

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Kindes- und Jugendalters
der Philipps-Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. Dr. H. Remschmidt
Klinische Forschergruppe „Genetische Mechanismen der Gewichtsregulation
unter besonderer Berücksichtigung von Essstörungen und Adipositas“
Leiter: Prof. Dr. J. Hebebrand

Adipositas durch Melanokortin-4-Rezeptormutationen: Familienstudien

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Maximilian Raab
aus München

Marburg, 2002

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am 3.04.2003

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. Maisch

Referent: Prof. Dr. Hebebrand

Korreferent: Prof. Dr. Koch

Inhaltsverzeichnis

1 Die Bedeutung des melanokortinergen Systems für die Gewichtsregulation ...	7
1.1 Neurohumorale Regulation des Körpergewichts	7
1.2 Was fasst man unter dem melanokortinergen System zusammen?	8
1.3 Der Melanokortin-4-Rezeptor (MC4R)	11
1.4 Das melanokortinerge System beeinflusst Nahrungsaufnahme und Energieverbrauch	12
1.4.1 Rezeptor-Knockout-Modelle	13
1.5 Pharmakologische Implikationen	15
1.5.1 Perspektiven für die Behandlung von Übergewicht mit MC4R-Agonisten	16
1.5.2 Perspektiven für die Behandlung von Kachexie mit MC4R-Antagonisten	17
1.6 Das melanokortinerge System: Befunde beim Menschen	18
1.6.1 Mutationen im <i>POMC</i> -Gen	18
1.6.2 Mutationen im <i>Prohormonkonvertase-1</i> -Gen	19
1.6.3 Polymorphismus im <i>AGRP</i> -Gen	19
1.6.4 Mutationen im <i>Melanokortin-4-Rezeptor</i> -Gen	19
2 Familien, Materialien und Methoden	29
2.1 Rekrutierung der Familien	29
2.2 Anamnese und psychologische Variablen	30
2.2.1 Semistrukturiertes Interview	30
2.2.2 Fragebogen zum Essverhalten	30
2.2.3 Nahrungsmittel-Häufigkeits-Fragebogen	30
2.3 Anthropometrische Daten	31
2.3.1 Body-Mass-Index	31
2.3.2 Waist Hip Ratio	31
2.3.3 Bestimmung des Körperfettanteils	32
2.4 Gewinnung und Auswertung der Proben	32
2.4.1 Leptinbestimmung	32
2.4.2 Molekulargenetische Untersuchungen	32
2.4.2.1 Polymerase-Kettenreaktion	33
2.4.2.2 Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse	33
2.4.2.3 Sequenzierung	33
2.4.2.4 Restriktionsendonukleasen	34

2.4.2.5 ARMS Test	34
2.5 Pharmakologische Untersuchungen	34
2.6 Statistische Verfahren	35
2.6.1 Die Stammbäume	35
2.6.2 <i>MC4R</i> -Mutationsträger: höheres Körpergewicht als die Wildtyp-Träger? Test auf Kopplungsungleichgewicht	36
2.6.3 Deskriptive Analysen	37
3 Ergebnisse	38
3.1 Test auf Kopplungsungleichgewicht: höheres Körpergewicht bei <i>MC4R</i> -Mutationsträgern	38
3.2 Deskriptive Ergebnisse zum Phänotyp der <i>MC4R</i> -Mutationsträger	44
3.2.1 <i>MC4R</i> -Mutationen haben möglicherweise beim weiblichen Geschlecht einen größeren Effekt auf das Körpergewicht	44
3.2.2 Der Schweregrad der Adipositas bei den Wildtyp-Trägern scheint abhängig vom Verwandtschaftsgrad zum Index zu sein	45
3.2.3 Übergewicht manifestiert sich bei <i>MC4R</i> -Mutationsträgern meist bereits im Vorschulalter	47
3.2.3.1 Daten aus den „Gelben Untersuchungsheften“	47
3.2.3.2 Verlauf des subjektiv eingeschätzten Körpergewichts in der Kindheit und Jugend	49
3.2.4 <i>MC4R</i> -Mutationsträger: Übergewicht auch jenseits von 40 Jahren	50
3.2.5 Wachstumsbeschleunigung bei <i>MC4R</i> -Mutationsträgern	50
3.2.6 Die Körpergröße bei Erwachsenen ist unabhängig vom <i>MC4R</i> -Allel	50
3.2.7 Körperfettanteil als Funktion des BMI	51
3.2.8 Energie- und Fettaufnahme sind unabhängig vom <i>MC4R</i> -Allel	53
3.2.9 Daten aus dem Fragebogen zum Essverhalten (FEV)	55
3.2.9.1 Hunger ist unabhängig vom <i>MC4R</i> -Allel	55
3.2.9.2 Kognitive Kontrolle des Essverhaltens	56
3.2.9.3 Störbarkeit des Essverhaltens	58
3.2.10 Frauen mit <i>MC4R</i> -Mutationen in unserer Untersuchung haben höhere Leptinspiegel als die Wildtyp-Trägerinnen	59

4 Diskussion	61
4.1 Die Haupthypothese: Übergewicht durch <i>MC4R</i> -Mutationen	61
4.1.1 Diskussion der Methoden zur Untersuchung der Haupthypothese	61
4.1.1.1 Studienteilnehmer	61
4.1.1.2 Erhebung von Körpergewicht und Körperhöhe	61
4.1.1.3 Die Referenzdaten: BMI-Perzentile und SDS-Werte	62
4.1.1.4 Permutationstest	63
4.1.1.5 Pharmakologische Charakterisierung der Rezeptorvarianten	63
4.1.2 Diskussion zum Ergebnis der Haupthypothese:	
<i>MC4R</i> -Mutationsträger sind schwerer als die Wildtyp-Träger	64
4.2. Weitere Charakterisierung des Phänotyps der <i>MC4R</i> -Mutationsträger	66
4.2.1 <i>MC4R</i> -Mutationen haben möglicherweise beim weiblichen Geschlecht einen größeren Effekt auf das Körpergewicht	66
4.2.2 Alter bei Beginn des Übergewichts	67
4.2.2.1 Die Daten aus Vorsorgeuntersuchungen („gelbe Untersuchungshefte“)	67
4.2.2.2 Retrospektive Angaben zum Körpergewicht relativ zu den Gleichaltrigen ..	68
4.2.3 Wachstumsbeschleunigung und normale Endgröße bei <i>MC4R</i> -Mutationsträgern	69
4.2.4 Körperfettanteil als Funktion des BMI	69
4.2.5 Energie- und Fettaufnahme	70
4.2.6 Fragebogen zum Essverhalten	71
4.2.7 Leptin	71
 5 Zusammenfassung	 74
 6 Literaturverzeichnis	 76
 7 Anhang	
Silhouetten-Rating	
Dokumentation der 26 Familienstammbäume	
Tabelle: Genotyp und phänotypische Daten zu den Stammbäumen	
Geschätzte Gewichtsverläufe	
Weitere Daten aus den Untersuchungsheften	

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1: Das melanokortinerge System	9
Abbildung 2: Der Melanokortin-4-Rezeptor (MC4R)	11
Abbildung 3: Aktuelle BMI-Perzentile der Probanden	40
Abbildung 4: Maximale BMI-Perzentile der Probanden	41
Abbildung 5: Gewichtsverläufe in der Kindheit: Jungen mit <i>MC4R</i> -Mutationen (totaler Funktionsverlust)	47
Abbildung 6: Gewichtsverläufe in der Kindheit: Jungen mit <i>MC4R</i> -Mutationen (reduzierte Funktion)	48
Abbildung 7: Gewichtsverläufe in der Kindheit: Übergewichtige Jungen (Wildtyp-Träger)	48
Abbildung 8: Körperfettanteil bei Frauen und Mädchen	52
Abbildung 9: Körperfettanteil bei Männern und Jungen	52
Abbildung 10: Fettaufnahme bei Frauen	53
Abbildung 11: Energieaufnahme bei Frauen	54
Abbildung 12: Hunger bei Frauen und Mädchen	55
Abbildung 13: Hunger bei Männern und Jungen	56
Abbildung 14: Kognitive Kontrolle des Essverhaltens bei Frauen und Mädchen	56
Abbildung 15: Kognitive Kontrolle des Essverhaltens bei Männern und Jungen	57
Abbildung 16: Störbarkeit des Essverhaltens bei Frauen und Mädchen	58
Abbildung 17: Störbarkeit des Essverhaltens bei Männern und Jungen	59
Abbildung 18: Leptinspiegel bei Frauen	60
Abbildung 19: Leptinspiegel bei Männern	60
Abbildung 20: Körpergewicht und <i>MC4R</i> -Allel	73

