern asserviert, die mit einem elektronischen Temperaturüberwachungssystem überprüft werden.

HOMA-IR Studie

Die GHS-Studie umfasste 15.010 Teilnehmer im Alter vom 35 und 74 Jahren. Die Basisuntersuchungen wurden zwischen 2007 und 2012 durchgeführt. Die HOMA-IR Studie hatte 10340 Teilnehmer, von denen sowohl der Insulinspiegel als auch die Nüchtern-glucose im Serum bestimmt wurden.

Die folgenden Parameter wurden 2007 und 2012 dokumentiert: Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht, Taillenumfang, BMI, WHtR (Verhältnis Taille zur Größe), SBP (systolischer Blutdruck), DBP (diastolischer Blutdruck), HR (Herzfrequenz), Alkoholkonsum (ja/nein), Rauchen (ja/nein), kardiovaskuläre Erkrankungen, COPD, Krebs, akute Infektion, VAI, Fettleberindex, metabolisches Syndrom, Insulinresistenzsyndrom, Diabetes, Prädiabetes.

Folgende Parameter wurden im Zentrallabor der Universität Mainz ermittelt: HbA1c, Glucose, Insulin, C-Peptid, HOMA-IR, Cholesterin, Nicht-HDL-Cholesterin, LDL, HDL, LDL/HDL Quotient, Triglyceride, GOT, GPT, GGT, GOT/GPT-Verhältnis, CRP, Kreatinin und eGFR.

Für die Bestimmung von Glucose, Insulin, C-Peptid, Cholesterin, LDL, HDL, Triglyceriden, GOT, GPT, GGT, CRP und Kreatinin wurden Geräte und

Reagenzien der Firma Abbott (Abbott Architect) verwendet. Zur Bestimmung von HbA1c wurde eine HPLC-Methode der Firma BioRad verwendet.

Die folgenden Formeln und Definitionen wurden verwendet:

Bewertung des HOMA-IR für den Insulinresistenzindex:

HOMA-IR = Nüchterninsulin (mIU/l) x Nüchternglucose (mg/dl) /405, die sich auf die Formel beziehen:

HOMA-IR = Nüchterninsulin (pmol/l) x Nüchternglucose (mg/dl) /2419.86, unter Verwendung von GHS-Einheiten

1 IE Insulin entspricht 0.0347 mg laut WHO;

Molekulargewicht des Insulins = 5807,57 g/mol; 1 mIU = 5,97496 pmol

Viszeraler Adipositas-Index (VAI; geschlechtsspezifisch): ⁽⁹⁹⁾

VAIm (männlich) = Taillenumfang [cm] / (39,68 + 1,88 × BMI [kg/m²]) × TG [mmol/L] /1,03 × 1,31/HDL-C [mmol/L]

VAIf (weiblich) = Taillenumfang [cm] / (36,58 + 1,89 × BMI [kg/m²]) × TG [mmol/L] /0,81 × 1,52/HDL-C [mmol/L]

Adipositas-Status:

Normalgewicht = definiert als BMI 18,5 - 24,9 kg/m²

Übergewicht = definiert als BMI 25 - 29,9 kg/m²

Adipositas = Adipositas wird durch einen BMI von ≥ 30 kg/m² definiert

Dyslipidämie = LDL/HDL-Verhältnis > 3.5; dabei handelt es sich um von einem Arzt diagnostizierte Dyslipidämie oder medikamentöse Behandlung von Dyslipidämie (Selbstbericht).

Ektopes Leberfett:

Fettleberindex (FLI) ⁽¹⁰⁰⁾ = $e^{(0.953 \times \log_e(\text{Triglycerides; mg/dl}) + 0.139 \times \text{BMI} + 0.718 \times \log_e(\text{GGT; IU/L}) + 0.053 \times \text{Taillenumfang (cm)} - 15.745)} / (1 + e^{(0.953 \times \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \times \text{BMI} + 0.718 \times \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{Taillenumfang} - 15.745)}) \times 100$

Hypertonie = $\geq 140/90$ mmHg oder Proband wird mit Antihypertensiva therapiert

Nicht-HDL-Cholesterin = Gesamtcholesterin - HDL-Cholesterin, umfassend VLDL, IDL, LDL, Lp (a)

CVDs (cardiovaskular disease) umfassen Erkrankungen der Koronargefäße, Herzinsuffizienz, Herzinfarkt, Schlaganfall, Vorhofflimmern, Erkrankungen der peripheren Arterien, Venenthromboembolien, Lungenödem.

Die Kriterien der Referenzgruppe für HOMA-IR:

In dieser Studie wurden die folgenden Kriterien verwendet, um eine Referenzgruppe zu definieren:

- Euglykämie (HbA1c <5,7%; <39 mmol/l), BMI <30 kg/m²
- keine diagnostizierten Krankheiten (d.h. Prädiabetes, CVDs, Krebs, Chronische Niereninsuffizienz, Chronische Lebererkrankungen) und
- Weiterer Ausschluss der meisten kardiovaskulären Risikofaktoren, die mit dem metabolischen Syndrom assoziiert sind, gemäß der harmonisierten Definition der International Diabetes Federation, der American Heart Association und des National Heart, Lung and Blood Institutes (2009), angepasst an die Taillenumfangsgrenzwerte für Menschen von europäischer kaukasischer Herkunft gemäß der International Diabetes Federation /WHO und somit:
 - Taillenumfang von <94 cm bei Männern und <80 cm bei Frauen

- systolischer und diastolischer Blutdruck von <130 bzw. <85 mmHg und keine Antihypertensiva-Therapie
- Triglyceridkonzentration von <150 mg/dl und keine medikamentöse Behandlung bei erhöhten Triglyceriden
- HDL-Konzentration von ≥ 40 mg/dl bei Männern und ≥ 50 mg/dl bei Frauen

Vergleich der Insulinbestimmung mit 3 verschiedenen Methoden

Die verfügbaren Assays für Insulin sind Immunoassays, bei denen sich ein unterschiedliches Ergebnisspektrum ergab. Daher das Ziel war die unterschiedliche Ergebnisse der verschiedenen, auf dem Markt erhältlichen Assays offenlegen und darauf konzentrieren.

Aus 89 Patientenproben wurde Insulin mit 3 verschiedenen Methoden und Geräten bestimmt. Dazu wurden Proben von Patienten, deren HbA1c-Werte zuvor bekannt waren, verwendet. Es sollten Proben mit normalem, hohem und zu hohem HbA1c-Wert gemessen werden, um ein relativ breites Spektrum an Insulinwerten zu erhalten. Die 89 Serumproben wurden eine Woche lang bei - 20°C eingefroren, da nicht alle Proben an einem Tag gesammelt werden konnten. Ziel war, alle Proben gleichzeitig zu messen, deswegen wurden die Proben auf drei Aliquotes aufgeteilt. Schließlich wurden die 89 Proben gleichzeitig mit jedem Gerät gemessen, um die Diskrepanzen in der Präanalytik zu minimieren.

Es wurden drei Assays von drei verschiedenen Firmen auf drei Geräten verwendet. In Tabelle 2-1 sind die drei Firmen mit dem entsprechenden Messprinzip aufgeführt und auch angegeben, welcher Umrechnungsfaktor in jedem Assay verwendet wurde:

Tabelle 2-1 Insulinbestimmungen mit 3 verschiedenen Methoden

Firma	Kit-Name	Messprinzip	Umrechnungsfaktor von $\mu\text{U/ml}$ in pmol/l
Abbott	ARCHITECT Insulin	CMIA (Chemiluminescent Microparticle Immuno Assay)	7.175
Roche	ELECSYS Insulin	ECLIA (Electrochemiluminescence Immunoassay)	6,945
Siemens	IMMULITE 2000	Enzyme-labeled chemiluminescent immunometric assay	7.217

Für die GHS-Studie wurden die folgenden Assays verwendet:

ARCHITECT Insulin Assay: ⁽¹⁰¹⁾

Analyzer: Architect ci 8200, Abbott Diagnostics

Methode: Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoassay (CMIA)

Testprinzip: Die Probe, die mit anti-Insulin beschichteten Mikropartikel und das anti- Insulin-Akridium markierte Konjugat werden gemischt. Das Insulin der Probe bindet an die mit anti-Insulin beschichteten Mikropartikel und das anti-Insulin-Akridium markierte Konjugat Nach dem Waschen werden Pre- und Triggerlösung zur Auslösung der Chemilumineszenz zugegeben. Die Impulserfassung erfolgt als relative Lichteinheit (RLE). RLE und die Insulin-Menge stehen in einem direkten proportionalen Verhältnis.

Einschränkungen des Verfahrens:

- Heterophile Antikörper im Humanserum können mit Reagenzien, Immunglobulinen, reagieren und In-vitro-Immunoassays stören. Patienten, die routinemäßig Tieren oder tierischen Serumprodukten ausgesetzt sind, können zu dieser Störung neigen und es können anomale Werte auftreten.
- Proben von Patienten, die monoklonale Antikörper von Mäusen zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Antimouse-

Antikörper (HAMA) enthalten. Proben, die HAMA enthalten, können bei Assays (wie ARCHITECT Insulin), die monoklonale Maus-Antikörper verwenden, anomale Werte erzeugen.

- Der Insulinspiegel kann bei Patienten mit Insulin-Autoimmun-Syndrom niedriger sein.
- Es dürfen keine hämolysierten Proben verwendet werden, da ein enzymatischer Abbau von Insulin auftreten kann und zu niedrigeren Assaywerten führt. Es wurde jedoch gezeigt, dass gereinigtes Hämoglobin bis zu 500 mg/dl nicht stört.
- Proben von Patienten, die mit Insulin von Rindern oder Schweinen behandelt wurden, können Insulinantikörper enthalten, die den Assay beeinträchtigen könnten.

Analytische Empfindlichkeit

Die analytische Empfindlichkeit ist als untere Nachweisgrenze definiert und wird als Mittelwert der Blindprobe zuzüglich der 2-fachen SD aus der Blindprobe geschätzt. Der ARCHITECT Insulin Assay hat eine Empfindlichkeit von $\leq 1,0 \mu\text{U/ml}$.

Präzision:

Der Gesamtvariationskoeffizient des ARCHITECT Insulin-Assays beträgt $\leq 7\%$. Eine Studie wurde durchgeführt,⁽¹⁰²⁾ wie im Protokoll EP5-A2 des Nationalen Komitees für klinische Laborstandards (NCCLS) beschrieben. Sieben Proben, bestehend aus vier serumbasierten Panels und drei Insulin-Kontrollen, wurden 20 Tage lang zu zwei getrennten Zeiten pro Tag in zwei Wiederholungen getestet (n = 80 für jede Probe) unter Verwendung von drei Reagenzienchargen. Daten aus dieser Studie sind in der folgenden Tabelle (Tab. 2-2) zusammengefasst. ⁽¹⁰²⁾

Tabelle 2-2: Die Präzision des ARCHITECT Insulin-Assays

Sample	Lot	Mean Insulin	Repeatability		Within-Labaoratory	
		($\mu\text{U/mL}$)	SD	%CV	SD	%CV
Low Control	1	7,47	0,27	3,6	0,33	4,5
	2	7,61	0,32	4,2	0,40	5,2
	3	7,64	0,27	3,5	0,36	4,7
Medium Control	1	38,35	0,79	2,0	0,89	2,3
	2	37,80	0,65	1,7	1,04	2,8
	3	38,47	0,79	2,1	0,91	2,4
High Control	1	119,41	2,14	1,8	2,46	2,1
	2	118,56	2,20	1,9	2,51	2,1
	3	121,10	2,45	2,0	2,80	2,3

Die Evaluierung des Insulin-Architect-Assays im Zentrallabor des Universitätsmedizin Mainz zeigte die folgende Werte für 2 Kontrollen IA Plus 1 und IA Plus 3 (Tab. 2-3).

Tabelle 2-3: Präzision in der Serie; Insulin Architect

IA Plus 1 ($\mu\text{U/mL}$)	IA Plus 1 ($\mu\text{U/mL}$)		IA Plus 1 ($\mu\text{U/mL}$)	IA Plus 3 ($\mu\text{U/mL}$)
13,10	147,5			
12,70	152,4	Mittelwert	12,94	148,36
12,70	148,2	Standardabweichung	0,23	2,15
13,10	148,6	VK (%)	1,75	1,45
13,20	145,3	Minimaler Wert	12,6	145,3
13,10	145,9	Maximaler Wert	13,2	152,4
12,60	146,9	Wiederholungen	10	10
12,90	149,9			
12,80	148,4			
13,20	150,5			

Linearität: Es wurde für Insulin-Architect weder im Beipackzettel noch im Zentrallabor eine Linearität evaluiert, wohl aber in einer Studie, die 2005 im Clinical Chemistry Journal publiziert wurde. ⁽¹⁰³⁾ Hier wurde eine Verdünnungs-linearität an 2 Serumproben mit erhöhten Insulinwerten und dem WHO-Standard erstellt. Die Proben wurden mit einem Kalibrator A (0 mIU/L) verdünnt. Jede Probe wurde zweimal in einer 10-fachen Reihenverdünnung gemessen. Es wurde bestätigt, dass der ARCHITECT-

Insulinassay auf der Grundlage eines Wiederherstellungs-Akzeptanzbereiches (recovery acceptance range) von 10% von der erwarteten Konzentration bis zu 273,5 mIU/l linear war.

Ergebnisse

Der ARCHITECT Insulin Assay verwendet eine 4-Parameter-Datenreduktionsmethode für die Anpassung der logistischen Kennlinie (4PLC, Y weighted), um eine Kalibrierungskurve zu erstellen.

Alternative Ergebniseinheiten

Umrechnungsformel: (Konzentration in $\mu\text{U} / \text{ml}$) $\times 7,175 = \text{pmol/l}$

Probenverdünnungsverfahren

Proben mit einem Insulinwert von mehr als 300 $\mu\text{U}/\text{ml}$ sind mit dem Code >300.0 gekennzeichnet und werden entweder mit dem Automated Dilution Protocol oder dem Manual Dilution Procedure verdünnt werden.

Elecsys Insulin Assay ⁽¹⁰¹⁾

Analysator: cobas e 411.

Testprinzip

Sandwichprinzip. Gesamtdauer des Assays: 18 Minuten.
Erste Inkubation: Insulin aus 20 μl Probe, einem biotinylierten monoklonalen Insulin-spezifischen Antikörper und einem monoklonalen Insulin-spezifischen Antikörper, der mit einem Rutheniumkomplex a) markiert ist, bilden einen Sandwich-Komplex.

Zweite Inkubation: Nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex durch Wechselwirkung von Biotin und Streptavidin an die Festphase gebunden.

Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle eingesaugt, wo die Mikropartikel magnetisch auf der Oberfläche der Elektrode festgehalten werden. Ungebundene Substanzen werden dann mit ProCell/ProCell M entfernt. Das Anlegen einer Spannung an die Elektrode induziert dann die Chemilumineszenzemission, die durch einen Photovervielfacher gemessen wird.

Die Ergebnisse werden über eine Kalibrierungskurve ermittelt, die durch 2-Punkt-Kalibrierung und eine über den Reagenzbarcode oder e-Barcode bereitgestellte Masterkurve gerätespezifisch generiert wird.

Berechnung

Der Analysator berechnet automatisch die Analytkonzentration jeder Probe (entweder in $\mu\text{U/ml}$ oder pmol/l).