Abbildungen im Anhang

Abbildung 21: Silhouetten zur Beurteilung des Körpergewichts	
Abbildung 22: Legende zu den Familienstammbäumen	
Abbildung 23-49: Die Stammbäume der 26 untersuchten Familien	
Abbildung 50: Geschätzte Gewichtsverläufe	
Abbildung 51: Gewichtsverläufe in der Kindheit: Jungen mit <i>MC4R</i> -Mutationen (nicht relevante Mutation)	

Abbildung 52: Gewichtsverläufe in der Kindheit:

Nicht übergewichtige Jungen (Wildtyp-Träger)

Abbildung 53: Gewichtsverläufe in der Kindheit:

Mädchen mit *MC4R*-Mutationen (totaler Funktionsverlust)

Abbildung 54: Gewichtsverläufe in der Kindheit:

Mädchen mit *MC4R*-Mutationen (reduzierte Funktion)

Abbildung 55: Gewichtsverlauf in der Kindheit:

Mädchen mit *MC4R*-Mutationen (nicht relevante Mutation)

Abbildung 56: Gewichtsverläufe in der Kindheit:

Übergewichtige Mädchen (Wildtyp-Träger)

Abbildung 57: Gewichtsverläufe in der Kindheit:

Nicht übergewichtige Mädchen (Wildtyp-Träger)

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1: Anorexigene und Orexigene	8
Tabelle 2: Lokalisation, Liganden und Funktion der Melanokortinrezeptoren	10
Tabelle 3: Mutationen, die Aufschluss über das melanokortinerge System geben	15
Tabelle 4: <i>MC4R</i> -Mutationen nach funktioneller Bedeutung	21-23
Tabelle 5: Ergebnisse der genetischen Untersuchung	39
Tabelle 6: Funktionelle Einteilung der <i>MC4R</i> -Mutationen	39
Tabelle 7: BMI-SDS-Werte der Mutationsträger und der Wildtyp-Träger	43
Tabelle 8: BMI-SDS-Werte aller Mutationsträger: Geschlechtervergleich	44
Tabelle 9: BMI-SDS-Werte der Indexpatienten: Geschlechtervergleich	45
Tabelle 10: BMI-SDS-Werte der Mutationsträger ohne Indexpatienten: Geschlechtervergleich	45
Tabelle 11: Maximale BMI-SDS-Werte der Wildtyp-Träger	46
Tabelle 12: Körpergrößen	51
Tabelle 13: Genotyp und phänotypische Daten der Probanden	im Anhang

1 Die Bedeutung des melanokortinergen Systems für die Gewichtsregulation

Eine erbliche Komponente des Übergewichts konnte durch Tiermodelle wie auch Zwillings-, Adoptions- und Familienstudien in der Vergangenheit belegt werden. Zur Regulation des Körpergewichts werden Energieaufnahme und Energieverbrauch langfristig durch komplexe, vernetzte und genetisch fixierte Regelkreise fein aufeinander abgestimmt. Wie das massive Übergewicht bei Menschen mit Mutationen im Leptin-Gen eindrucksvoll zeigt, können Veränderungen in den Komponenten dieser Regelkreise Einfluss auf das Körpergewicht eines Individuums nehmen (Montague et al., 1997; Strobel et al., 1998).

Ausgehend von Familienuntersuchungen wird in der vorliegenden Arbeit der Stellenwert eines aufgrund verschiedener Mutationen veränderten Rezeptors hinsichtlich der Entstehung von Übergewicht beim Menschen beleuchtet. Es handelt sich bei diesem Rezeptor um den Melanokortin-4-Rezeptor (MC4R), der im Gehirn insbesondere im Hypothalamus gefunden wird. Der Hypothalamus ist maßgeblich an der zentralen Gewichtsregulation beteiligt.

Im einleitenden Teil wird das melanokortinerge System im Hinblick auf die Regulation des Körpergewichts beschrieben und der Stand der Forschung bezüglich der 38 bisher bekannten nichtsynonymen Mutationen im *MC4R*-Gen beim Menschen zusammengetragen.

1.1 Neurohumorale Regulation des Körpergewichts

Das Körpergewicht ist das Ergebnis einer langfristigen Bilanzierung von Energiezufuhr in Form von Nahrung einerseits und Energieverbrauch andererseits. Die Erfahrung, dass das Körpergewicht eines Individuums über lange Zeiträume konstant gehalten wird, führte zu der Annahme vernetzter Regelkreise. Tatsächlich finden sich sowohl Kerngebiete im Hypothalamus als auch zahlreiche Hormone und Neurotransmitter, die an der Gewichtsregulation beteiligt sind. Bei den humoralen Faktoren unterscheidet man zwischen den Anorexigenen, die Nahrungsaufnahme hemmenden Substanzen, und den Orexigenen, die den Appetit steigern (Tabelle 1). Einige dieser Botenstoffe wirken auch auf den Energieverbrauch. Unter den Kerngebieten des Hypothalamus kommt dem Nucleus arcuatus eine übergeordnete Bedeutung hinsichtlich der Gewichtsregulation zu: Auf Stimulation durch Insulin bzw. Leptin exprimieren dort lokalisierte Neurone Proopiomelanocortin (POMC) bzw. Kokain- und Amphetamin-reguliertes Transkript (CART); diese Botenstoffe entfalten über nachgeschaltete Neurone des Nucleus paraventricularis ihre anorexigene Wirkung. Gleichzeitig wird durch

Anorexigene	Orexigene
Leptin	Neuropeptid Y
Insulin	Agouti-related-Protein
Ziliärer-neurotrophischer-Faktor	Melanin-konzentrierendes Hormon
Cholezystokinin	Orexin A und B
Proinflammatorische Zytokine	Noradrenalin
Amylin	Galanin
α -Melanozyten-stimulierendes Hormon	Opioide (β -Endorphin und Dynorphin)
Serotonin	Gamma-Amino-Buttersäure
Kortikotropin-releasing-Faktor	Somatotropin-freisetzendes Hormon
Glukagon-ähnliches Peptid 1 und 2	Ghrelin
Bombesin	Glukokortikoide
Neurotensin	Syndecan 3
Thyroidea-stimulierendes Hormon	
Kokain-und-Amphetamin-reguliertes Transkript	
Cyclo (His-Pro)	

Table 1: Wichtige Hormone, Neurotransmitter bzw. -peptide, welche die Nahrungsaufnahme hemmen (Anorexigene) bzw. fördern (Orexigene).

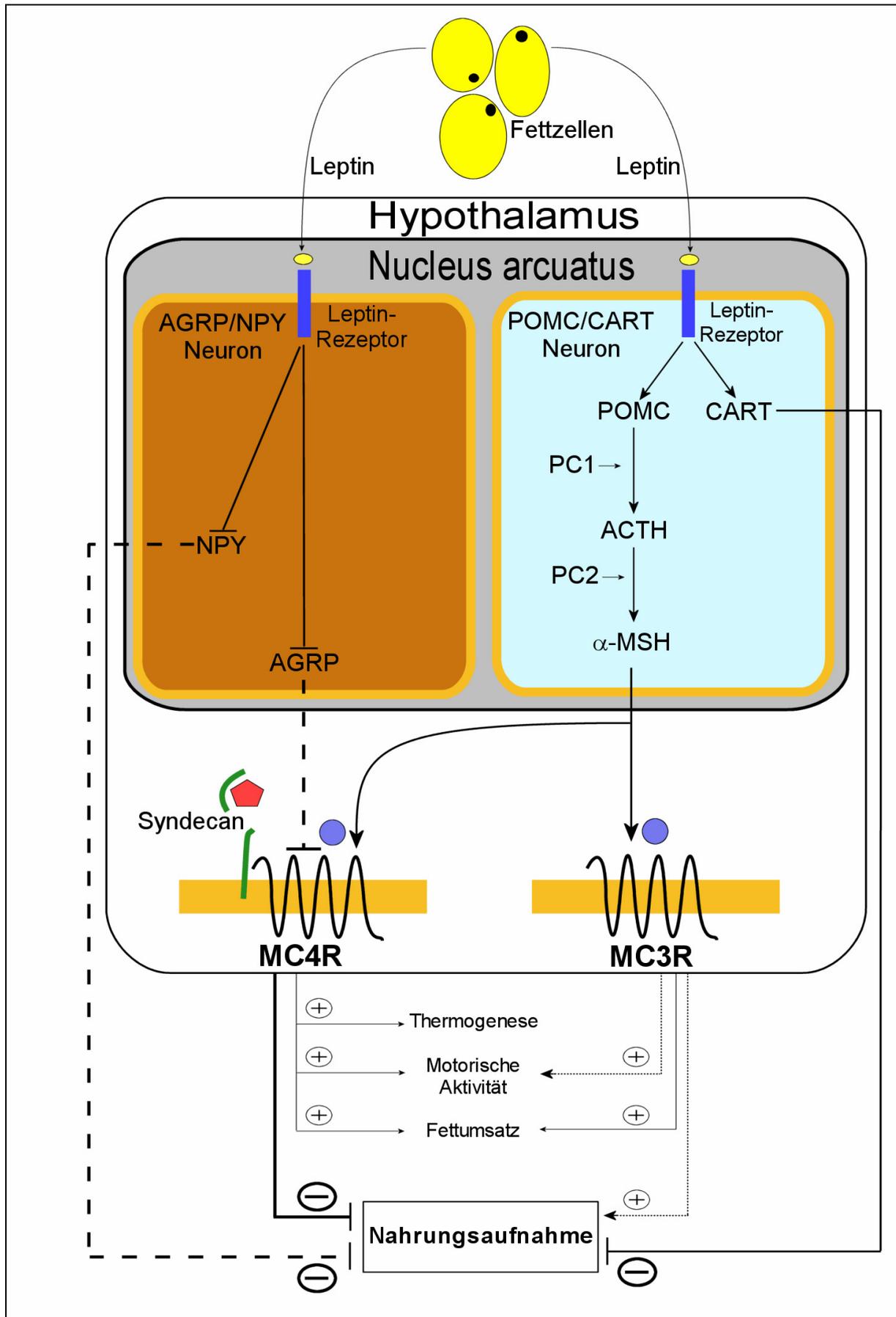
Leptin an ebenfalls im Nucleus arcuatus lokalisierten Neuronen die Ausschüttung der Orexigene Neuropeptid Y (NPY) und Agouti-related-Protein (AGRP) gehemmt (Schwartz et al., 2000). Durch Hochregulation der Anorexigene und/oder Abfall der Orexigene kommt es zu einer Reduktion der Nahrungszufuhr.

1.2 Was fasst man unter dem melanokortinergen System zusammen?

Die für die Gewichtsregulation bedeutsamen Komponenten des melanokortinergen Systems schließen im Wesentlichen den MC4R, den Melanokortin-3-Rezeptor (MC3R) und die agonistischen und antagonistischen Liganden und deren Modulatoren ein (Abbildung 1).

Als Melanokortine bezeichnet man eine Gruppe von Hormonen, die aufgrund ihrer gemeinsamen Herkunft durch Abspaltung aus POMC die übereinstimmende Kernsequenz Histidin - Phenylalanin - Arginin - Tryptophan besitzen. Je nach zellulärer Enzymausstattung entstehen in den jeweiligen Geweben aus dem Prohormon POMC die verschiedenen Melanokortine: Das Adrenokortikotrophe Hormon (ACTH), das α -Melanozyten-stimulierende Hormon (α -MSH), β -MSH und γ -MSH. Der Name „Melanokortine“ rührt von der Beobachtung her, dass diese Hormone einerseits Melanozyten zur Melaninproduktion veranlassen, andererseits aber auch die Cortisolbiosynthese und -ausschüttung in der Nebennierenrinde induzieren.

Spezifische Melanokortinrezeptoren (MCR), die nach der Reihenfolge ihrer Charakterisierung numeriert sind und sich in der Gewebsverteilung und in ihrer Bindungsspezifität unterscheiden, vermitteln die unterschiedlichen Effekte der Melanokortine (Tabelle 2).



Einleitung: Die Bedeutung des melanokortinergen Systems für die Gewichtsregulation

Abbildung 1: Schematische Darstellung des melanokortinergen Systems im Hypothalamus im Zustand der Sättigung. ↓ kennzeichnet aktivierende Systeme, ⊥ steht für Hemmung. Bei den Zielgrößen bedeutet zusätzlich + Steigerung und - Reduktion. CART: Kokain-und-Amphetamin-reguliertes Transkript, α-MSH: α-Melanozyten-stimulierendes Hormon, ACTH: Adrenokortikotropes Hormon, PC Prohormonkonvertase, POMC: Proopiomelanokortin, NPY: Neuropeptid Y, AGRP: Agouti-related-Protein, MC4R: Melanokortin-4-Rezeptor, MC3R: Melanokortin-3-Rezeptor.

Die fünf bisher bekannten MCR haben weitreichende Sequenzhomologie. So haben z.B. der MC3R und der MC4R 58% ihrer Aminosäuren gemeinsam (Gantz et al., 1993). Nur diese beiden zentral exprimierten Rezeptoren sind primär für die Gewichtsregulation von Bedeutung.

Melanokortin-Rezeptor	Lokalisation	Agonisten/ Antagonisten einschließlich relative Potenz	Rezeptorfunktion (exemplarisch)	Mutationen und Polymorphismen beim Menschen	Für das Verständnis der Gewichtsregulation nützliche Knockout-Modelle
MC1R	Melanozyten, Zellen des Immunsystems, Endothelzellen, Sertoli-Zellen	Agonisten: α-MSH = ACTH > β-MSH > γ-MSH Antagonist: Agouti	Haut- und Haar-pigmentierung, Immunmodulation	Hohe genetische Variabilität des <i>MC1R</i> , bestimmte Allele assoziiert mit rotem Haar, blassem Hautkolorit und der Neigung zu Melanomen (Palmer et al., 2000)	
MC2R	Nebennierenrinde, Adipozyten	Agonist: ACTH (spezifisch)	Glukokortikoid- und Mineralokortikoidproduktion	Familiäre Glukokortikoid-defizienz durch Mutationen im <i>MC2R</i> (Elias und Clark, 2000)	
MC3R	Hypothalamus, Thalamus, Hippocampus, Amygdala, Cortex, Plazenta, Magen, Dünndarm, Pankreas	Agonisten: α-MSH = β-MSH = γ-MSH = ACTH Antagonist: AGRP	Gewichtsregulation, Einfluss auf Fettverteilung (Kask et al., 2000; Chen et al., 2000a; Chen et al., 2000b) Einfluss auf Herzfrequenz und Blutdruck, Natriurese	Mutationen im <i>MC3R</i> finden sich bei Übergewichtigen wie auch bei normalgewichtigen Kontrollen (Li et al., 2000). Funktionelle Bedeutung derzeit nicht geklärt.	<i>MC3R</i> -Knockout-Mäuse (Butler et al., 2000; Chen et al., 2000a): leichtes Übergewicht; hoher Körperfettanteil
MC4R	Cortex, Thalamus, Hypothalamus, Hirnstamm Nervenendigungen in der Glans Penis	Agonisten: α-MSH = ACTH > β-MSH > γ-MSH Antagonist: AGRP	Appetitregulation, Energieverbrauch Modulation des Sexualverhaltens, insbesondere Verstärkung der Erektion (Van der Ploeg et al., 2002)	<i>MC4R</i> -Mutationen bei 2-3% der extrem adipösen Menschen (Yeo et al., 1998; Vaisse et al., 1998; Gu et al., 1999; Sina et al., 1999; Hinney et al., 1999; Dubern et al., 2001; Mergen et al., 2001; Farooqi et al., 2000; Jacobson et al., 2002; Kobayashi et al., 2002; Miraglia del Guidice et al., 2002)	<i>MC4R</i> -Knockout-Mäuse (Huszar et al., 1997; Chen et al., 2000b): gesteigerte Nahrungsaufnahme, Adipositas, Hyperinsulinismus, bei Männchen Hyperglykämie
MC5R	Exokrine Drüsen, Talgdrüsen, Adipozyten in der Skelettmuskulatur	Agonisten: α-MSH > ACTH = β-MSH > γ-MSH Antagonist: AGRP	Drüsenfunktionen, Produktion von Haarfett, Thermoregulation, Pheromonproduktion		