Umrechnungsfaktoren:

- $\mu\text{U/ml} \times 6,945 = \text{pmol/l}$.
- $\text{pmol/L} \times 0,144 = \mu\text{U/ml}$.

Präzision: Die Präzision wurde laut des Herstellers mit Elecsys Reagenzien und gepoolten Humansen gemäß einem modifizierten Protokoll (EP5-A) des CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) bestimmt: 6 Mal pro Tag über 10 Tage ($n = 60$). Es wurden folgende Ergebnisse erhoben (Tab. 2-4):

Tabelle 2-4: Cobas e 411 Gerät

Probe	Mittelwert		Wiederholpräzision		
			Standardabweichung		VK
	$\mu\text{U/mL}$	pmol/mL	$\mu\text{U/mL}$	pmol/mL	%
Humanserum 1	6,36	44,2	0,122	0,847	1,9
Humanserum 2	20,9	145	0,391	2,71	1,9
Humanserum 3	747	5188	15,1	105	2,0
Probe	Mittelwert		Wiederholpräzision		
			Standardabweichung		VK
	$\mu\text{U/mL}$	pmol/mL	$\mu\text{U/mL}$	pmol/mL	%
Humanserum 1	6,36	44,2	0,163	1,11	2,6
Humanserum 2	20,9	145	0,593	4,1	2,8
Humanserum 3	747	5188	18,6	129	2,5

Linearität:

Der von Roche angegebene lineare Bereich liegt zwischen 1,20 und 6000 pmol/l (0,200 und 1000 mU/l). Das Collaborative Studies Lab bestätigte, dass der Assay bis zu einem Wert von 4368 pmol/l (728 mU/l) linear ist. Es ist die Richtlinie des CSCL-Labors, eine Probe mit einem Insulinwert von <12 pmol/L (<2 mU/L) und eine Nüchternprobe von > 300 pmol/L (> 50 mU/L) dupliziert zu bestimmen. Dies ist nicht erforderlich, wenn Proben im Rahmen eines oralen Glukosetoleranztestes (OGTT) erhoben wurden.

Messbereich

0,2 bis 1000 $\mu\text{U/ml}$ oder 1,39 bis 6945 pmol/l (definiert durch die untere Nachweisgrenze und das Maximum der Masterkurve). Werte unterhalb der unteren Nachweisgrenze werden als <0,2 $\mu\text{U/ml}$ (<1,39 pmol/l) angegeben. Werte oberhalb des Messbereichs werden mit > 1000 $\mu\text{U/ml}$ (> 6945 pmol/l) angegeben.

IMMULITE® 2000 Insulin Assay ⁽¹⁰¹⁾

Analyzer: Immulite 2000.

Methodik

IMMULITE 2000 Insulin ist ein Festphasen-, enzym-markierter Chemilumineszenz-immunassay. Die Festphase (Kugel) ist mit einem murinen monoklonalen anti-Insulin-Antikörper beschichtet. Die Flüssigphase enthält einen mit alkalischer Phosphatase konjugiertem polyklonalen (Schaf) anti-Insulin Antikörper und einen monoklonalen (Maus) anti-Insulin-Antikörper an den alkalische Phosphatase konjugiert ist.

Patientenprobe und Reagenz werden zusammen mit der beschichteten Kugel für 60 Minuten inkubiert. Während dieser Zeit bildet das Insulin aus der Probe einen Antikörper-Sandwichkomplex bestehend aus dem monoklonalen murinen anti-Insulin-Antikörper auf der Kugel und dem enzymkonjugierten polyklonalen Schaf anti-Insulin-Antikörper sowie dem enzymkonjugierten monoklonalen murinen anti-Insulin Antikörper aus dem Reagenz. Ungebundene Patientenprobe und Enzymkonjugat werden anschließend durch zentrifugale Waschschriffe entfernt. Zum Schluss wird in das Reaktionsröhrchen, das die Kugel enthält, Chemilumineszenz-Substrat hinzugefügt und proportional zum gebunden Enzym wird ein entsprechendes Signal generiert.

Einschränkungen des Verfahrens:

Patienten, die mit nicht-humanen-Insulin Präparationen therapiert wurden, zeigen häufig zirkulierende Anti-Insulin-Antikörper. Diese Insulin-Antikörper können mit dem Immunoassay interferieren und die Messung stören. Bei stark übergewichtigen Personen werden im Allgemeinen etwas höhere Nüchtern-Insulinspiegel gefunden als bei normalgewichtigen Erwachsenen.

Die Verwendung von EDTA-Plasma verfälscht die Bestimmung von Insulin mit dem IMMULITE Insulin Assay.

Heterophile Antikörper in Humanseren können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen bei in vitro Immunoassays verursachen. Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Umrechnungsfaktor

- $\mu\text{IU/ml} \times 1 \rightarrow \text{mIU/l}$
- $\mu\text{IU/ml} \times 7,217 \rightarrow \text{pmol/l}$

Messbereich: 2 – 300 $\mu\text{IU/ml}$ (WHO NIBSC 1st IRP 66/304).

Analytische Sensitivität: 2 $\mu\text{IU/ml}$

High-Dose-Hook-Effect: Bis 70 000 $\mu\text{IU/ml}$ keiner.

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (Insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen).

Tabelle 2-5: Präzision von Insulinmessung auf Immulite 2000

	Intraassay			Gesamt	
	Mittelwert	SD	VK	SD	VK
1	7.67	0.42	5.5%	0.56	7.3%
2	12.5	0.50	4.0%	0.62	4.9%
3	17.2	0.57	3.3%	0.71	4.1%
4	26.4	1.04	3.9%	1.32	5.0%
5	100	3.75	3.8%	4.20	4.2%
6	291	10.8	3.7%	15.5	5.3%

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. Die Insulin-Assay verwendeten Antikörper sind hochspezifisch für endogenes Insulin. Aus diesem Grund verhalten sich einige Insulinproben, mit variabler Reaktivität gegenüber verschiedenen synthetischen Analoga, die typischerweise in Proben mit sehr hohen Konzentrationen auftreten, nicht verdünnungslinier. Es wird daher empfohlen, Proben die oberhalb der oberen Messbereichsgrenze >300 µIU/ml gefunden werden, als >300 µIU/ml zu berichten.

Glucosebestimmung

Die Glucose in der GHS-Studie wurde mit dem Glucoseassay der Firma Abbott bestimmt.

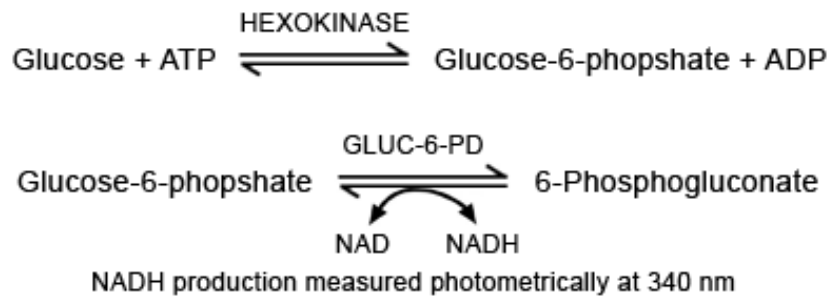
Analyzer: Architect ci 8200, Abbott Diagnostics

Methode: Hexokinase/G6PDH Bestimmung

Testprinzip

Glucose wird in Anwesenheit von Adenosintriphosphat (ATP) und Magnesiumionen durch Hexokinase (HK) phosphoryliert, wobei Glucose-6-phosphat (G-6-P) und Adenosindiphosphat (ADP) entstehen. Durch Glucose-6-phosphatdehydrogenase (G-6-PD) erfolgt die spezifische

Oxidation von G-6-P zu 6-Phosphoglukonat bei gleichzeitiger Reduktion von NADP zu NADPH.



Die Menge an reduziertem NAD (NADH) ist direkt proportional zur Glukosemenge in der Blutprobe und wird durch die Zunahme der Absorption bei 340 nm gemessen. Das Verfahren ist linear von 0 bis 500 mg/dl. Alle Proben mit einer Glukosekonzentration von mehr als 500 mg/dl sollten mit isotonischem Salz verdünnt und erneut getestet werden.

Kapitel III

Ergebnisse

Statistische Werte in der GHS-Studie

Die GHS-Studie umfasst insgesamt 15.010 Teilnehmer, es wurden im Rahmen dieser Studie folgenden Teilnehmer ausgeschlossen (Abb. 3-1):

- Alle Glucose- und Insulinwerte von Teilnehmern, die innerhalb der letzten acht Stunden nicht nüchtern waren. (N: 4407).
- Teilnehmer bei denen keine Glucose- oder Insulinwerte vorlagen (N: 149)
- Teilnehmer von Nicht-T2-Diabetes mellitus (N: 93)
- Teilnehmer bei denen keine HBA1c-Werte vorlagen (N: 21)

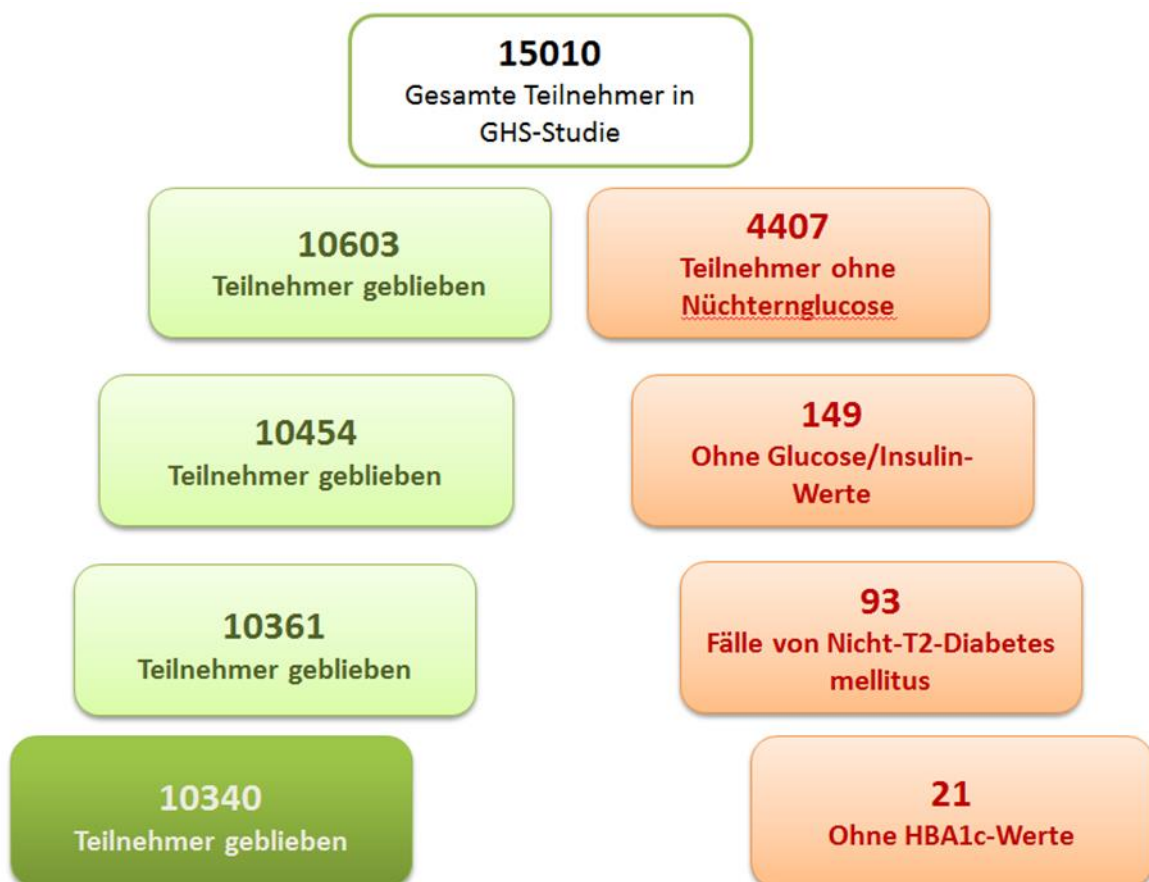


Abb. 3-1: Fehlende Daten sowie Ausschlusskriterien für HOMA-IR-Studie

Am Ende verbleiben 10340 Personen mit einem HOMA-IR-Index für die HOMA-IR-Studie.

Tabelle 3-1 zeigt die Eigenschaften der Kollektivs der vorliegenden Studie (N = 10340).

Tabelle 3-1 Die Charakteristika der GHS-Teilnehmer			
Variable	Alle (10340)	Männer (5291)	Frauen (5049)
Geschlecht [Frauen]	48.8% (5049)	0% (0)	100.0% (5049)
Alter [Jahren]	54.7 ±11.0	55.0 ±11.0	54.4 ±11.0
Anthropometrie			
Größe [cm]	171 ±10	177 ±7	164 ±7
Gewicht [kg]	80.1 ±16.7	87.5 ±14.4	72.3 ±15.4
Taille [cm]	94.6 ±14.0	99.6 ±12.1	89.4 ±13.9
BMI [kg/m²]	26.7 (24.0/30.1)	27.3 (25.0/30.2)	25.8 (22.9/29.9)
WHtR	0.56 ±0.08	0.56 ±0.07	0.55 ±0.09
SBP [mmHg]	131.3 ±17.5	134.1 ±16.3	128.5 ±18.3
DBP [mmHg]	82.6 ±9.6	84.1 ±9.6	81.0 ±9.4
HR [bpm]	68.5 ±10.7	67.6 ±11.0	69.5 ±10.2
CVRFs			
Hypertonie	49.2% (5088)	54.5% (2883)	43.7% (2205)
Rauchen	19.7% (2035)	21.2% (1120)	18.2% (915)
Adipositas	25.5% (2641)	26.5% (1404)	24.5% (1237)
Dyslipidämia	34.5% (3560)	43.2% (2279)	25.4% (1281)
Familiäre Vorbelastung für Myokardinfarkt/Schlaganfall	22.1% (2283)	20.3% (1075)	23.9% (1208)
Scores			
eGFR [ml/min/1.73m²]	88.63 ±14.26	89.92 ±14.51	87.28 ±13.88
Metabolisches syndrom	18.5% (1908)	22.6% (1194)	14.1% (714)
Insulinresistenz syndrom	19.5% (1853)	23.3% (1114)	15.7% (739)

Tabelle 3-2 zeigt die Prävalenz von DM und Prädiabetes Teilnehmer sowie den Median von Insulin, C-Peptid und HOMA-IR und weiterer Parameter des untersuchten Kollektivs