Tabelle 2: Lokalisation, endogene Liganden und Funktion der Melanokortinrezeptoren.

1.3 Der Melanokortin-4-Rezeptor (MC4R)

Der MC4R besteht aus 332 Aminosäuren und ist auf dem langen Arm des Chromosom 18 kodiert. Dieser Rezeptor ist insbesondere in hypothalamischen Arealen zu finden, die an der Gewichtsregulation beteiligt sind (Gantz et al., 1993). Wie alle MCR ist der MC4R ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor mit sieben Transmembrandomänen (Abbildung 2).

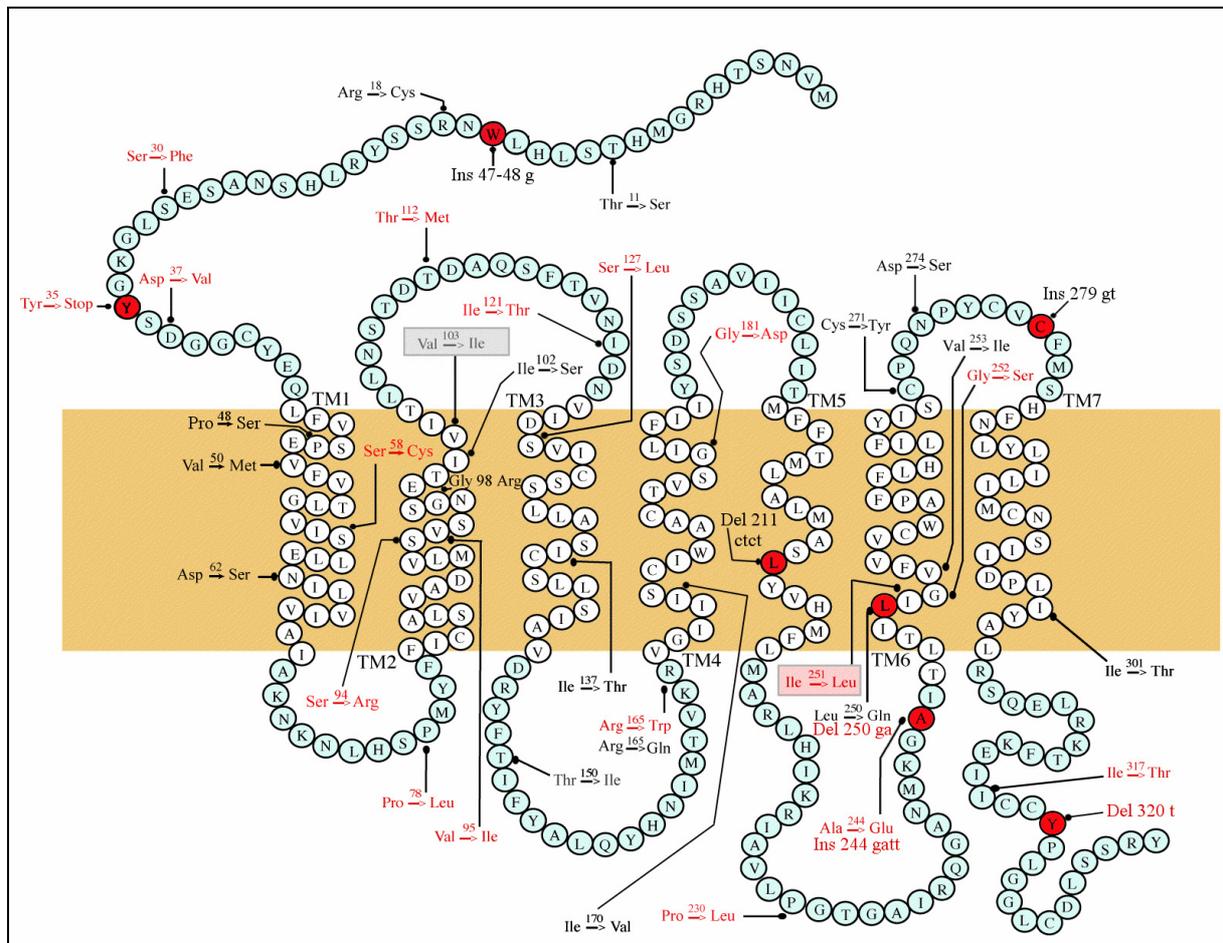


Abbildung 2: Struktur des menschlichen MC4R und alle 38 bisher bekannten nicht-konservativen Mutationen, die mit Übergewicht einher gehen sowie die beiden Polymorphismen: Der Rezeptor, ein Protein aus 322 Aminosäuren bildet sieben transmembranäre Domänen. Die Buchstaben in den Kreisen symbolisieren die einzelnen Aminosäuren: A = Alanin, C = Cystein, D = Asparaginsäure, E = Glutaminsäure, F = Phenylalanin, G = Glycin, H = Histidin, I = Isoleucin, K = Lysin, L = Leucin, M = Methionin, N = Asparagin, P = Prolin, Q = Glutamin, R = Arginin, S = Serin, T = Threonin, V = Valin, W = Tryptophan, Y = Tyrosin.

Missense-Mutationen sind gekennzeichnet durch die Wildtyp-Aminosäure vor dem Pfeil und die bei der Mutation veränderte Aminosäure nach dem Pfeil. Ala = Alanin, Arg = Arginin, Asp = Asparaginsäure, Cys = Cystein, Gln = Glutamin, Glu = Glutaminsäure, Gly = Glycin, Ile = Isoleucin, Leu = Leucin, Met = Methionin, Ser = Serin, Thr = Threonin, Trp = Tryptophan, Tyr = Tyrosin, Phe = Phenylalanin, Pro = Prolin, Val = Valin. Die Nummer gibt die Position der Aminosäure im Peptidgerüst des Rezeptors an. Die beiden Polymorphismen sind mit einem grauen Kasten gekennzeichnet. Rastermutationen sind als rot unterlegte Kreise gekennzeichnet. Del = Deletion, Ins = Insertion. Die einzige bekannte Nonsense-Mutation Tyr 35 Stop ist ebenfalls rot markiert.

Kleinbuchstaben kennzeichnen die bei Deletionen und Insertionen betroffenen Nucleoside: a = Adenosin, c = Cytidin, g = Guanosin, t = Thyminid.

Liganden des MC4R werden nach ihrer Fähigkeit, die Bildung des Second messengers zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) zu induzieren bzw. zu inhibieren, in Agonisten und Antagonisten eingeteilt.

Agonisten: Zwar binden auch ACTH, β -MSH und γ -MSH am MC4R, jedoch ist α -MSH der unter physiologischen Bedingungen bedeutsamste Ligand.

Antagonist: Die Wirkung von α -MSH am MC4R kann durch AGRP, ein orexigenes Protein aus 132 Aminosäuren, gehemmt werden.