Tabelle 3-2 Die Charakteristiken der GHS-Teilnehmer				
Variable	Ergebnisse in	Alle (10340)	Männer (5291)	Frauen (5049)
Diabetes	% (N)	8.2% (849)	9.8% (519)	6.5% (330)
Prädiabetes	% (N)	30.6% (2901)	31.2% (1490)	29.9% (1411)
Diabetes bei Follow up	% (N)	9.8% (839)	12.1% (533)	7.4% (306)
Prädiabetes bei Follow up	% (N)	35.9% (2762)	35.0% (1360)	36.8% (1402)
Inzident des Prädiabetes	% (N)	20.9% (1154)	19.9% (554)	22.0% (600)
Inzident des Diabetes	% (N)	3.9% (311)	4.8% (196)	3.0% (115)
Progression Pre. to Diabetes	% (N)	10.6% (249)	12.8% (157)	8.1% (92)
HbA _{1c} [%]	Median (IQR)	5.5 (5.2/5.8)	5.5 (5.2/5.8)	5.5 (5.2/5.8)
Glucose [mg/dl]	Median (IQR)	92.0 (86.0/99.2)	94.0 (88.0/101.2)	90.0 (84.2/97.0)
Insulin [pmol/L]	Median (IQR)	45.3 (33.1/65.8)	48.1 (34.2/70.3)	42.9 (32.1/60.8)
C-peptid [ng/mL]	Median (IQR)	1.53 (1.16/2.08)	1.63 (1.22/2.23)	1.43 (1.11/1.91)
HOMA_IR	Median (IQR)	1.74 (1.22/2.62)	1.89 (1.29/2.89)	1.61 (1.17/2.36)
Cystatin C [mg/l]	Median (IQR)	0.96 (0.87/1.07)	0.99 (0.90/1.10)	0.92 (0.84/1.03)
Cholesterin [mg/dl]	Mean (\pm 1SD)	221.4 \pm 41.0	217.4 \pm 40.2	225.7 \pm 41.4
Non HDI Chol. [mg/dl]	Mean (\pm 1SD)	164.2 \pm 39.8	166.8 \pm 39.0	161.5 \pm 40.4
LDL [mg/dl]	Mean (\pm 1SD)	139.4 \pm 35.6	139.6 \pm 34.9	139.2 \pm 36.3
HDL [mg/dl]	Mean (\pm 1SD)	57.1 \pm 15.6	50.3 \pm 12.4	64.1 \pm 15.4
LDL/HDL	Mean (\pm 1SD)	2.61 \pm 0.94	2.90 \pm 0.95	2.30 \pm 0.83
Triglyzeride [mg/dl]	Median (IQR)	107 (79/150)	118.0 (86/167)	98 (73.4/133.1)
GOT [U/l]	Median (IQR)	25 (21/30)	27.00 (23/32)	23 (20/27)
GPT [U/l]	Median (IQR)	31 (25/42)	37.00 (29/47)	27 (22/34)
GGT [U/l]	Median (IQR)	25 (17/38)	31.00 (22/47)	19 (14/28)
CRP [mg/L]	Median (IQR)	1.6 (0.6/3.2)	1.5 (0.58/3)	1.7 (0.7/3.6)

Der Mittelwert, der Median und die Perzentile von HOMA-IR aller Teilnehmer nach Geschlecht und Alter sind in Tabelle 3-3 aufgeführt.

Bei der Betrachtung der statistischen Werte von HOMA-IR fällt deutlich auf, dass die HOMA-Werte nicht normalverteilt sind. Daher wurde auf die Berechnung der Standardabweichung verzichtet.

Tabelle 3-3 HOMA-IR der gesamten Teilnehmern: statistische Werte nach Geschlecht

	Mittelwert	Median (Q1/Q3)	2.5 Perzentil	5 Perzentil	95 Perzentil	97.5 Perzentil
Alle	2.38	1.74 (1.22/2.62)	0.65	0.76	5.55	7.50
Männer	2.60	1.89 (1.29/2.89)	0.68	0.78	6.22	8.45
Frauen	2.15	1.61 (1.17/2.36)	0.64	0.73	4.90	6.41

Die Tabellen 3-4 und 3-5 zeigen die Unterschiede zwischen Männern und Frauen nach Alter. Sie zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen den Geschlechtern bezüglich des HOMA-IR auf, wobei die Werte der männlichen Probanden deutlich höher als die der weiblichen liegen. Der Mittelwert bei Frauen liegt dabei bei 2.16 und bei Männern 2.58.

Tabelle 3-4 HOMA-IR der gesamten männlichen Teilnehmern: statistische Werte nach Alter Jahrzehnte

	Mittelwert	Median (Q1/Q3)	2.5 Perzentil	5 Perzentil	95 Perzentil	97.5 Perzentil
35 - 44	1.91	1.52 (1.05/2.27)	0.582	0.671	4.38	5.76
45 - 54	2.31	1.79 (1.24/2.56)	0.686	0.781	5.41	6.86
55 - 64	2.87	2.04 (1.39/3.12)	0.699	0.821	6.96	9.70
65 - 74	3.22	2.26 (1.54/3.63)	0.792	0.964	7.75	10.8

Tabelle 3-5 HOMA-IR der gesamten weiblichen Teilnehmern: statistische Werte nach Alter Jahrzehnte

	Mittelwert	Median (Q1/Q3)	2.5 Perzentil	5 Perzentil	95 Perzentil	97.5 Perzentil
35 - 44	1.61	1.39 (1.04/1.93)	0.606	0.689	3.17	3.81
45 - 54	1.89	1.47 (1.06/2.16)	0.588	0.681	4.20	5.27
55 - 64	2.36	1.71 (1.23/2.53)	0.669	0.766	5.35	7.19
65 - 74	2.78	2.02 (1.43/3.01)	0.734	0.833	6.37	8.60

Zusätzlich zu den HOMA-IR-Werten für die gesunden Teilnehmer und für Patienten mit Diabetes mellitus und Prädiabetes wurden in Tabelle 3-6 der Mittelwert und die Standardabweichung dieser drei Populationen angegeben.

Tabelle 3-6 HOMA-IR von allen Teilnehmern: Mittelwert, SD, Median und Perzentile

	N	Mw	Median (Q1/Q3)	2.5 Perzentil	5 Perzentil	95 Perzentil	97.5 Perzentil
kein Diabetes	6590	1.95	1.54 (1.13/2.19)	0.621	0.722	4.14	5.17
Prädiabetes	2901	2.76	2.00 (1.39/2.99)	0.787	0.898	6.48	8.55
Diabetes	849	6.22	4.00 (2.52/6.51)	1.17	1.47	16.0	19.1

Die Referenzgruppe für HOMA-IR in der GHS-Studie

In Kapitel II wurden verschiedenen Kriterien für die Referenzgruppe definiert. Nach Anwendung dieser Kriterien verblieben von den ursprünglichen Teilnehmern (10340) nur noch 1065 Teilnehmer.

Definition eines Cutoffs des HOMA-IR in einer erwachsenen Population

Nachdem Definitionskriterien für die Referenzgruppe festgelegt wurden, wurde der HOMA-IR von dieser Gruppe berechnet und den Grenzbereich und den Referenzbereich unter Verwendung von 90 und 95 Perzentilen definiert. Die Tabellen 3-7, 3-8, 3-9 zeigen statistische Werte von HOMA-IR nach Geschlecht und Alter.

Tabelle 3-7 HOMA-IR der Referenzgruppe: statistische Werte nach Geschlecht

	N	Mittelwert	Median (Q1/Q3)	2.5 Perzentil	5 Perzentil	95 Perzentil	97.5 Perzentil
Alle	1065	1.20	1.09 (0.85/1.42)	0.51	0.57	2.10	2.35
Männer	477	1.16	1.06 (0.84/1.37)	0.51	0.57	2.07	2.39
Frauen	588	1.23	1.14 (0.86/1.44)	0.50	0.57	2.15	2.33

Tabelle 3-8 HOMA-IR der Referenzgruppe: statistische Werte nach Alter bei Männern

	N	Mittelwert	Median (Q1/Q3)	2.5 Perzentil	5 Perzentil	95 Perzentil	97.5 Perzentil
35 - 44	248	1.12	1.02 (0.80/1.34)	0.46	0.56	2.01	2.30
45 - 54	136	1.20	1.07 (0.88/1.38)	0.56	0.58	2.21	2.55
55 - 74	93	1.19	1.15 (0.89/1.46)	0.47	0.54	2.05	2.45

Tabelle 3-9 HOMA-IR der Referenzgruppe: statistische Werte nach Alter bei Frauen

	N	Mittelwert	Median (Q1/Q3)	2.5 Perzentil	5 Perzentil	95 Perzentil	97.5 Perzentil
35 - 44	319	1.28	1.16 (0.89/1.49)	0,50	0,61	2,25	2,35
45 - 54	194	1.14	1.09 (0.77/1.38)	0,50	0,53	2,08	2,27
55 - 74	75	1.22	1.15 (0.91/1.46)	0,65	0,69	2,02	2,42

Tabelle 3-10 zeigt den Referenzbereich und die Cutoffs von HOMA-IR.

Tabelle 3-10 Referenzbereich und Cut off des HOMA-IR

	5 – 95 Perzentil		2,5 – 97,5 Perzentil	
	Referenzbereich	Cut off	Referenzbereich	Cut off
Männer	0.57 - 2.07	2.07	0.51 - 2.39	2.39
Frauen	0.57 - 2.15	2.15	0.50 - 2.33	2.33
Total	0.57 - 2.10	2.10	0.51 - 2.35	2.35

Die Tabelle 3-11 zeigt den Mittelwert sowie die Perzentile des HOMA-IR bei normalen Teilnehmern und bei Patienten mit Prädiabetes und Diabetes. Der Mittelwert von HOMA-IR bei Prädiabetes liegt oberhalb des Cutoffs des HOMA-IR und ist ca. zweimal höher als der Mittelwert der Referenzgruppe. Patienten mit Diabetes Mellitus haben ca. 4-fach höhere Werte als die Referenzgruppe mit einem Mittelwert von 6.15.

Tabelle 3-11 HOMA-IR des Gesamtkollektivs: statistische Werte nach Diabetes, Prädiabetes, und kein Diabetes

	N	Mw	Median (Q1/Q3)	2.5 Perzentil	5 Perzentil	95 Perzentil	97.5 Perzentil
Kein Diabetes	6590	1.83	1.54 (1.13/2.19)	0.614	0.71	3.84	4.76
Prädiabetes	2901	2.52	2.00 (1.39/2.99)	0.734	0.85	5.77	7.04
Diabetes	849	6.15	4.00 (2.52/6.51)	1.18	1.40	15.9	20.0

Prädiabetes und Diabetes mellitus in der GHS-Studie

Es gab zu Beginn der GHS-Studie 849 Patienten (8,2%) mit DM und 2901 Patienten mit Prädiabetes (30,6%). Nach 5 Jahren entwickelten 311 Patienten DM (3,9%) und 1154 Patienten (20,9%) Prädiabetes. Von den 311 Patienten mit neuer Diagnose von DM haben 249 Patienten ihre DM aus Prädiabetes entwickelt. Der optimale Cutoff nach Youdens Index (siehe Definition von Youden Index im Box 3-1) für das Fortschreiten von Prediabetes zu Diabetes betrug 2,74.

Box 3-1: Youden Index

Wenn Sensitivität und Spezifität diagnostisch gleich wichtig oder wünschenswert sind, gibt der Youden-Index [J] die Leistung (je größer desto besser) bei einem bestimmten Cutoff an. Unter diesen Umständen definiert J einen optimalen Cutoff (c). ⁽¹⁰⁴⁾

$$J = \text{Max}_c (\text{Sensitivity}_c + \text{Specificity}_c - 1)$$

HOMA-IR und Gesamtmortalität

Bei Verwendung eines Cutoff-Werts von 2,35 ist eine signifikante Erhöhung der Gesamtmortalität in 5 Jahren nach dem Follow-up zu beobachten (p-Wert <0,0001), siehe Abbildung 3-2.

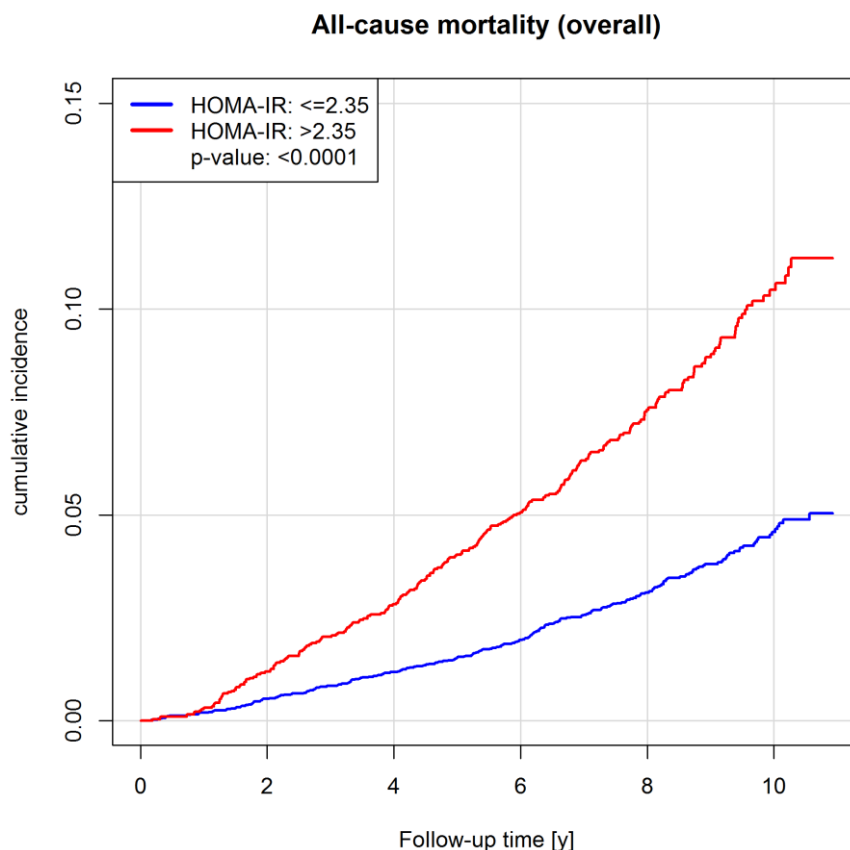


Abb. 3-2

Bei Patienten mit HOMA-IR <2,35 muss gleichzeitig der Glukosestatus dieser Patienten betrachtet werden. Die beste Prognose wurde jedoch bei

Patienten mit HOMA-IR $<2,35$ und euglykämischen Erkrankungen (grüne Linie in Abbildung 3-3) erzielt. Die Patienten mit hohem HOMA-IR plus Diabetes oder Prädiabetes haben eine höhere Sterblichkeitsrate.

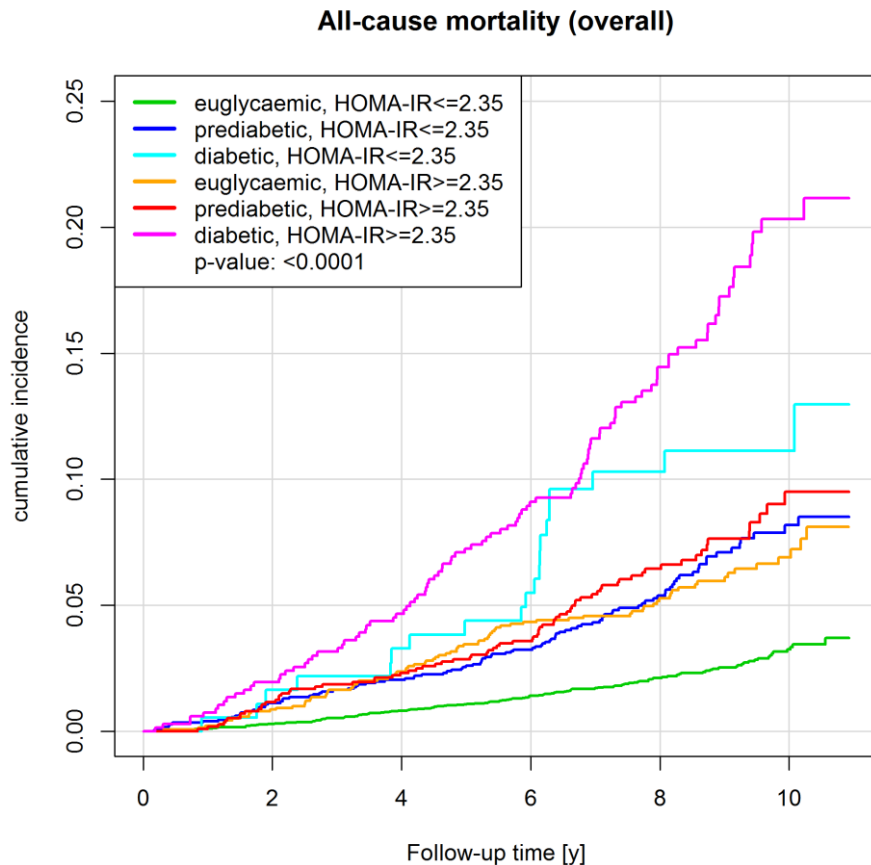


Abb. 3-3

HOMA-IR Index und metabolisches Syndrom

Mit der ROC-Analyse wurde die Spezifität und Sensitivität von fünf Parametern bezüglich des metabolischen Syndrom verglichen (siehe Abbildung 3-4). Alle Parameter außer HbA1c zeigen eine mittelmäßige Spezifität und Sensitivität mit einer AUC zwischen 0,765 und 0,797. Die höchste AUC war für den HOMA-IR-Index (0,797), jedoch ohne großen Unterschied zu den anderen Parametern, wie C-Peptid (0,795), Glucose (0,767) oder Insulin (0,765).

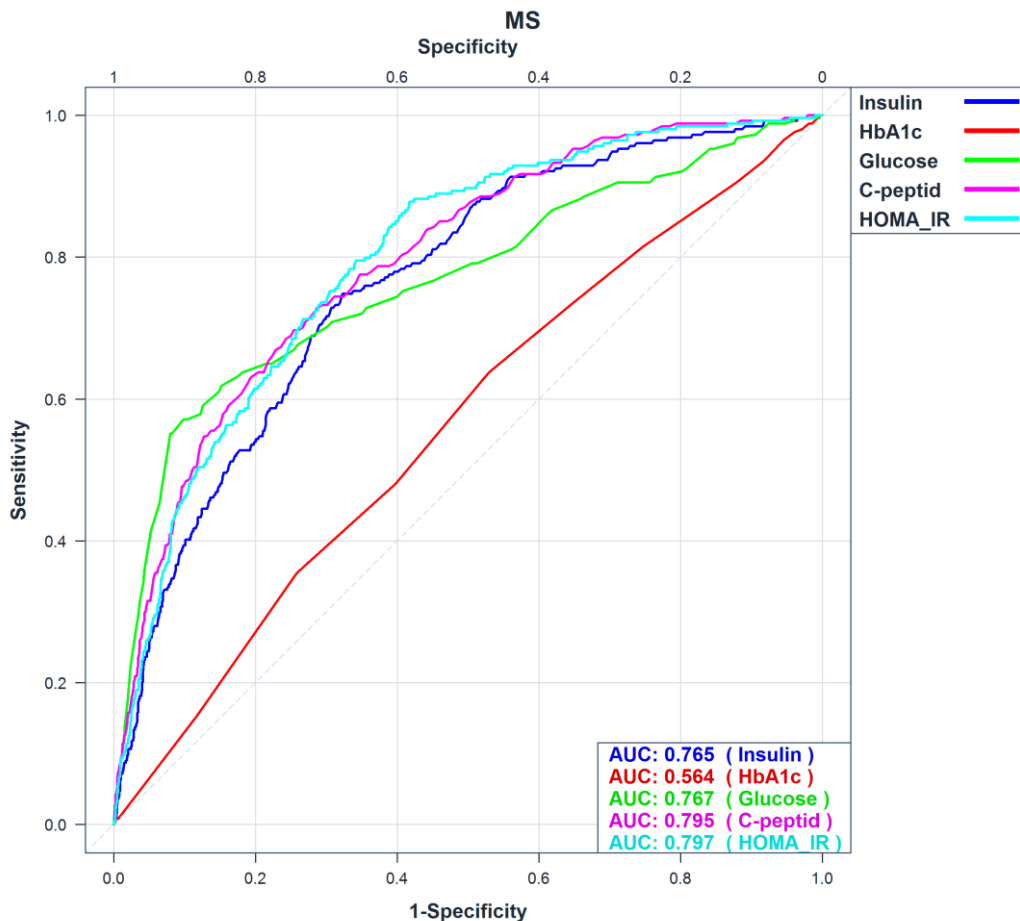


Abb. 3-4

Vergleich der Insulinbestimmung mit drei verschiedenen Methoden

Es wurden insgesamt 89 Serumproben von verschiedenen Patienten analysiert. Es wurden drei Messmethoden von drei unterschiedlichen Firmen (Abbott, Roche und Siemens) verwendet, alle drei Assays sind voll automatisierte Immunoassays. Jede Messmethode dieser drei Firmen verwendet am Ende einen Korrekturfaktor, um zwischen pmol/l und $\mu\text{U/ml}$ umzurechnen. Diese Faktoren sind nicht gleich. Zum Vergleich wurden die Messungen in der Einheit pmol/l verwendet. Siehe in Tabelle 3-12 den Mittelwert des Insulins mit den drei verschiedenen Methoden.

Tabelle 3-12 Der Mittelwert von Insulin: Bestimmung mit drei verschiedenen Methoden

	Abbott	Roche	Siemens
µU/ml	13.95	17.37	19.64
pmol/l	100.07	120.64	141.71

Tabelle 3-13 zeigt den Korrelationskoeffizienten zwischen jeweils zwei der verwendeten Assays.

Tabelle 3-13 Regressionsgleichung und Korrelation Koeffizient r für die drei Insulin-Assays (Abbott, Roche, Siemens); Einheit: pmol/L

	Regressionsgleichung	Korrelation Koeffizient r
Abbott vs. Roche	Y = 4,68 + 0,72 X Variable X: Roche, Variable Y: Abbott	0,800
Abbott vs. Siemens	Y = 14,10 + 0,67 X Variable X: Siemens, Variable Y: Abbott	0,814
Roche vs. Siemens	Y = 12,11 + 0,93 X Variable X: Siemens, Variable Y: Roche	0,611

Tabelle 3-14 zeigt andere statistische Werte für den Vergleich zwischen den drei Insulin-Assays.

Tabelle 3-14 Statistische Werte zum Vergleich zwischen den drei Insulin-Assays

	Abbott	Roche	Siemens
Niedrigster Wert	10,76	1,39	14,43
Höchster Wert	431,22	537,96	1176,37
Mittelwert	100,07	120,64	141,71
Median	63,86	82,65	83,72
Standardfehler des Mittelwerts	8,85	10,40	19,74

Die Abb. 3-5 zeigt die Korrelation zwischen jeweils zwei verwendeten Assays.

Abb. 3-5: Passing and Bablok regression Korrelation zwischen 3 Insulin-Messmethoden (Abbott, Roche, Siemens)

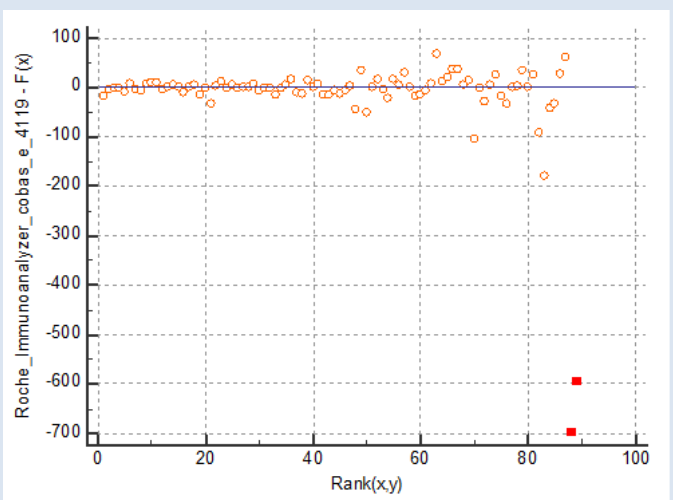
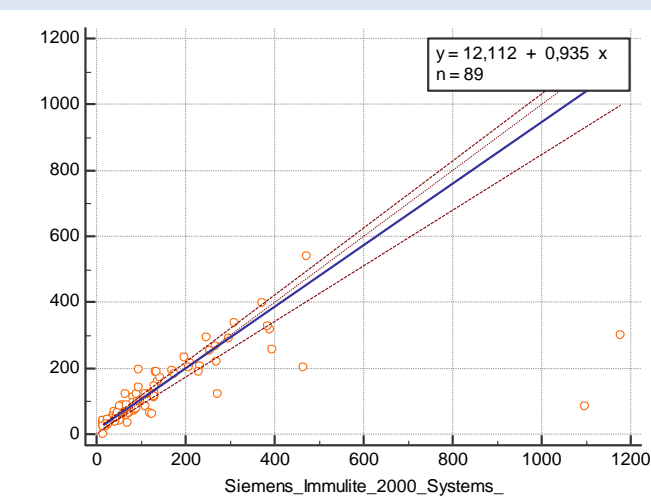
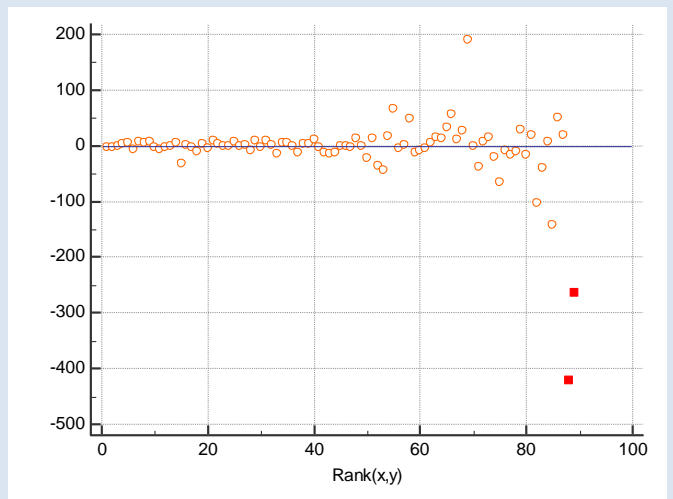
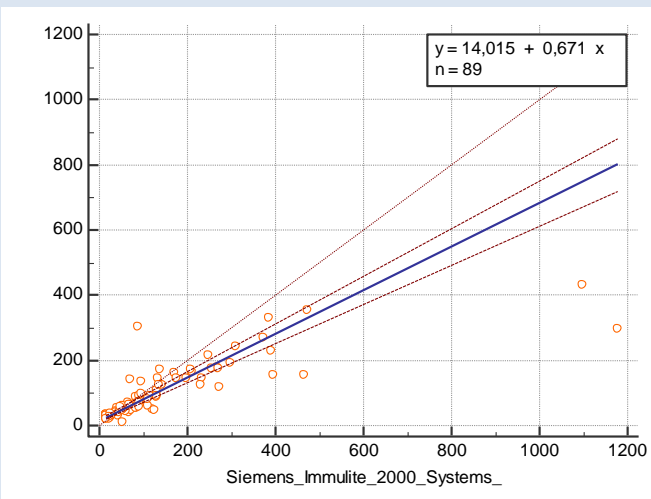
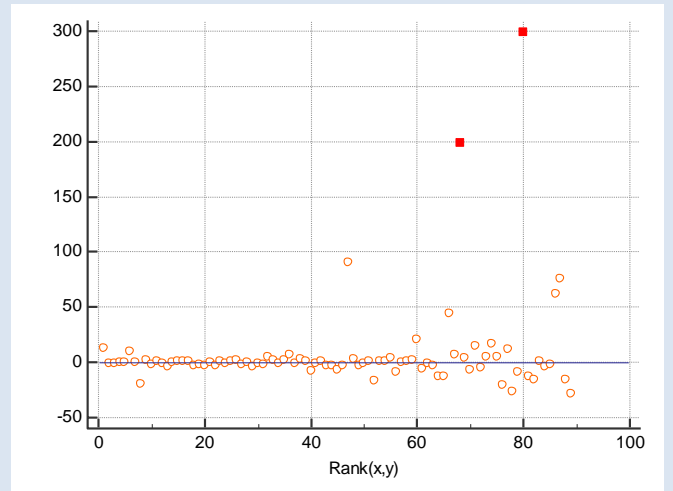
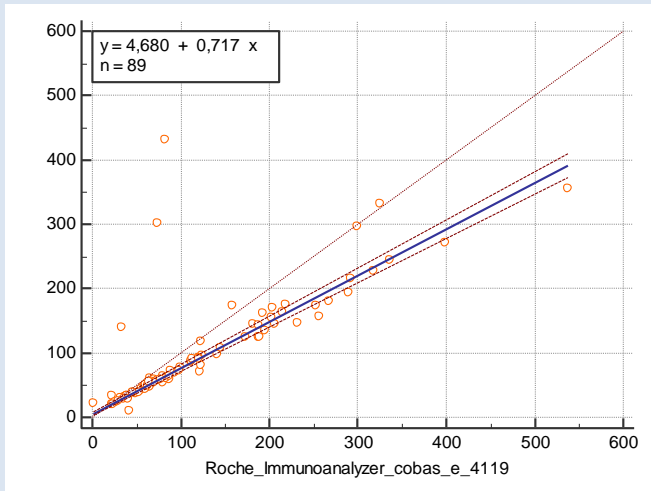


Abbildung 3-5 zeigt, dass drei Insulinwerte bei der Abbott-Methode zu hoch, bei der Roche-Methode jedoch zu niedrig waren, und auch 2 Werte bei der Siemens-Methode zu hoch, aber bei der Abbott- und Roche-Methode zu niedrig waren. Es wurden keine Messungen ausgeschlossen und die Messungen nicht wiederholt. Diese 2 oder 3 Messabweichungen führten zu den mangelhaften Korrelationen zwischen den 3 Methoden.

Die Berechnung der Korrelation nach Ausschluss von drei Ausreißern wiederholt, um die Korrelation zwischen den drei Methoden zu verbessern. Es wurden drei Werte ausgeschlossen, die außerhalb des $\pm 3SD$ -Bereiches lagen (Abb. 3-6). Daraufhin konnte man erneut ein paar Ausreißer erkennen, die trotz des Ausschlusses der ersten drei Ausreißer aufgetaucht sind. Diese Werte konnte man in der Abbildung sehen, weil wir keinen zweiten Ausschluss gemacht haben.

Nach dem Ausschluss ergaben sich höhere Korrelationskoeffizienten r (Tabelle 3-15). Die Tabelle 3-16 zeigt die aktualisierten statistischen Werte für den Vergleich zwischen den drei Insulinmessmethoden.