Modulatoren: Die Wirkung von AGRP am MC4R wird durch ein an der Zelloberfläche gebundenes Heparansulfatproteoglykan verstärkt: Nach gegenwärtiger Modellvorstellung bindet Syndecan 3 AGRP am MC4R und verhindert so eine Abdiffusion dieses antagonistischen Liganden bzw. verhindert eine Bindung des α -MSH und verstärkt so das AGRP-Signal. Eine weitere Annahme besagt, dass im Sättigungszustand des Organismus Syndecan 3 von der Zelloberfläche abgespalten wird und somit den MC4R wieder für agonistische Liganden frei gibt (Reizes et al., 2001) (Abbildung 1).

Wie Syndecan greift auch das Genprodukt des Mahogany-Lokus in das Gleichgewicht von Antagonismus und Agonismus am MC4R ein. Das Wildtyp-Mahogany-Genprodukt könnte ein Rezeptor mit geringer Affinität sein, der AGRP am MC1R und MC4R hält und so die α -MSH-Wirkung reduziert. Alternativ könnte das Wildtyp-Mahogany-Genprodukt α -MSH spalten, so dass das Verhältnis in Richtung Antagonist verschoben wäre (Nagle et al., 1999).

1.4 Das melanokortinerge System beeinflusst Nahrungsaufnahme und Energieverbrauch

Die Feinregulation des Körpergewichts resultiert unter anderem aus einem Wechselspiel zwischen MC4R-Agonismus und Antagonismus. Hierbei kommt dem in Fettzellen gebildeten Leptin eine übergeordnete Signalfunktion zu: Steigt beispielsweise nach einer Überernährung der Serumleptinspiegel an, so bilden leptinsensitive Neurone des Nucleus arcuatus die Melanokortinvorstufe POMC. Durch Konvertasen entsteht das MC4R-agonistische α -MSH. Ebenso wie Leptin kann auch Insulin das melanokortinerge System anregen (Schwartz et al., 2000).

Bei Überwiegen des Agonisten α -MSH am hypothalamischen MC4R wird die Nahrungszufuhr reduziert. Im Tierversuch wird durch α -MSH-Gabe der Zeitraum vom Beginn der Mahlzeit bis zur Beendigung der Nahrungsaufnahme verkürzt, die Latenz bis zum Beginn der Nahrungsaufnahme nach Darreichung hingegen wird nicht beeinflusst (Vergoni und Bertolini, 2000). Hunger ist unter MC4R-Agonismus somit unverändert, die Sättigung

hingegen tritt früher ein. Neben der Hemmung der Nahrungsaufnahme sorgt MC4R-Agonismus auch für eine Steigerung des Energieverbrauchs, so dass hierdurch ebenfalls einer Gewichtszunahme entgegengewirkt wird (Abbildung 1).

Umgekehrt sind bei leeren Energiedepots - also im Hungerzustand - die Leptinspiegel niedrig, was zu geringer α -MSH-Bildung führt. Zusätzlich fällt die hemmende Wirkung des Leptins auf die NPY/AGRP-Neurone weg, und die jetzt vermehrte AGRP-Expression antagonisiert die ohnehin unter diesen Bedingungen schwache MC4R-Stimulation: Es kommt zu gesteigerter Nahrungsaufnahme und zu Energieeinsparung (Ollmann et al., 1997; Ahima und Flier, 2000).

1.4.1 Rezeptor-Knockout-Modelle

Rezeptor-Knockout-Modelle unterstreichen die Bedeutung des melanokortinergen Systems und veranschaulichen dessen Funktionsweise:

Der Antagonisierung am MC4R durch AGRP entsprechend, führt auch die vollständige Unterbrechung des MC4R-Signalwegs zu Gewichtszunahme: *MC4R*-Knockout-Mäuse (*MC4R*^{-/-}), die keinen MC4R bilden, fressen je nach Studie ca. 15% (Chen et al., 2000b) bzw. 46% (Huszar et al., 1997) mehr als Kontrolltiere und entwickeln eine Adipositas mit Hyperinsulinismus, beim Männchen begleitet von Hyperglykämie. Bei etwa 10% vergrößerter Körperlänge erreichen *MC4R*^{-/-} das doppelte Körpergewicht der Wildtypen. Das Körpergewicht bei den heterozygoten *MC4R*^{+/-} liegt im Durchschnitt zwischen den *MC4R*^{-/-} und den Wildtyp-Mäusen. *MC4R*^{-/-} sind motorisch weniger aktiv (Chen et al., 2000b, St Marie et al., 2000) und haben einen reduzierten Stoffwechsel (St Marie et al., 2000). Uncoupling Protein 1 (UCP 1) ist ein Mittler der Entkopplung der Atmungskette. Bei der Entkopplung entsteht im braunen Fettgewebe Wärme unter hohem Energieverbrauch. Durch Leptingabe lässt sich bei Wildtyp-Mäusen UCP 1 induzieren, bei *MC4R*^{-/-} hingegen kann durch Leptin dieser Mechanismus der „Energieverschwendung“ nicht in Gang gebracht werden (St Marie et al., 2000).

Die leptin-abhängige Aktivierung des melanokortinergen Systems dient der langfristigen Gewichtsregulation. Aber auch die kurzfristige Anpassung des Energiestoffwechsels steht unter melanokortinerner Kontrolle: Beim Wechsel von fettarmem auf fettreiches Futter nehmen Wildtyp-Mäuse zunächst mehr Energie auf, sie reduzieren jedoch innerhalb von 24 Stunden die Nahrungszufuhr. Damit nehmen sie eine ähnliche Gesamtenergie auf wie zuvor bei fettarmer Diät. *MC4R*^{-/-} hingegen sind zu dieser Anpassung nicht in der Lage und führen unter fettreicher Diät deutlich mehr Kalorien zu. Auch die bei Wildtyp-Mäusen unter

fettreicher Diät beobachtete gesteigerte körperliche Aktivität und die kurzfristige Steigerung des Energieverbrauchs sind bei $MC4R^{-/-}$ nicht nachweisbar. Zusätzlich scheinen $MC4R^{-/-}$ Fettsäuren schlechter verbrennen zu können (Butler et al., 2001).

Die Bewertung der vermehrten Nahrungsaufnahme und der metabolischen Effekte ist methodisch schwierig und wird in der Literatur kontrovers diskutiert. So müssen übergewichtige Tiere bereits zur Aufrechterhaltung des Körpergewichts mehr Energie zuführen als schlanke. Insgesamt scheint bei $MC4R^{-/-}$ die vermehrte Energiezufuhr im Vordergrund zu stehen, so dass den metabolischen Effekten eher sekundärer Charakter zukommt (Prof. I. Schmidt, Bad Nauheim, persönliche Mitteilung).

Männliche $MC3R$ -Knockout-Mäuse ($MC3R^{-/-}$) sind hypophag (Chen et al., 2000a). Dennoch sind $MC3R^{-/-}$, wenn auch nur geringfügig, schwerer als die Wildtypen bei deutlich erhöhtem Körperfettanteil. Ein reduzierter Stoffwechsel als Erklärung für die Gewichtszunahme trotz Hypophagie findet sich bei $MC3R^{-/-}$ nicht. Lediglich eine gering verminderte körperliche Aktivität der $MC3R^{-/-}$ könnte für die Gewichtszunahme verantwortlich sein. Als Erklärung für den hohen Körperfettanteil finden Butler et al. (2000) bei $MC3R^{-/-}$ - vergleichbar mit den Daten bei $MC4R^{-/-}$ (Butler et al., 2000) - einen unter fettreicher Diät inadäquat niedrigen respiratorischen Quotienten als Hinweis auf geringe Fettoxidation. Offenbar hat der $MC3R$ nur einen moderaten Effekt auf das Körpergewicht, wohl aber einen deutlichen Effekt auf den Körperfettanteil. Doppelknockout-Mäuse für $MC3R$ und $MC4R$ sind schwerer als Knockouts für jedes der beiden einzelnen Gene (Chen et al., 2000a).