Tabelle 3-15 Regressionsgleichung und Korrelationskoeffizient r für die drei Insulin-Methoden (Abbott, Roche, Siemens) nach Ausschluss von drei Ausreißern; Einheit: pmol/L

	Regressionsgleichung	Korrelation Koeffizient r
Abbott vs. Roche	$y = 4,992580 + 0,709571 x$ Variable X: Roche, Variable Y: Abbott	0,958
Abbott vs. Siemens	$y = 12,971353 + 0,692214 x$ Variable X: Siemens, Variable Y: Abbott	0,844
Roche vs. Siemens	$y = 10,139526 + 0,961102 x$ Variable X: Siemens, Variable Y: Roche	0,909

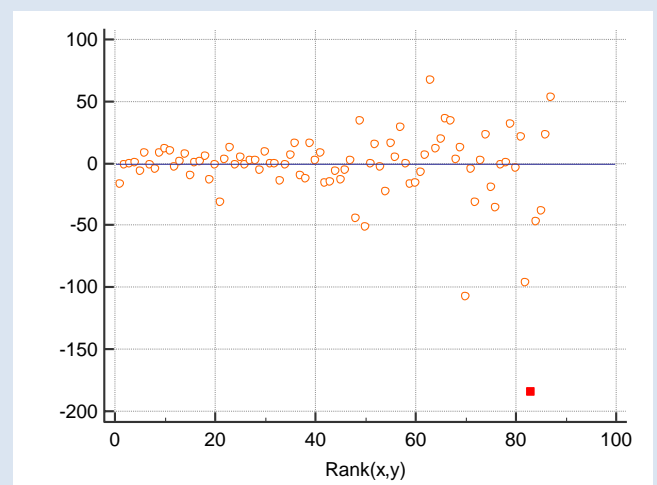
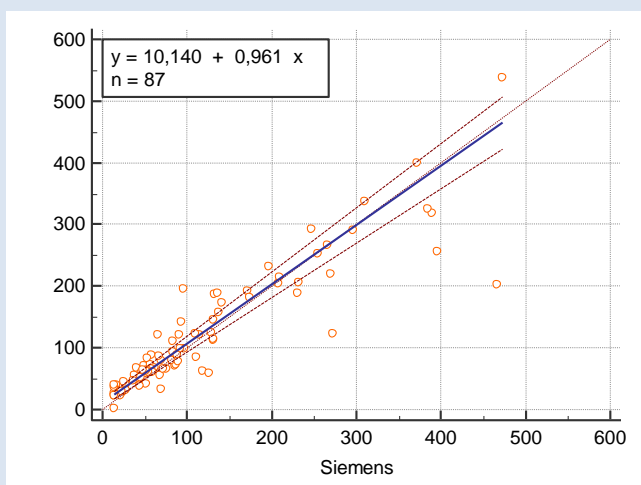
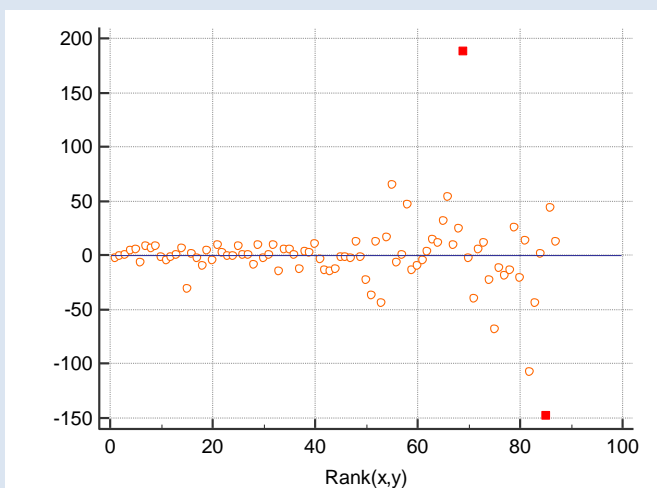
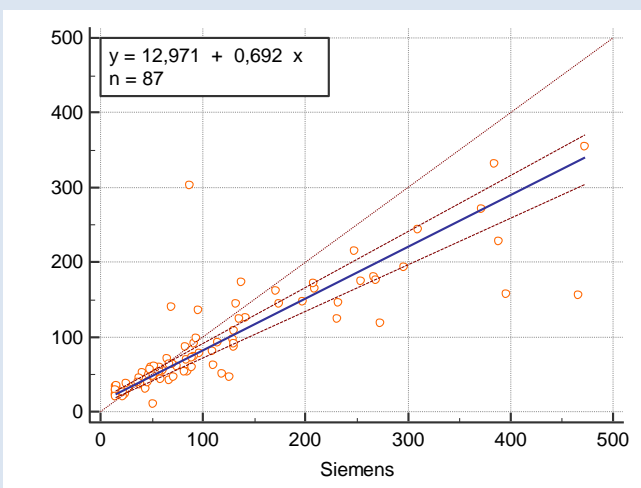
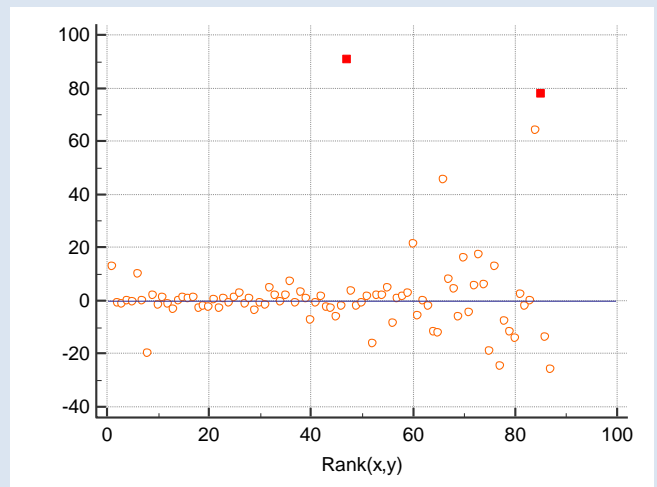
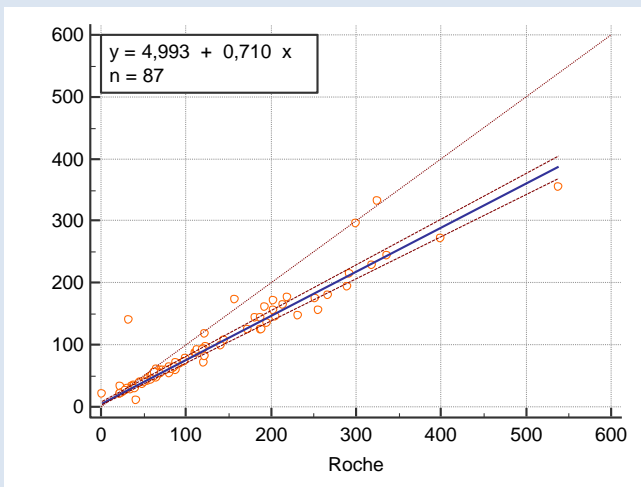
Tabelle 3-16 Statistische Werte zum Vergleich zwischen den drei Insulin-Methoden nach Ausschluss von drei Ausreißern

	Abbott	Roche	Siemens
Niedrigster Wert	10,76	1,39	14,43
Höchster Wert	355,16	537,96	472,71
Mittelwert	93,94	121,62	118,84
Median	61,71	83,13	83,00
Standardfehler des Mittelwerts	7,84	10,61	11,70

Entdeckung der Ausreißer

Das Prinzip der Minimierung der Summe der quadratischen Abstände von der Sollwert-Linie macht die beschriebenen Regressionsverfahren für Ausreißer empfindlich, und eine Bewertung des Auftretens von Ausreißern sollte routinemäßig durchgeführt werden. Die Entfernung von einem vermuteten Ausreißer zu der Linie wird in SD-Einheiten aufgezeichnet, und der Ausreißer wird zurückgewiesen, wenn die Entfernung eine vorbestimmte Grenze überschreitet (z. B. 3 oder 4 SD-Einheiten). ⁽¹⁰⁵⁾

Abb. 3-6: Passing and Bablok regression Korrelation zwischen 3 Insulin-Messmethoden (Abbott, Roche, Siemens) nach Ausschluss von 3 Ausreißern



HOMA-IR-Cutoff Umrechnung

Die Messung der Insulinspiegel wurde mit den Abbott-Reagenzien und -Geräten durchgeführt, so dass der Cutoff für HOMA-IR von 2,35 auf der Grundlage der Abbott-Reagenzien ermittelt wurde, d.h. dieser Cutoff gilt nur für die Abbott-Methode. Bei den beiden anderen Assays kann jedoch ein Faktor angewendet werden, um den entsprechenden Wert von HOMA-IR nach den beiden anderen Methoden zu berechnen. Tabelle 3-12 zeigt den Mittelwert des Insulins zwischen den verschiedenen Methoden. Der Roche-Assay lag 1,2055-mal höher als der Abbott-Assay und der Siemens-Assay lag 1,4161-mal höher als Abbott-Assay. Um den gemessenen HOMA-IR-Cutoff von Abbott auf die beiden anderen Firmen (Siemens und Roche) umzurechnen wurde die jeweilige Regressionsgleichung verwendet.

Anhand der Formel 7 wurden die Insulinwerte für alle Teilnehmer der GHS-Studie auf die Roche Methode umgerechnet.

$$\text{Insulin-Abbott} = 0.71 \times \text{Insulin-Roche} + 4.99 \quad (6)$$

$$\text{Insulin-Roche} = (\text{Insulin-Abbott} - 4.99) / 0.71 \quad (7)$$

Anschließend wurden die Perzentile für HOMA-IR für die Referenzgruppe berechnet und auf diese Weise liegt der berechnete HOMA-IR-Cutoff für die GHS-Studie mit Roche-Reagenzien bei 3,06 (Tabelle 3-17).

Auf dieselbe Weise wurde für die Berechnung des HOMA-IR für die Siemens-Methode die Formel 9 benutzt und anhand dessen beträgt der berechnete HOMA-IR-Cutoff für die GHS-Studie mit Siemens-Reagenzien 2,71 (Tabelle 3-17).

$$\text{Insulin-Abbott} = 0.69 \times \text{Insulin-Siemens} + 12.97 \quad (8)$$

$$\text{Insulin-Siemens} = (\text{Insulin-Abbott} - 12.97) / 0.69 \quad (9)$$

Tabelle 3-17 HOMA-IR-Cutoff für die Referenzgruppe für die drei verschiedenen Methoden (Abbott, Roche, Siemens)

	Abbott	Roche	Siemens
95 Perzentil	2,35	3,06	2,71
75 Perzentil	1,42	1,73	1,36

Der HOMA-IR-Cutoff des Assays von Siemens ist niedriger als der Cutoff des Assays von Roche, obwohl der Mittelwert des Insulinwertes des Assays von Siemens höher war als der des Roche-Assays; das erklärt sich daraus, dass die Referenzgruppe eine normale Insulinkonzentration aufweist und in diesem Normalbereich die Insulinkonzentrationen von Siemens niedriger als die von Roche waren.

Kapitel IV

Diskussion

Definition eines Referenzbereichs

Die Anwendung von Referenzbereichen kann in drei Hauptkategorien eingeteilt werden: Diagnose einer Krankheit oder eines Zustands, Überwachung eines physiologischen Zustands oder Überwachung von Therapeutika. Diese verschiedenen Anwendungen erfordern unterschiedliche Ansätze zur Bestimmung eines Referenzbereiches. Insbesondere werden therapeutische Wirkstofftargets nicht von einer gesunden Population abgeleitet, einzigartige physiologische Bedingungen erfordern die entsprechende Referenzpopulation.

Die oberen und unteren Referenzgrenzen werden festgelegt, um einen bestimmten Prozentsatz (in der Regel 95%) der Werte für eine Population zu definieren; das bedeutet, dass ein Prozentsatz (in der Regel 5%) der Patienten ohne Erkrankung oder Krankheit außerhalb des Referenzbereiches liegt. Referenzbereiche werden manchmal fälschlicherweise als "Normalbereiche" bezeichnet. Während alle Normalbereiche tatsächlich Referenzbereiche sind, sind nicht alle Referenzbereiche Normalbereiche. Dies wird durch das Referenzbereich für die Konzentration therapeutischer Arzneimittel veranschaulicht. In diesem Fall hätte eine "normale" Person kein Medikament in ihrem System, während ein Patient unter Therapie einen definierten Zielbereich hat. ⁽¹⁰⁶⁾

Referenzbereiche werden in der Regel von der wissenschaftlichen Gemeinschaft oder den Herstellern von Reagenzien und neuen Methoden festgelegt.

Definition von Referenzbereichen

Das Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, ehemals National Committee for Clinical Laboratory Standards [NCCLS]) hat eine bevorzugte Leitlinie/Ressource für die Definition oder Überprüfung von Referenzbereichen veröffentlicht. ⁽¹⁰⁷⁾ Eine Zusammenfassung der CLSI-Empfehlungen folgt.

Auswahl von Referenzbereich-Studienpersonen ⁽¹⁰⁷⁾

Die Auswahl von Personen, die in eine Referenzbereich-Studie einbezogen werden können, erfordert die Definition detaillierter Einschluss-/Ausschlusskriterien. Einschlusskriterien definieren, welche Faktoren (z. B. Alter und Geschlecht) für die Studie verwendet werden müssen, während Ausschlusskriterien Faktoren auflisten, die Personen für die Studie ungeeignet machen. Es ist wichtig, die geeigneten Personen auszuwählen, um den optimalen Probensatz mit einem akzeptablen Vertrauensniveau zu erhalten. Die Bestimmung der erforderlichen Einschluss- und Ausschlusskriterien für die Probandenauswahl kann umfangreiche Literaturrecherchen und Überprüfungen mit Laborleitern und Klinikern erforderlich machen. Zunächst muss genau definiert werden, mit welchen Referenzwerten ein Proband als „gesund“/ „normal“ zu bewerten ist.

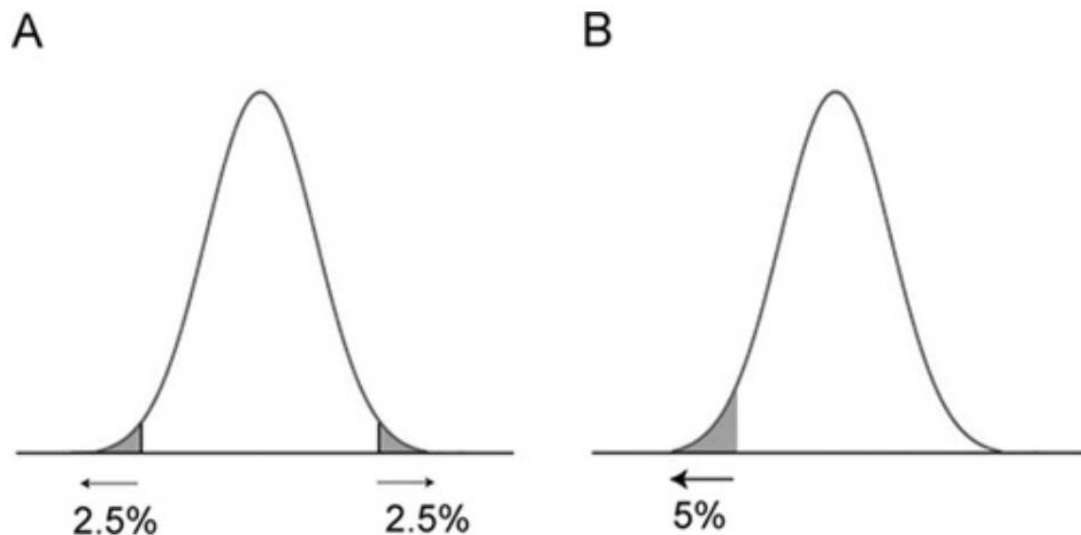


Abb. 4-1: ⁽¹⁰⁸⁾ Die 95% -Referenzbereiche werden abgeleitet, indem die äußersten 5% der beobachteten Werte in einer Referenzpopulation identifiziert werden. Am häufigsten werden diese äußeren Bereiche gleichmäßig auf die Enden der Testergebnisverteilung in der Referenzpopulation aufgeteilt, das heißt 2,5% an jedem Ende der Verteilung, was zu einem zweiseitigen Referenzbereich (A) führt. Bei einigen Tests sind nur niedrige Werte von klinischer Bedeutung, und daher werden die 5% der äußeren Beobachtungen für das Referenzbereich nur am unteren Ende der Verteilung identifiziert und ausgeschlossen, was zu einem einseitigen Referenzbereich führt (B).

Bestimmung eines Cutoffs für HOMA-IR

Um einen Cutoff für HOMA-IR zu bestimmen, wurden nach Kriterien für die Referenzgruppe gesucht, und da HOMA-IR von verschiedenen Krankheiten und Faktoren beeinflusst werden kann, wurde festgelegt, dass die Population in der Referenzgruppe euglykämisch sein muss, das heißt: kein Diabetes oder Prädiabetes. Es wurden auch adipöse Probanden aufgrund des Zusammenhangs zwischen Adipositas und Insulinresistenz und der Produktion von Insulin ausgeschlossen, daher wurden alle Teilnehmer mit einem BMI > 30 ausgeschlossen. Darüber hinaus wurden die Teilnehmer mit chronischen Erkrankungen (CVD, Krebs, CKD, CLD) ausgeschlossen und außerdem die Teilnehmer mit einem metabolischen Syndrom wegen der starken Beziehung zwischen MS und Insulinresistenz.

Am Ende verblieben 1065 Teilnehmer und der Referenzbereich für HOMA-IR lag bei Verwendung der 95 Perzentile bei 0,51 - 2,35.

Dieser Cutoff von 2,35 unterteilt die Teilnehmer der vorliegenden Untersuchung in zwei verschiedene Gruppen. Alle Werte über 2,35 können darauf hinweisen, dass der Glukosestoffwechsel instabil ist, da eine hohe HOMA-IR bedeutet, dass entweder die Glucose- oder die Insulinkonzentration hoch ist. Hohe Glucosespiegel sind diagnostisch für Diabetes und die hohen Insulinspiegel beziehen sich auf Insulinresistenz oder auf ein metabolisches Syndrom, so dass die hohen Werte von HOMA-IR bei Prädiabetes, Diabetes, Insulin-resistenz und metabolischem Syndrom beobachtet werden können.

Die normalen HOMA-IR sprechen für einen stabilen Glukosestoffwechsel, der von der Normalbevölkerung oder von Patienten mit DM oder Prädiabetes, unter Therapie eines Antidiabetikums oder einer Diät, gesehen werden kann, diese Patienten haben zum Zeitpunkt der Blutentnahme einen normalen Glukosestoffwechsel. Das kann auch bei Patienten mit metabolischem Syndrom und Insulinresistenz vorkommen.

In der Literatur gab es viele Studien, in denen ein Cutoff für HOMA-IR definiert wurde, entweder durch Verwendung von ROC-Kurven oder durch Verwendung der 66., 75., 90- und 95-Perzentile. Diese Studien sind in Tabelle 4-1 aufgeführt, die den Unterschied zwischen den HOMA-IR-Cutoff zeigt, der auf die verschiedenen Methoden zur Bestimmung von Insulin zurückzuführen ist.

Die finnische Studie und die iranische Studie aus dem Jahr 2016 (Tabelle 4-1) haben einen Cutoff für HOMA-IR bei Patienten mit einer Nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) ermittelt. In der finnischen Studie wurde das obere 95-Perzentil verwendet, während in der iranischen Studie die ROC-Analyse verwendet wurde. Die Cutoff-Werte waren mit 1.9 bzw. 2.0 ähnlich. In der finnischen Studie wurde der Abbott-Assay zur

Bestimmung des Insulinspiegels verwendet. Die iranische Studie macht keine Angabe über den verwendeten Assay. Die Cutoff-Werte ähnelten sich, da in beiden Fällen der HOMA-IR bei NAFLD-Patienten betrachtet wurde, also dieselbe Fragestellung behandelt wurde.

Die GHS-Studie und die italienische Studie haben einen Referenzbereich für Gesunde für den HOMA-IR ermittelt, wobei in dieser Arbeit das 95. Perzentil und in der italienischen Studie das 75. Perzentil verwendet wurde. Ein weiterer Unterschied war die Methode der Insulinbestimmung, wobei in dieser Arbeit der Abbott-Assay verwendet wurde, während in der italienischen Studie eines von Siemens-Assays (ADVIA) verwendet wurde. Die Cutoff-Werte unterschieden sich in der italienischen Studie mit einem Wert von 3,02 deutlich von dem Wert in dieser Arbeit. Der dort verwendete Cutoff war das 75. Perzentil, was bedeutet, dass der Cutoff bei Verwendung des 95. Perzentils noch höher liegen würde. Die wahrscheinlichste Erklärung für den großen Unterschied im Vergleich zu dieser Arbeit ist die Auswahl des Referenzkollektivs.

Die italienische Studie hat den HOMA-IR für drei Gruppen separat berechnet: In der adipösen Gruppe wurde der HOMA-IR-Cutoff mit 3,42 berechnet, die normale Gewichtsgruppe mit 1,68 und bei der gesamten Bevölkerung betrug der Cutoff 3,02. Alle diese Werte wurden unter Verwendung des 75. Perzentils erstellt. Der HOMA-IR dieser Arbeit am 75. Perzentil für die Referenzgruppe lag bei 1,42 für die Abbott-Methode und bei 1.34 für die Siemens-Methode (siehe Tabelle 3-17). Hier wird der Unterschied zwischen dem HOMA-IR Cutoff der GHS-Studie und dem Cutoff der italienischen Gruppe (1.68 vs. 1.34), deutlich, was vermutlich an der Definition der jeweiligen Referenzgruppe liegt.

Tabelle 4-1: Cut-offs-Werte für HOMA-IR in der neueren Literatur (Stichprobengröße ≥ 1000)

Publikation	Ort, Jahr	Stichprobengröße	Insulin Kit, Hersteller	Population-Charakteristiken	Kriterien	Cutoff
Use of HOMA-IR to diagnose non-alcoholic fatty liver disease: a population-based and inter-laboratory study. ⁽¹⁰⁹⁾	Finland 2017	2849	CLIA method (Abbott)	healthy individuals, HOMA-IR cut-off for NAFLD	the upper 95 th percentile (90 th percentile)	1.9
Optimal cutoff points for HOMA-IR and QUICKI in the diagnosis of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease ⁽¹¹⁰⁾	Iran 2016	5511	nicht geschrieben	≥18 years	(ROC) analysis	2.0
Reference ranges of HOMA-IR in normal-weight and obese young Caucasians. ⁽¹¹¹⁾	Italien 2016	2753	CLIA method (ADVIA Centaur analyzer; Bayer Diagnostic)	Healthy population	75 th percentile	3.02
Optimal cut-off value for HOMA-index of insulin-resistance in a population of patients admitted electively in a Portuguese cardiology ward. ⁽¹¹²⁾	Portugal 2014	1784	Electrochemiluminescence ECLIA	Non-diabetic individuals in a Cardiology ward; BMI < 25 Kg/m ² ; FPG <100 mg/dL	90 th percentile	2.33
Insulin resistance determined by Homeostasis Model Assessment (HOMA) and associations with metabolic syndrome among Chinese children and teenagers. ⁽¹¹³⁾	China 2013	3203	ELISA, developed in the Key Laboratory of Endocrinology, Peking Union Medical College Hospital	Ages: 6-18 years (children and adolescents)	95 th percentile	3.0
Optimal cut-off point for homeostasis model assessment of insulin resistance to discriminate metabolic syndrome in non-diabetic Japanese subjects. ⁽¹¹⁴⁾	Japan 2012	6868	Nicht geschrieben	Non-diabetic subjects	ROC	1.7
Optimal cut-off of homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) for the diagnosis of metabolic syndrome ⁽¹¹⁵⁾	Iran 2010	3071	RIA (Immunotech, Prague, Czech Republic)	Adult individuals; ages: 25-64 years	ROC curve	3.875
Ethnic differences in the ability of triglyceride levels to identify insulin resistance. ⁽¹¹⁶⁾	U.S.A 2008	2804	RIA (Pharmacia Diagnostics AB, Upsala, Sweden)	Age ≥ 20; normal BMI and fasting glucose	66 th percentile	2.73
Relation between insulin resistance and carotid intima-media thickness and stenosis in non-diabetic subjects. ⁽¹¹⁷⁾	Schweden 2000	4816	Keine Daten	Healthy population	75 th percentile	2.0

Die chinesische Studie (Tabelle 4-1) war die einzige Studie mit einer großen Kohorte, bei der ein Cutoff für HOMA-IR nach Altersgruppen von 6 bis 18 Jahren ermittelt wurde. Sie verwendeten eine ELISA-Methode zur Insulinbestimmung, welche von den anderen Laboren selten verwendet wird. Der gegenwärtige HOMA-IR-Cutoff, der dem 95. Perzentil gesunder Referenzkinder entspricht, betrug 3,0 für die Gesamtkollektiv. Theoretisch müsste der HOMA-IR für Kinder und Jugendlichen niedriger liegen, allerdings ist unklar, wie die Insulinergebnisse dieses ELISA-Assay mit anderen häufig verwendeten Insulin-Assays korrelieren. In der chinesischen Studie lag der optimale Cutoff für die Diagnose vom metabolischen Syndrom bei 2,3 bei der Gesamtkollektiv, welcher deutlich unterhalb von deren oberen Referenzwertgrenze von 3,0 liegt. Der HOMA-IR-Cutoff muss jedoch höher sein als der normale HOMA-IR. Wir gehen deshalb davon aus, dass die Definition einer normalen oder gesunden Gruppe in dieser Studie nicht korrekt war, da nur chronische Erkrankungen ausgeschlossen wurden. Unserer Meinung nach sollte zur Behebung dieses Problems der „HOMA-IR gesund“ so definiert sein, dass nicht ausschließlich unter chronischen Erkrankungen leidende Probanden ausgeschlossen werden sollten, sondern ebenfalls Probanden mit Adipositas oder metabolischem Syndrom. Unter Verwendung geeigneter Definitionskriterien kann folglich ein adäquater Normalbereich für HOMA-IR bestimmt werden.

Die portugiesische Studie 2014 hat einen normalen Cutoff für den HOMA-IR von 2,33 unter Verwendung des 90. Perzentils und einen weiteren Cutoff für das metabolische Syndrom von 2,41 ermittelt. Der normale Cutoff ähnelt dem Cutoff unserer GHS-Studie, der bei Verwendung des 90. Perzentils 2,11 beträgt. Die in der portugiesischen Studie verwendete Methode war ECLIA, wobei es sich beim Hersteller vermutlich um die Firma Roche handelt, die die ECLIA-Methode mit dem KIT ELYCSYS anbietet. Die

Vergleichbarkeit zwischen der GHS-Studie und der portugiesischen Studie ist recht hoch, da das Definitionskriterium der gesunden Gruppe (Tabelle 4-1), sowie auch die Grenzwerte ähnlich waren.

Der niedrigste HOMA-IR-Cutoff wurde von der japanischen Studie mit 1,7 als Cutoff für MS beschrieben, was bedeutet, dass der obere Normalwert ebenfalls niedriger sein muss. Der Herstellername wurde bedauerlicherweise von den Autoren nicht angegeben, sodass ein Vergleich mit anderen Studien auf diese Weise nicht möglich ist. In den Materialien und Methoden haben die Autoren Messgrößen für den Taillenumfang (≥ 85 cm für Männer und 90 cm für Frauen) als Kriterien für MS verwendet. Die Frage ist, ob die Autoren einen Fehler gemacht oder tatsächlich den vorherigen Taillenumfang als Kriterium für MS verwendet haben? Letztendlich unterscheidet sich dieser japanische Cutoff mit einem sehr viel niedrigeren Cutoff deutlich von dem der GHS-Studie.

HOMA-IR und Geschlecht

In der Referenzgruppe

Der HOMA-IR zeigt einen leichten Unterschied zwischen Männern und Frauen. Bei Verwendung der 95 Perzentile war der HOMA-IR bei Männern (2,39) höher als bei Frauen (2,33) und umgekehrt bei Verwendung der 90 Perzentile (Männer: 2,07, Frauen: 2,15), sodass wir der Ansicht sind, dass diese geringfügigen Unterschiede in der Referenzgruppe nicht signifikant sind.

In der gesamten Teilnehmergruppe

Die HOMA-IR-Werte unterscheiden sich offensichtlich zwischen Männern und Frauen, indem 95 und 90 Perzentile verwendet werden. Männer haben höhere HOMA-IR-Werte als Frauen (Der Mittelwert bei Männern liegt bei 2.6

gegenüber 2.15 bei Frauen, siehe Tabelle 3-3). Dieser Unterschied zwischen den beiden Geschlechtern ist signifikant.

Wir haben in unserer Referenzgruppe 1065 Teilnehmer, von denen 588 Frauen waren (55,21%); was ebenso auf einen besseren Glukosestoffwechsel bei Frauen und folglich auf eine bessere Prognose oder eine niedrigere Sterblichkeitsrate bei Frauen hinweist.

HOMA-IR und Alter

In der Referenzgruppe

Die HOMA-IR-Werte zeigen hier keine signifikanten Veränderungen zwischen den Altersgruppen, der Grund hierfür ist einfach, dass wir die Population mit optimalen Laborwerten und optimalem Gewicht usw. ausgewählt haben, deshalb sind die Werte nicht sehr unterschiedlich bei der Referenzgruppe, aber den Unterschied kann man sehr deutlich bei der gesamten Teilnehmerzahl sehen.

In der gesamten Teilnehmergruppe

Die HOMA-IR-Werte steigen offensichtlich mit dem Alter an, Tabelle 3-5 zeigt, dass der HOMA-IR im Alter von 35 bis 44 bei allen Teilnehmern 3,81 beträgt, steigt im Alter von 45 bis 54 auf 5,27, dann im Alter von 55 - 64 auf 7,19 und steigt dann weiter auf 8,6 im Alter von 65 - 74 Jahren an. Diese Veränderungen können damit erklärt werden, dass die Inzidenz von DM mit dem Alter zunimmt und die älteren Menschen im Vergleich zur jüngeren Bevölkerung ein sesshafteres Leben haben, sowie hohe Adipositasprävalenz.

Harmonisierung/Standardisierung der Insulin-Messmethode

Vier Parameter spielen bei der Diagnose und Therapie von Diabetes mellitus eine große Rolle: Glukose, HbA1c, C-Peptid und Insulin. Für die Bestimmung der Glukosekonzentration im Plasma gilt die Hexokinase-methode als Referenzmethode. Sie ist seit 1976 verfügbar ⁽¹¹⁸⁾ Eine definitive Methode basierend auf der Isotopenverdünnung ist ebenfalls verfügbar. Die Standardisierung von HbA1c erfolgte später. Im Jahr 2002 wurde eine Referenzmethode (IFCC) beschrieben ⁽¹¹⁹⁾, und im Jahr 2017 wurde der erste internationale Standard erstellt und bewertet ⁽¹²⁰⁾. Dagegen ist der Insulintest bisher nicht standardisiert oder harmonisiert. Hierbei stellte sich die Frage: was bedeutet das Synonym Harmonisierung und Standardisierung?