Der Einfluss auf Energiezufuhr und Körpergewicht weiterer Knockout- bzw. transgener Mausmodelle, bei denen Agonisten, Antagonisten oder Modulatoren der α -MSH bzw. AGRP-Bindung eine Rolle spielen, ist in Tabelle 3 dargestellt. Die jeweiligen Phänotypen lassen sich aus der Kenntnis der Funktion der jeweiligen Proteine ableiten.

	Mutation	Mechanismus	Phänotyp
POMC-Knockout-Maus (Yaswen et al., 1999)	Transgen hergestellte Maus	Der Melanokortinvorläufer POMC wird bei Homozygoten nicht gebildet	Gesteigerte Nahrungsaufnahme, Adipositas, gelbliches Fell, gestörte Entwicklung der Nebennierenrinde
Fat/fat-Maus (Naggert et al., 1995)	Spontan vorkommende Mutation im Gen für die Carboxypeptidase E (CPE)	CPE ist Prohormonkonvertase; bei CPE-Defizienz werden Prohormone wie Proinsulin und mutmaßlich auch POMC nicht konvertiert	Adipositas im Erwachsenenalter mit Hyperproinsulinämie
Agouti-Maus (Miltenberger et al., 1997)	Spontan vorkommende Mutation im Promotorbereich des <i>Agouti</i> -Gens	Ektope und permanente <i>Agouti</i> -Expression → Antagonismus am MC1R und MC4R	Autosomal dominant erbliche Adipositas mit gesteigerter Nahrungsaufnahme; gelbes Fell
Maus mit AGRP-Überexpression (Ollmann et al., 1997)	Transgen hergestellte Maus, die humanes AGRP überexprimiert	AGRP wirkt antagonistisch am MC4R (nicht am MC1R)	Adipositas mit gesteigerter Nahrungsaufnahme (wie <i>Agouti</i> -Maus) jedoch normale Fellfarbe
Syndecan 3-Knockout-Maus (Reizes et al., 2001)	Transgen hergestellte Maus, die kein Syndecan 3 exprimiert	Fehlen des Syndecan 3 → AGRP-Signal kann nicht verstärkt werden	Verminderte Nahrungsaufnahme

Tabelle 3: Weitere Mutationen, die Aufschluss geben über die Bedeutung des melanokortinergen Systems für die Gewichtsregulation.

1.5 Pharmakologische Implikationen

Vor dem Hintergrund der unbefriedigenden Langzeiterfolge der konventionellen Adipositasstherapie sind mit dem wachsenden Verständnis komplexer Regelkreise große Hoffnungen gesetzt auf eine effektive Pharmakotherapie. Die physiologische Stimulation des MC4R wirkt über Reduktion der Nahrungsaufnahme und über gesteigerten Energieverbrauch einer Gewichtszunahme entgegen. Synthetische MCR-Liganden - entstanden meist durch Modifikation des Peptidgerüsts der Melanokortine (Bednarek et al., 1999) - übertreffen die natürlichen Melanokortine bezüglich Potenz und Selektivität. Bei Melanotan II (MTII), NDP- α -MSH und Desacetyl-MSH handelt es sich um MC4R-Agonisten, während SHU9119, HS014, HS024 und HS028 antagonistisch am MC4R wirken (Clapham et al., 2001). Melanokortine und Analoga wurden bisher beim Versuchstier sowohl zentral, d.h. z.B. in die Hirnventrikel, als auch peripher, z.B. intraperitoneal, verabreicht. Nicht-Peptidsubstanzen, wie z.B. agonistisch wirkende Spiropiperidinderivate, könnten in Zukunft eine orale Verabreichung ermöglichen (Adan und Gispen 2000; Clapham et al., 2001).

1.5.1 Perspektiven für die Behandlung von Übergewicht mit MC4R-Agonisten

Eine intraventrikuläre Einmalgabe von MTII bewirkt eine Hemmung der Nahrungsaufnahme bei hungrigen Mäusen (Fan et al., 1997). Bei gleichzeitiger Gabe von MTII und dem Antagonisten SUH9119 heben sich die anorexigenen und die orexigenen Effekte gegenseitig auf. Die tägliche intraperitoneale Gabe eines α -MSH-Analogen bewirkt bei *POMC*-Knockout-Mäusen innerhalb von zwei Wochen eine Reduktion des Übergewichts um 48% bei reduzierter Nahrungsaufnahme, bei Wildtyp-Mäusen dagegen wurde kein anorexigener Effekt des MSH-Analogen beobachtet (Yaswen et al., 1999). Dies lässt vermuten, dass die Substitution von α -MSH-Analoga nur im Zustand einer niedrigen oder fehlenden endogenen MC4R-Stimulation bzw. beim Überwiegen des Antagonistonus starke Effekte entfalten kann.

Ein gutes Modell für die allgemeine Adipositas des Menschen sind Mäuse, die nach fettreicher Diät übergewichtig werden. Verabreicht man solchen Mäusen MTII intraperitoneal, kommt es zu einer erheblichen Reduktion der Nahrungszufuhr, parallel dazu verlieren die Tiere ca. 13% Gewicht (Pierroz et al., 2002). Trotz der ab dem fünften Behandlungstag wieder zunehmenden Nahrungsaufnahme hielten die Tiere das Gewicht auf niedrigerem Niveau. Nach dem Absetzen von MTII jedoch wurden die Tiere hyperphag und nahmen an Gewicht zu. Die Effekte von zentral verabreichtem MTII auf Nahrungsaufnahme und Energieverbrauch sind unter fettreicher Diät langandauernder als bei fettarmer Diät.

Die Wirkungen der Melanokortine sind vielfältig (Tabelle 2). Daher verwundert es nicht, dass die subkutane MTII-Gabe Männern mit erektiler Dysfunktion eine höhere Erektionshäufigkeit, längere Erektionsdauer und eine Steigerung des sexuellen Verlangens beschert (Wessells et al., 2000). Eine Steigerung sexueller Aktivität und insbesondere der Potenz nach Gabe von MC4R-Agonisten konnte zwischenzeitlich auch bei Mäusen gezeigt werden, außerdem wurden in afferenten Nervenzellen in der Glans Penis beim Menschen MC4R nachgewiesen, die diese Effekte teilweise erklären (Van der Ploeg et al., 2002).

Die intranasale Gabe von MSH/ACTH₄₋₁₀ über sechs Wochen bewirkte im Vergleich zur Placebogruppe bei schlanken Probanden einen durchschnittlichen Verlust von 0,79 kg Körpermasse und einem Verlust von 1,68 kg Körperfett bei Zunahme der fettfreien Körpermasse (Fehm et al., 2001). Tatsächlich konnte nach intranasaler Applikation α -MSH beim Menschen im Liquor gemessen werden (Born et al., 2002).

Trotz der erfreulichen Effekte der MC4R-Agonisten auf das Gewicht, steht der Beweis einer langfristigen gewichtsreduzierenden Wirkung noch aus. Unter der Annahme eines Gleichgewichts von Agonisten und Antagonisten am MC4R ist nicht nur der Einsatz von Agonisten, sondern auch die Blockade des antagonistischen AGRP für die Behandlung von Übergewicht denkbar.

1.5.2 Perspektiven für die Behandlung von Kachexie mit MC4R-Antagonisten

Nicht nur Übergewicht und die Folgestörungen, sondern auch ungewollter Gewichtsverlust, sei es z.B. im Rahmen von entzündlichen Erkrankungen, Infektionskrankheiten oder malignen Erkrankungen, stellt ein ernstes medizinisches Problem dar; das Ausmaß der Kachexie bestimmt in vielen Fällen entscheidend die Lebensqualität und -dauer.

Tierexperimentelle Befunde an Modellen der akuten und chronischen Kachexie zeigen die Rolle des melanokortinergen Systems bei der krankheitsbedingten Kachexieentstehung auf und implizieren hier vielversprechende Therapieoptionen:

Lipopolysaccharid (LPS) aus der Zellwand gramnegativer Bakterien induziert zahlreiche Entzündungsreaktionen wie auch Kachexie bei der Ratte. Die zentrale Gabe von α -MSH verstärkt die durch LPS ausgelöste anorexigene Wirkung, wohingegen die febrile Reaktion gebremst wird. Mit der zentralen Verabreichung des α -MSH-Antagonisten SUH9119 konnte der anorexigene Effekt aufgehoben werden, allerdings für den Preis eines weiteren Fieberanstiegs (Huang et al., 1999). Auch zentral verabreichtes AGRP verhindert Anorexie und Gewichtsverlust unter LPS-Gabe, wohingegen $MC4R^{-/-}$ trotz LPS sogar an Gewicht zunehmen können (Marks et al., 2001).

Zentrale AGRP-Gabe führt bei Ratten, die nach Implantation eines Sarkoms unter Appetitverlust leiden, anfänglich zu einer Normalisierung der Nahrungsaufnahme. Im weiteren Verlauf lässt sich dann die Nahrungsmenge nicht auf dem Ausgangsniveau vor Einsetzen der Anorexie halten. Jedoch kann die Anorexie verhindert werden, wenn den Tieren nach der Tumorumplantation präventiv AGRP verabreicht wird. SUH9119 hebt die Kachexie bei Ratten mit einem Adenokarzinom der Prostata komplett auf (Wisse et al., 2001). $MC4R^{-/-}$ mit einem Adenokarzinom verlieren kein Gewicht, während Wildtyp-Tiere mit dem gleichen Tumor Kachexie entwickeln (Marks et al., 2001).

Viele proinflammatorische Zytokine wie z.B. IL1 β , IL6 und TNF induzieren Kachexie, allerdings hebt die Blockade keines einzelnen dieser Mediatoren durch Antagonisten die Anorexie auf, und auch Knockouts für diese Zytokine werden anorektisch (Wisse et al.,

2001). Möglicherweise ist das melanokortinerge System die funktionelle Endstrecke vieler kachexieauslösender Mediatoren.

Geringerer Gewichtsverlust verspricht mehr Lebensqualität für Tumorpatienten und wäre sicherlich als großer Behandlungserfolg zu verbuchen, jedoch ist das Tumorwachstum bei Versuchstieren unter α -MSH-Antagonisten wie auch bei den *MC4R*^{-/-} unbeeinträchtigt (Marks et al., 2001).

Wie spontane Mutationen, transgene Tiermodelle und pharmakologische Untersuchungen zeigen, ist das melanokortinerge System ein zentraler Weg der Gewichtsregulation, der sowohl für die Behandlung von Übergewicht als auch für die Behandlung von Gewichtsverlust interessante Optionen verspricht.

Obwohl bei der Anwendung von MC4R-Agonisten beim Menschen bisher keine gravierenden Nebenwirkungen auftraten (Wessells et al., 2000; Fehm et al., 2001), lassen die vielfältigen Funktionen der Melanokortine unerwünschte Nebenwirkungen erwarten. Die Entwicklung hochselektiver MC4R-Agonisten und Antagonisten könnte mehr Sicherheit gewähren. Die Erfolg versprechenden tierexperimentellen Behandlungsansätze legen die Vermutung nahe, dass die Behandlung mit MC4R-Antagonisten an einer kleinen Gruppe schwerkranker Patienten mit Tumorkachexie rascher zu erproben wäre als die Anwendung von MC4R-Agonisten zur Behandlung der weit verbreiteten Adipositas.

1.6 Das melanokortinerge System: Befunde beim Menschen

1.6.1 Mutationen im *POMC*-Gen

Krude et al. (1998) beschrieben zwei Kinder, die im Säuglingsalter mit Hypoglykämie aufgefallen waren; bei einem der beiden fand sich auch eine Hyponatriämie. Die Kinder hatten helle Haut und rote Haare. Im Alter von wenigen Monaten waren beide bereits extrem adipös. Hypoglykämie und Hyponatriämie konnten auf einen ACTH-Mangel zurückgeführt werden; unter Substitution mit Hydrocortison entwickelten sich die Kinder bis auf die Adipositas normal. Aus dem Wissen um die Bedeutung des α -MSH am hypothalamischen MC4R für die Gewichtsregulation bzw. am MC1R der Melanozyten für die Pigmentierung sowie dem ACTH-Mangel wurde auf einen Defekt im Vorläufer beider Melanokortine, dem POMC, geschlossen. Tatsächlich war das eine Kind homozygoter Träger einer Mutation im *POMC*, das andere compound-heterozygot für zwei Mutationen. Bei *POMC*-Knockout-Mäusen wurden ähnliche Symptome gefunden (Tabelle 3). Während bei dem von Krude et al. (1998) beschriebenen extrem seltenen Syndrom mit frühmanifesten Adipositas bei POMC-

Defizienz durch Mutationen im *POMC*-Gen ein rezessiver Erbgang vorliegt, konnten Challis et al. (2002) kürzlich eine Mutation im *POMC*-Gen mit dominant negativem Effekt nachweisen: Ein Aminosäureaustausch in Position 236 betrifft die Spaltungsstelle zwischen β -MSH und β -Endorphin. Die Prohormonkonvertasen können nicht wirksam werden und es entsteht ein Fusionsprotein, welches an den MC4R bindet, jedoch den Rezeptor nur gering aktiviert und somit am MC4R partialantagonistisch wirkt. Die Autoren beschreiben eine Kosegregation der Mutation im heterozygoten Zustand mit frühmanifeste Adipositas ohne weitere phänotypische Auffälligkeiten.

1.6.2 Mutation im *Prohormonkonvertase-1*-Gen (*PC 1*)

Auch eine Störung der Prozessierung des POMC durch die PC 1 ist bekannt: Jackson et al. (1997) beschrieben eine für eine Mutation im Gen der *PC 1* compound-heterozygote Frau, die bereits im Kindesalter unter Übergewicht litt. Außerdem fielen Hypoglykämien, Hypocortisolismus und ein hypogonadotroper Hypogonadismus auf. Die Patientin hatte hohe POMC- und Proinsulinspiegel. Ihre heterozygoten Kinder waren klinisch unauffällig.

1.6.3 Polymorphismus im *AGRP*-Gen

AGRP ist ein Antagonist des α -MSH am MC4R mit orexigener Wirkung. In einer rezenten Studie konnte gezeigt werden, dass ein Single-Nucleotid-Polymorphismus, der zum Austausch der Aminosäure Alanin gegen Threonin in Position 67 des AGRP führt, in mittleren Jahren mit größerer Fettmasse assoziiert ist. Bei jungen Erwachsenen fand sich dieser Zusammenhang nicht (Argyropoulos et al., 2002).

1.6.4 Mutationen im *Melanokortin-4-Rezeptor*-Gen

Nachdem für die *MC4R*^{-/-}-Maus die Bedeutung des MC4R hinsichtlich des Phänotyps der extremen Adipositas belegt worden war (Huszar et al., 1997), begann die Suche nach Mutationen im menschlichen *MC4R*: Durch systematische Mutationssuche bei extrem übergewichtigen Menschen fanden internationale Forschergruppen bislang 38 unterschiedliche Mutationen im translatierten Bereich des *MC4R* (Yeo et al., 1998; Vaisse et al., 1998; Gu et al., 1999; Sina et al., 1999; Hinney et al., 1999; Farooqi et al., 2000; Vaisse et al., 2000; Dubern et al., 2001; Mergen et al., 2001; Jacobson et al., 2002; Kobayashi et al., 2002; Miraglia Del Guidice et al., 2002; Hinney, unveröffentlichte Daten). Die Entdeckung der *MC4R*-Mutationen beim Menschen stellt einen Durchbruch der molekularen Adipositasforschung dar, handelt es sich doch bei allen zuvor aufgeklärten monogenen Formen der

Adipositas des Menschen wie der Leptindefizienz (Montague et al., 1997), dem Defekt des Leptinrezeptors (Clement et al., 1998), der POMC-Defizienz (Krude et al., 1998) und der Mutation im *PC-1*-Gen (Jackson et al., 1997) wie auch beim Prader-Willi-Syndrom und dem Bardet-Biedel-Syndrom um syndromale Formen der Adipositas, die im Gegensatz zur allgemeinen Adipositas sehr selten vorkommen bzw. gar Einzelfallberichten entstammen und mit zusätzlichen phänotypischen Auffälligkeiten einhergehen. Bei den bisher gefundenen menschlichen *MC4R*-Mutationen handelt es sich um 31 Missense-Mutationen, bei denen es zum Austausch einer einzigen Aminosäure kommt, sechs Frameshift-Mutationen, bei denen durch Einschub oder Wegfall von Basen eine Verschiebung des Leserasters resultiert und um eine Nonsense-Mutation, bei der durch Basenaustausch ein Stop-Codon resultiert. Diese Mutationen finden sich bei 2-4% der extrem übergewichtigen Personen. Bei Normalgewichtigen kommen diese Mutationen extrem selten vor. Jedoch finden sich bei Normalgewichtigen wie auch bei Übergewichtigen mit einer Frequenz von ca. 1-2 % zwei Missense-Mutationen, sogenannte Polymorphismen (Hinney, unveröffentlichte Daten) (Tabelle 4).