Die Übernahme dieses "Standardisierungs" -Ansatzes bietet theoretische und praktische Vorteile. Klinische Labortests sind mittlerweile ein „globales Geschäft“, und die Labors arbeiten nicht mehr isoliert, sondern sind über Netzwerke der Informationstechnologie miteinander verbunden. Daher ist es nur logisch und im besten Interesse der Patienten, eine enge Übereinstimmung der Testergebnisse für das Krankheitsmanagement zu erzielen. Wenn vergleichbare Ergebnisse erzielt werden, wird eine größere Datenbank klinischer Informationen erstellt, mit deren Hilfe die diagnostische Spezifität und Sensitivität eines Tests endgültig bestimmt und eindeutige Referenzbereiche oder Entscheidungspunkte für medizinische Eingriffe festgelegt werden können.

Sowohl der Standardisierungs- als auch der Harmonisierungsprozess zielen darauf ab, die Vergleichbarkeit der Testergebnisse zwischen Laboratorien zu verbessern. Während sich standardisierte Ergebnisse eher dem „wahren“ Wert annähern, können harmonisierte Ergebnisse in

Bezug auf die Richtigkeit verzerrt sein. Die Verwendung des Standardisierungsprozesses gewährleistet die Rückverfolgbarkeit der Ergebnisse auf ein akzeptiertes Referenzmesssystem und eine größere Sicherheit, dass ein Ergebnis nahe am „wahren Wert“ liegt. ⁽¹²¹⁾

Es gibt 4 Kriterien, die über die Möglichkeit der Standardisierung eines Tests entscheiden: ⁽¹²²⁾

1. Der Biomarker muss auf molekularer Ebene genau definiert sein. Dies bedeutet, dass nur eine einzige molekulare Form existiert, die mit chemischen, biochemischen, physikalisch-chemischen und anderen Methoden präzise und genau gemessen werden kann
2. Der Biomarker muss rein sein
3. Der Biomarker muss stabil sein
4. Der Biomarker muss in konvertierbarer Form vorliegen (commutable form).

Das heißt, wenn der Biomarker gut definiert, rein, stabil und in austauschbarer Form (commutable form) ist; dann ist die Standardisierung möglich. Eine Standardisierung ist jedoch nicht möglich, wenn der Biomarker:

1. instabil ist, z.B. hohes Molekulargewicht
2. variable posttranslationale Modifikationen hat
3. unbekannte molekulare Identität hat
4. undefinierte Unterschiede zwischen Individuen hat

In diesem Fall ist eventuell die Harmonisierung möglich.

Harmonisierung der Insulinbestimmung in GHS-Studie

Die Basis für die Bestimmung des HOMA-IR-Index ist die Glucose und Insulin. Die Bestimmung von Glucose im Serum ist aufgrund der

Verfügbarkeit einer Referenzmethode und Referenzstandards für Glucose weltweit standardisiert. Die Herausforderung liegt jedoch in der Messung von Insulin, da bisher keine Referenzmethode verfügbar ist und auch die Harmonisierung nicht weit fortgeschritten ist. Das heißt, es gibt auch keine Standardmessung oder -berechnung für HOMA-IR. Aus diesem Grund wollten wir die Unterschiede zwischen den verschiedenen auf dem Markt verfügbaren Methoden aufzeigen. Die drei von uns verwendeten Methoden sind automatisiert und in vielen Labors verfügbar. Wir haben beschlossen, die RIA-Methode nicht zu verwenden, da sie derzeit in den meisten Labors keine Routinemethode ist, obwohl die RIA-Methode eine sensitive Methode ist und zu Beginn der HOMA-IR-Berechnung verwendet wurde. Darüber hinaus sind die RIA-Methoden auch nicht harmonisiert oder standardisiert, deswegen muss man die unterschiedlichen Hersteller von RIA-Methoden beachten.

Tabelle 3-13 zeigt den Korrelationskoeffizienten r zwischen den drei Firmen (Abbott, Roche und Siemens). Die Korrelationen zwischen Abbott und Roche (0,80) sowie zwischen Abbott und Siemens (0,81) waren akzeptabel; auf der anderen Seite war die Korrelation zwischen Roche und Siemens mangelhaft mit einem Korrelationskoeffizienten vom 0.61. Dies ist nicht akzeptabel für einen Parameter, obgleich die Werte mit zwei verschiedenen Immunoassays erhoben wurden.

Unsere Insulinmessungen sind mit Abbottgeräten und –reagenzien durchgeführt worden und hierbei ergab sich ein Cutoff für HOMA-IR von 2,35. Dieser Cutoff gilt daher nur für die Abbottmethode und nicht für die Bestimmung mit Reagenzien anderer Hersteller. Um den HOMA-IR dennoch berechnen zu können, muss ein Umrechnungsfaktor angewendet werden. In der Tabelle 3-12 können wir die unterschiedlichen Mittelwerte sehen und erkennen, dass Roche 1,21-mal höher liegt als Abbott und Siemens 1,42-

mal höher. Die Regressionsgleichung (siehe Tabelle 3-15) wurde verwendet, um den gemessenen HOMA-IR-Cutoff von Abbott auf die beiden anderen Firmen (Siemens und Roche) umzurechnen.

Die Formeln von 6 bis 9 zeigen, wie wir die Umrechnungen gemacht haben. Der berechnete HOMA-IR-Cutoff für die GHS-Studie mit Roche-Reagenzien lag bei 3.06 nach Ausschluss von 3 Ausreißern. Für Firma Siemens lag der berechnete HOMA-IR-Cutoff bei 2,71 nach Ausschluss von 3 Ausreißern.

Zusammenfassung

Das Insulin als Lab-Parameter spielt eine große Rolle bei der Unterscheidung der beiden Arten von Diabetes mellitus, bei der Diagnose von Insulinomen und auch bei der Insulinresistenz. Der HOMA-IR-Index kann jedoch ein nützlicher Parameter für die Diagnose des Insulinresistenzsyndroms und des metabolischen Syndroms sein.

Die GHS-Studie ist eine große Studie mit einer Basis von 15010 Teilnehmern und mit 10340 Teilnehmern für die HOMA-IR-Studie. Mit dieser großen Kohorte haben wir das Insulin gemessen und den HOMA-IR berechnet, um einen Cutoff für HOMA-IR zu bestimmen, indem wir eine Referenzgruppe mit bestimmten Kriterien verwendeten, um alle Faktoren auszuschließen, die den HOMA-IR-Index beeinflussen können.

Der HOMA-IR-Cutoff betrug 2,35 unter Verwendung der 95. Perzentile (das obere 97.5 Perzentil) und wurde mit den Reagenzien von Firma Abbott gemessen. Dieser Cutoff muss unter Verwendung anderer Reagenzien anderer Hersteller umgerechnet werden, da kein standardisierter Insulinassay verfügbar ist.

Das Ziel unserer Vergleichsmessungen von Insulin mit den meisten auf dem Markt erhältlichen Kits ist es, die Diskrepanzen zwischen den Assays aufzuzeigen, die Korrelation zwischen ihnen darzulegen und einen Cutoff für die beiden anderen Assays unter Verwendung der Regressionsgleichung festzulegen. Um dies zu erreichen, wurden 89 Proben in einem breiten Wertebereich von Insulinwerten mit 3 Immunoassays gemessen. Aufgrund der guten Korrelation zwischen den Assays mit der Abbott-Methode nach Ausschluss von 3 Ausreißern konnten wir einen HOMA-IR-Cutoff für Roche berechnen, der 3,06 betrug, während der Cutoff für Siemens bei 2,71 lag.

Der HOMA-IR-Index zeigt eine gute Spezifität und Sensitivität für die Diagnose des metabolischen Syndroms. C-Peptid hat jedoch eine ähnliche AUC wie HOMA-IR (geringfügig niedriger) unter Verwendung der ROC-Analyse.

Der HOMA-IR-Index hat einen prognostischen Wert für die Gesamtmortalität unter Verwendung eines Cutoffs von 2,35 in 5-Jahres-Follow-up (p-Wert <0,0001).

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abkürzungen	Full name / Meaning
ADA	American Diabetes Association®
ADP	Adenosindiphosphat
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area Under the Curve
BMI	Body mass index
CIGMA	Continuous infusion of glucose with model assessment
CKD	Chronic Kidney diseases
CLD	Chronic Liver diseases
CLIA	Chemiluminescent Immunoassay Method
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CVD	Cardiovascular diseases
CVRFs	Cardiovascular Risk Factors
DBP	Diastolic Blood pressure
DM	Diabetes Mellitus
ECLIA	Electrochemiluminescence Immunoassay
eGFR	Estimated Glomerular filtration rate
FPG	Fasting plasma glucose
G6PD	Glucose-6-phosphatdehydrogenase
GFR	Glomerular filtration rate
GFR	Glomerular filtration rate
GGT	Gamma-glutamyltransferase

HAMA	Humane Antimouse-Antikörper
HDL	High-density lipoprotein cholesterol
HOMA	Homeostatic Model Assessment
HOMA-IR	Homeostasis model assessment for insulin resistance
HR	Heart rate
IAPP	Islet amyloid polypeptide
IDL	Intermediate-density lipoprotein cholesterol
IFG	Impaired fasting glucose
IGT	Impaired glucose tolerance
IR	Insulinresistenz
LDL	Low-density lipoprotein cholesterol
MI	Myocardial infarction
MRS	Magnetic resonance spectroscopy
NAFLD	Nichtalkoholische Fettlebererkrankung
NCCLS	Nationalen Komitees für klinische Laborstandards
OGTT	Oral glucose tolerance test
OGTT	Oraler Glukosetoleranztest
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1
PCO	Poly cystic ovary
RIA	Radioimmunoassay
ROC-curve	Receiver-operating characteristic curve
SBP	Systolic Blood pressure
SD	Standardabweichung
VAI	Visceral adiposity index
VK	Variationskoeffizient
VLDL	Very low density lipoprotein cholesterol
WHO	World Health Organization

WHTR

Weight to height ratio

Literaturverzeichnis

1. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106(4):473-81.
2. Rytka JM, Wueest S, Schoenle EJ, Konrad D. The portal theory supported by venous drainage-selective fat transplantation. *Diabetes.* 2011;60(1):56-63.
3. Singh B, Saxena A. Surrogate markers of insulin resistance: A review. *World J Diabetes.* 2010;1(2):36-47.
4. Obesity and overweight Fact sheet N°311. WHO. 2015.
5. BMI classification. World Health Organization. 2014.
6. Xia Q, Grant SF. The genetics of human obesity. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1281:178-90.
7. Eurostat (EHIS 2008 and 2014) complemented with OECD Health Statistics 2018 for 2000 data and data for non-EU countries.
8. Donald Voet JGV. *Biochemistry, 4th Edition.* 2010.
9. Drug Information Portal NLM – Insulin human USAN
<http://druginfo.nlm.nih.gov/drugportal/>
10. "First Successful Laboratory Production of Human Insulin Announced". News Release. Genentech. 1978-09-06. Retrieved 2016-09-26. .
11. Tof I (1994). "Recombinant DNA technology in the synthesis of human insulin". Little Tree Publishing. Retrieved 2009-11-03.
12. Stryer L (1995). *Biochemistry (Fourth ed.)*. New York: W.H. Freeman and Company. pp. 773–74. ISBN 0 7167 2009 4. .
13. Sonksen P, Sonksen J. Insulin: understanding its action in health and disease. *Br J Anaesth.* 2000;85(1):69-79.
14. Koeslag JH, Saunders PT, Terblanche E. A reappraisal of the blood glucose homeostat which comprehensively explains the type 2 diabetes mellitus-syndrome X complex. *J Physiol.* 2003;549(Pt 2):333-46.
15. American Society of Health-System Pharmacists (2009-02-01). "Insulin Injection". PubMed Health. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. Retrieved 2012-10-12.

16. Iannuzzi C, Irace G, Sirangelo I. Differential effects of glycation on protein aggregation and amyloid formation. *Front Mol Biosci.* 2014;1:9.
17. Andisheh Abedini, and Ann Marie Schmidt Mechanisms of Islet Amyloidosis Toxicity in Type 2 Diabetes; *FEBS Lett.* Author manuscript; available in PMC 2015 Sep 2.
18. Andisheh Abedini, corresponding author Julia Derk, and Ann Marie Schmidt; The receptor for advanced glycation endproducts is a mediator of toxicity by IAPP and other proteotoxic aggregates: Establishing and exploiting common ground for novel amyloidosis therapies; *Protein Sci.* 2018 Jul; 27(7): 1166–1180.
19. Husnia I. Marrif, and Salma I. Al-Sunousi; Pancreatic β Cell Mass Death; *Front. Pharmacol.*, 06 April 2016.
20. Azuma Kanatsuka caSK, 2 and Hideichi Makino. IAPP/amylin and β -cell failure: implication of the risk factors of type 2 diabetes. *Diabetol Int.* 2018
21. Andisheh Abedini JD, and Ann Marie Schmidt, . The receptor for advanced glycation endproducts is a mediator of toxicity by IAPP and other proteotoxic aggregates: Establishing and exploiting common ground for novel amyloidosis therapies. *Protein Sci* 2018 Jul; 27(7): 1166–1180.
22. Kalra S, Kalra B, Kumar S, Sharma A. Managing insulin resistance: role of liraglutide. *Clin Pharmacol.* 2010;2:131-4.
23. Misso ML, Egberts KJ, Page M, O'Connor D, Shaw J. Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) versus multiple insulin injections for type 1 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010(1):CD005103.
24. Saltiel A KC. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* ;414:799–806 [PubMed] 2001.
25. Adamo M RM, LeRoith D. Insulin and insulin-like growth factor receptors in the nervous system. *Mol Neurobiol.* 1989;3:71–100. [PubMed]
26. Frasca F ea. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. *Arch Physiol Biochem* ;114:23–37 [PubMed]. 2008.
27. S. C. Alzheimer disease: Insulin resistance and AD–extending the translational path. *Nat Rev Neurol* ;8:360–362 [PubMed] 2012.

28. *Seino S SM, Nishi S, Bell G. . Structure of the human insulin receptor gene and characterization of its promoter. Proc Natl Acad Sci U S A; 86:114-118 [PMC free article] [PubMed] 1989.*
29. *P. DM. Insulin/Receptor binding: the last piece of the puzzle?. Bioessays; 37:389-397 [PubMed] 2015.*
30. *Menting J ea. How insulin engages its primary binding site on the insulin receptor. . Nature; 493:241-245 2013.*
31. *McKern NM ea. Structure of the insulin receptor ectodomain reveals a folded over conformation. Nature; 443:218-221 [PubMed] 2006.*
32. *Ward CW LM. "Ligand-induced activation of the insulin receptor: a multi-step process involving structural changes in both the ligand and the receptor". BioEssays 31 (4): 422-34 doi:101002/bies200800210 PMID 19274663 (April 2009).*
33. *Belfiore A FF, Pandini G, Sciacca L, Vigneri R. . "Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease". Endocrine Reviews 30 (6): 586-623 doi:101210/er2008-0047 PMID 19752219. (October 2009).*
34. <http://biocrine.com/development-programs-home/insulin-receptor-isoforms-as-targets/>.
35. *Brian Spencer LR, Jeff Metcalf & Paula Desplats. Identification of Insulin Receptor Splice Variant B in Neurons by in situ Detection in Human Brain Samples,. Scientific Reports volume 8, Article number: 4070 2018.*
36. *Smith B ea. Structural Resolution of a tandem hormone-binding element in the insulin receptor and its implications for design of peptide agonists. . Proc Natl Acad Sci USA; 107:6771-6776 [PubMed]. 2010.*
37. *Croll T ea. Higher-Resolution Structure of the Human Insulin Receptor Ectodomain: Multi-Modal Inclusion of the Insert Domain. . Structure; 24:469-476 [PubMed]. 2016.*
38. https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-insulin-receptor-Insulin-receptor-is-a-heterotetrameric-receptor-that_fig3_311994370.
39. *LibinYe S, NarinderSanghera, PiraveenGopalasingam, EvgeniyGorbunov, SergeyTarasov, OlegEpstein, JudithKlein-Seetharaman, . Structure and dynamics of the insulin receptor: implications for receptor activation and drug discovery,. <https://doi.org/101016/jdrudis201704011>.*

40. Kiselyov VV VS, Gauguin L, De Meyts P. "Harmonic oscillator model of the insulin and IGF1 receptors' allosteric binding and activation". . *Molecular Systems Biology* 5 (5): 243 doi:101038/msb200878 PMC 2657531 PMID 19225456. February 2009.
41. Pratley RE. Gene-environment interactions in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: lessons learned from the Pima Indians. *Proc Nutr Soc.* 1998;57(2):175-81.
42. Romao I, Roth J. Genetic and environmental interactions in obesity and type 2 diabetes. *J Am Diet Assoc.* 2008;108(4 Suppl 1):S24-8.
43. Ahima RS, Lazar MA. Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. *Mol Endocrinol.* 2008;22(5):1023-31.
44. Beale EG, Hammer RE, Antoine B, Forest C. Disregulated glyceroneogenesis: PCK1 as a candidate diabetes and obesity gene. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15(3):129-35.
45. Zac-Varghese S, Tan T, Bloom SR. Hormonal interactions between gut and brain. *Discov Med.* 2010;10(55):543-52.
46. Beale EG. Insulin signaling and insulin resistance. *J Investig Med.* 2013;61(1):11-4.
47. G. W. "Singularity analysis of the AKT signaling pathway reveals connections between cancer and metabolic diseases". . *Physical Biology* 7 (4): 046015 Bibcode:2010PhBio7d6015W doi:101088/1478-3975/7/4/046015 PMID 21178243. (December 2010).
48. G. W. "Raison d'être of insulin resistance: the adjustable threshold hypothesis". . *Journal of the Royal Society, Interface* 11 (101): 20140892 doi:101098/rsif20140892 PMC 4223910 PMID 25320065. (December 2014).
49. Lucidi P RP, Porcellati F, Pampanelli S, Candeloro P, Andreoli AM, Perriello G, Bolli GB, Fanelli CG. . "Mechanisms of insulin resistance after insulin-induced hypoglycemia in humans: the role of lipolysis". *Diabetes* 59 (6): 1349-57 doi:102337/db09-0745 PMC 2874695 PMID 20299466. (June 2010).
50. Wang G ZM. "Tunable ultrasensitivity: functional decoupling and biological insights". . *Scientific Reports* 6: 20345 Bibcode:2016NatSR620345W doi:101038/srep20345 PMC 4742884 PMID 26847155. (February 2016).

51. Roden M PK, Shulman GI. . Nuclear magnetic resonance studies of hepatic glucose metabolism in humans. *Recent Prog Horm Res* 56: 219-237. 2001.
52. Shulman GI RD, Jue T, Stein P, DeFronzo RA, Shulman RG. . Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med* 322: 223-228. 1990.
53. Magnusson I RD, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI. . Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A ¹³C nuclear magnetic resonance study. *J Clin Invest* 90: 1323-1327. 1992.
54. Rothman DL SR, Shulman GI. . ³¹P nuclear magnetic resonance measurements of muscle glucose-6-phosphate. Evidence for reduced insulin-dependent muscle glucose transport or phosphorylation activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 89: 1069-1075 1992.
55. Rothman DL MI, Cline G, Gerard D, Kahn CR, Shulman RG, Shulman GI. . Decreased muscle glucose transport/phosphorylation is an early defect in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 983-987. 1995.
56. Boden G SG. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest* 2002; 32 (suppl 3): 14-23.
57. G. B. Pathogenesis of type 2 diabetes. Insulin resistance. . *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; 30: 801-815.
58. David B. Savage KFP, and Gerald I. Shulman. Mechanisms of Insulin Resistance in Humans and Possible Links With Inflammation. *Hypertension* 2005;45:828–833. 2005.
59. Samuel VT LZ, Qu X, Elder BD, Bilz S, Befroy D, Romanelli AJ, Shulman GI. . Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. . *J Biol Chem* 279: 32345-32353. 2004.
60. Boden G SG. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. . *Eur J Clin Invest* 2002; 32 (suppl 3): 14-23.
61. Shimomura I MM, Hammer RE, Bashmakov Y, Brown MS, Goldstein JL. . Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin

- resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. . Mol Cell 2000; 6: 77-86.*
62. *Wellen KE HG. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. . J Clin Invest 112: 1785-1788. 2003.*
 63. *GS. H. Inflammatory pathways and insulin action. . Int J Obes Relat Metab Disord 27 (suppl 3): S53-S55. 2003.*
 64. *Fain JN MA, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. . Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. . Endocrinology 2004; 145: 2273-2282.*
 65. *Weisberg SP MD, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. . Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. . J Clin Invest 2003; 112: 1796-1808.*
 66. *Xu H BG, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H. . Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. . J Clin Invest 2003; 112: 1821-1830.*
 67. *PJ. H. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. . Diabetes 2004; 53 (suppl 1): S143-S151.*
 68. *Kershaw EE FJ. Adipose tissue as an endocrine organ. . J Clin Endocrinol Metab 2004; 89: 2548-2556.*
 69. *Berg AH CT, Scherer PE. . ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. Trends Endocrinol Metab 2002; 13: 84-89.*
 70. *Yamauchi T KJ, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. . Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. Nature 2003; 423: 762-769.*
 71. *Hoehn KL SA, Hohnen-Behrens C, Turner N, Hoy AJ, Maghzal GJ, Stocker R, Van Remmen H, Kraegen EW, Cooney GJ, Richardson AR, James DE. . "Insulin resistance is a cellular antioxidant defense mechanism". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 106 (42): 17787-92 Bibcode:2009PNAS10617787H*

doi:101073/pnas0902380106 PMC 2764908 PMID 19805130. (October 2009).

72. Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet*. 2011;378(9786):169-81.
73. Leproult R, Deliens G, Gilson M, Peigneux P. Beneficial impact of sleep extension on fasting insulin sensitivity in adults with habitual sleep restriction. *Sleep*. 2015;38(5):707-15.
74. Gadgil MD, Appel LJ, Yeung E, Anderson CA, Sacks FM, Miller ER, 3rd. The effects of carbohydrate, unsaturated fat, and protein intake on measures of insulin sensitivity: results from the OmniHeart trial. *Diabetes Care*. 2013;36(5):1132-7.
75. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*. 2012;148(5):852-71.
76. Hrnčiar J. [Clinical manifestations of the insulin resistance syndrome. The hormonal-metabolic syndrome X, the 5H syndrome and their etiopathogenesis]. *Vnitr Lek*. 1995;41(2):92-8.
77. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):401-11. Hosker JP, Matthews DR, Rudenski AS, Burnett MA, Darling P, Bown EG, Turner RC. PMID: 3899824.
78. Rudenski AS, Matthews DR, Levy JC, Turner RC. Understanding "insulin resistance": both glucose resistance and insulin resistance are required to model human diabetes. *Metabolism*. 1991;40(9):908-17.
79. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004;27(6):1487-95.
80. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes Care*. 1998;21(12):2191-2.
81. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
82. Turner RC, Holman RR, Matthews D, Hockaday TD, Peto J. Insulin deficiency and insulin resistance interaction in diabetes: estimation of their relative contribution by feedback analysis from basal plasma insulin and glucose concentrations. *Metabolism*. 1979;28(11):1086-96.

83. Chizumi Yamada TM, Noboru Hiratsuka, Fumiyo Inabe, Nami Araida, and Eiko Takahashi. Optimal reference interval for homeostasis model assessment of insulin resistance in a Japanese population. *J Diabetes Investig.* 2011.
84. Hosker JP, Matthews DR, Rudenski AS, Burnett MA, Darling P, Bown EG, et al. Continuous infusion of glucose with model assessment: measurement of insulin resistance and beta-cell function in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):401-11.
85. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP (1998). "Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program". *Diabetes Care.* 21 (12): 2191-2. doi:10.2337/diacare.21.12.2191. PMID 9839117.
86. Tara M. Wallace, MD, Jonathan C. Levy, MD and David R. Matthews, MD *Diabetes Care* 2004 Jun; 27(6): 1487-1495. I (B).
87. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. An increase in insulin sensitivity and basal beta-cell function in diabetic subjects treated with pioglitazone in a placebo-controlled randomized study. *Diabet Med.* 2004;21(6):568-76.
88. From the American Diabetes Association of Medical Care, *Diabetes Care.*
89. Williamson DF, Vinicor F, Bowman BA, Centers For Disease C, Prevention Primary Prevention Working G. Primary prevention of type 2 diabetes mellitus by lifestyle intervention: implications for health policy. *Ann Intern Med.* 2004;140(11):951-7.
90. US Renal Data System. *USRDS 2004 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States.* Available at: http://www.usrds.org/atlas_2004.htm. Accessed May 26, 2005.
91. Ulbrecht JS, Cavanagh PR, Caputo GM. Foot problems in diabetes: an overview. *Clin Infect Dis.* 2004;39 Suppl 2:S73-82.
92. Economic Costs of Diabetes in the U.S. in 2017 American Diabetes Association, *Diabetes Care* 2018 Mar; dci180007. <https://doi.org/10.2337/dci18-0007>.
93. (WHO Europa <http://www.euro.who.int/de/health-topics/noncommunicable-diseases/diabetes/news/news/2011/11/diabetes-epidemic-in-europe>).
94. Healthcare costs of Type 2 diabetes in Germany. Jacobs E1,2, Hoyer A1, Brinks R1, Icks A3,2,4, Kuß O1,2, Rathmann W1,2.

95. *Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2017, Link: https://www.diabetesde.org/system/files/documents/gesundheitsbericht_2017.pdf.*
96. *Statistisches Landesamt Rheinland-Pfalz).*
97. *Wild PS, Zeller T, Beutel M, Blettner M, Dugi KA, Lackner KJ, et al. [The Gutenberg Health Study]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2012;55(6-7):824-9.*
98. *Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988;16(3):1215.*
99. *Petta S, Amato M, Cabibi D, Camma C, Di Marco V, Giordano C, et al. Visceral adiposity index is associated with histological findings and high viral load in patients with chronic hepatitis C due to genotype 1. Hepatology. 2010;52(5):1543-52.*
100. *Ze EY, Kim BJ, Jun DH, Kim JG, Kang H, Lee DY. The Fatty Liver Index: A Simple and Accurate Predictor of Colorectal Adenoma in an Average-Risk Population. Dis Colon Rectum. 2018;61(1):36-42.*
101. *Arbeitsanleitung des Herstellers*
102. *NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5 A2 (ISBN 1 56238 542 9). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 1898 USA, 2004.*
103. *Moriyama M, Hayashi N, Ohyabu C, Mukai M, Kawano S, Kumagai S. Performance evaluation and cross-reactivity from insulin analogs with the ARCHITECT insulin assay. Clin Chem. 2006;52(7):1423-6.*
104. *Kallner. A. in Laboratory Statistics (Second Edition), 2018.*
105. *Linnet K. Estimation of the linear relationship between the measurements of two methods with proportional errors. Stat Med. 1990;9(12):1463-73.*
106. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). C28-A2: How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. 2nd ed. Villanova, PA: CLSI; 2008.*
107. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), C28-A2: How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. 2nd ed. Villanova, PA: CLSI; 2008.*

108. Boyd JC. Defining laboratory reference values and decision limits: populations, intervals, and interpretations. *Asian J Androl.* 2010;12(1):83-90.
109. Isokuortti E, Zhou Y, Peltonen M, Bugianesi E, Clement K, Bonnefont-Rousselot D, et al. Use of HOMA-IR to diagnose non-alcoholic fatty liver disease: a population-based and inter-laboratory study. *Diabetologia.* 2017;60(10):1873-82.
110. Motamed N, Miresmail SJ, Rabiee B, Keyvani H, Farahani B, Maadi M, et al. Optimal cutoff points for HOMA-IR and QUICKI in the diagnosis of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: A population based study. *J Diabetes Complications.* 2016;30(2):269-74.
111. Shashaj B, Luciano R, Contoli B, Morino GS, Spreghini MR, Rustico C, et al. Reference ranges of HOMA-IR in normal-weight and obese young Caucasians. *Acta Diabetol.* 2016;53(2):251-60.
112. Timoteo AT, Miranda F, Carmo MM, Ferreira RC. Optimal cut-off value for homeostasis model assessment (HOMA) index of insulin-resistance in a population of patients admitted electively in a Portuguese cardiology ward. *Acta Med Port.* 2014;27(4):473-9.
113. Yin J, Li M, Xu L, Wang Y, Cheng H, Zhao X, et al. Insulin resistance determined by Homeostasis Model Assessment (HOMA) and associations with metabolic syndrome among Chinese children and teenagers. *Diabetol Metab Syndr.* 2013;5(1):71.
114. Yamada C, Moriyama K, Takahashi E. Optimal cut-off point for homeostasis model assessment of insulin resistance to discriminate metabolic syndrome in non-diabetic Japanese subjects. *J Diabetes Investig.* 2012;3(4):384-7.
115. Esteghamati A, Ashraf H, Khalilzadeh O, Zandieh A, Nakhjavani M, Rashidi A, et al. Optimal cut-off of homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) for the diagnosis of metabolic syndrome: third national surveillance of risk factors of non-communicable diseases in Iran (SuRFNCD-2007). *Nutr Metab (Lond).* 2010;7:26.
116. Sumner AE, Cowie CC. Ethnic differences in the ability of triglyceride levels to identify insulin resistance. *Atherosclerosis.* 2008;196(2):696-703.
117. Hedblad B, Nilsson P, Janzon L, Berglund G. Relation between insulin resistance and carotid intima-media thickness and stenosis in non-

- diabetic subjects. Results from a cross-sectional study in Malmo, Sweden. Diabet Med. 2000;17(4):299-307.*
118. *Neese JW, Duncan P, Bayse D. Development and evaluation of a hexokinase/glucose-6-phosphate dehydrogenase procedure for use as a national glucose reference method. HEW Publication No. (CDC)77-8330. Atlanta, Ga: Centers for Disease Control, 1976.*
 119. *Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. Clin Chem Lab Med. 2002;40(1):78-89.*
 120. *Moore M, Dougall T, Ferguson J, Rigsby P, Burns C. Preparation, calibration and evaluation of the First International Standard for human C-peptide. Clin Chem Lab Med. 2017;55(8):1224-33.*
 121. *Thienpont LM, Van Uytvanghe K, Rodriguez Cabaleiro D. Metrological traceability of calibration in the estimation and use of common medical decision-making criteria. Clin Chem Lab Med. 2004;42(7):842-50.*
 122. *Horber S, Achenbach P, Schleicher E, Peter A. Harmonization of immunoassays for biomarkers in diabetes mellitus. Biotechnol Adv. 2019.*