Funktionelle Charakterisierung der *MC4R*-Mutationen

1. Mutationen mit Totalverlust der Rezeptorfunktion

Mutation	Zusätzliche Bemerkungen	Literatur
Ins g 16 (Ins g 47-48)	Abbruch der Synthese durch Stopcodon in Position 28 in Folge des Rasterschubs. Index: BMI 41 kg/m ² ; drei weitere heterozygote Mutationsträger in der Familie sind nicht übergewichtig.	Vaisse et al., 2000
Tyr 35 Stop/Asp 37 Val (c 106 a/a 110 t)*	Abbruch der Synthese in Position 35; Mutation liegt als Haplotyp mit Asp 37 Val vor	Hinney et al., 1999; Sina et al., 1999
Del c 57 (Del c 171)	Abbruch der Synthese in Position 64 durch ein Stopcodon in Folge des Rasterschubs. Diese Variante, die sich bislang bei einer adipösen Frau fand, ist bisher nicht funktionell getestet; jedoch wird ein kompletter Funktionsverlust angenommen	Jacobson et al., 2002
Ser 94 Arg (c 281 g)*		Hinney et al., unveröffentlichte Daten
Val 95 Ile (g 283 a)*		Hinney et al., unveröffentlichte Daten
Gly 98 Arg (g 292 a)	Homozygote extrem übergewichtige Mutationsträgerin; auch heterozygote Eltern übergewichtig	Kobayashi et al., 2002
Gly 181 Asp (g 542 a)*		Hinney et al., unveröffentlichte Daten
Del ctct 211/212* (Del ctct 631-634)	Ab Position 211 werden 5 fehlerhafte Aminosäuren gebildet, dann folgt ein Stopcodon. Rezeptor kann nicht in die Membran eingebaut werden	Yeo et al., 1998; Ho et al., 1999; Hinney et al., 1999; Sina et al., 1999; Farooqi et al., 2000; Hinney et al., unveröffentlichte Daten
Ins gatt 244 (Ins gatt 732-733)	Rezeptor kann nicht in die Membran eingebaut werden	Vaisse et al., 1998; Ho et al., 1999; Vaisse et al., 2000
Del ga 250/251 (Del ga 750-751)*		Hinney et al., unveröffentlichte Daten
Cys 271 Tyr		Farooqi et al., 2000
Ins gt 279		Farooqi et al., 2000

2. Mutationen mit reduzierter Funktion des Rezeptors

Mutation	Zusätzliche Bemerkungen	Literatur
Asp 62 Ser	5 homozygote extrem übergewichtige Mutationsträger in konsanguiner Familie; keine extreme Adipositas bei Heterozygoten	Farooqi et al., 2000
Pro 78 Leu (c 233 t)*		Hinney et al., 1999; Hinney et al, unveröffentlichte Daten
Ile 121 Thr (t 362 c)*		Hinney et al, unveröffentlichte Daten
Ser 127 Leu (c 380 t)*		Hinney et al, unveröffentlichte Daten
Ile 137 Thr (t 411 c)		Gu et al., 1999
Thr 150 Ile		Vaisse et al., 2000
Arg 165 Trp (c 493 t)*		Hinney et al., 1999; Vaisse et al., 2000
Ile 170 Val		Vaisse et al. 2000; Dubern et al., 2001
Ala 244 Glu *		Hinney et al. unveröffentlichte Daten
Ile 301 Thr		Vaisse et al., 2000
Del t 320 (Del t 960)*		Hinney et al., unveröffentlichte Daten

3. Mutationen ohne funktionelle Beeinträchtigung

Mutation	Zusätzliche Bemerkungen	Literatur
Thr 11 Ser		Vaisse et al., 2000
Arg 18 Cys		Vaisse et al., 2000
Ser 30 Phe (c 89 t)*		Hinney et al., 1999; Hinney et al. unveröffentlichte Daten
Thr 112 Met (c 335 t)*		Gu et al., 1999; Hinney et al., 1999
Gly 252 Ser (g 754 a)*		Hinney et al., 1999; Hinney et al. unveröffentlichte Daten
Ile 317 Thr (t 950 c)*		Hinney et al., 1999; Hinney et al. unveröffentlichte Daten

4. Mutationen mit derzeit noch unklarer Funktion

Mutation	Zusätzliche Bemerkungen	Literatur
Pro 48 Ser (c 142 t)		Miraglia del Giudice et al., 2002
Val 50 Met		Dubern et al., 2001
Ser 58 Cys (a 171 t)		Dubern et al., 2001
Ile 102 Ser (t 305 g)		Dubern et al., 2001
Arg 165 Gln		Farooqi et al., 2000
Pro 230 Leu (c 689 t)*	Mutation bedingt konstitutiv aktiven Rezeptor	Hinney et al., unveröffentlichte Daten
Leu 250 Gln	Mutation bedingt konstitutiv aktiven Rezeptor mit erhöhter Affinität zu α -MSH	Vaisse et al., 2000
Val 253 Ile		Farooqi et al., 2000
Asp 274 Ser (a 821 g)		Mergen et al., 2001

5. Polymorphismen

Mutation	Zusätzliche Bemerkungen	Literatur
Val 103 Ile (a 307 g)*	keine Beeinträchtigung der Funktion	Gotoda et al., 1997; Ho et al. 1999; Hinney et al., 1999; Ohshiro et al. 1999; Vaisse et al., 2000; Dubern et al., 2001
Ile 251 Leu (a 751 c)*	keine Beeinträchtigung der Funktion	Hinney et al., 1999; Gu et al., 1999; Vaisse et al., 2000; Dubern et al., 2001

Table 4: Einteilung der Mutationen nach funktioneller Bedeutung. Die mit Stern (*) gekennzeichneten Mutationen sowie die beiden Polymorphismen fanden sich bei den in dieser Arbeit untersuchten Familien.

Bei den *MC4R*-Knockout-Mäusen (Huszar et al., 1997; Chen et al., 2000b) findet sich für den Phänotyp Adipositas ein semidominanter Erbgang mit intermediärem Phänotyp der Hemizygoten, wobei das Manifestationsalter der Adipositas mit ca. sieben Wochen im adulten Stadium liegt. Die Knockout-Tiere fressen außerdem mehr und sind größer als die Wildtyp-Tiere. Die Wirkung des *MC4R*-Knockouts auf das Körpergewicht ist zumindest bei den von Huszar et al. (1997) untersuchten Tieren beim weiblichen Geschlecht stärker ausgeprägt. Laborchemisch findet sich bei den Knockouts eine Hyperinsulinämie, bei Männchen zusätzlich eine Hyperglykämie.

Beim Menschen wurden vereinzelt phänotypische Auffälligkeiten neben der Adipositas bei *MC4R*-Mutationsträgern berichtet, so z.B. ein beschleunigtes Längenwachstum, gegenüber den Wildtyp-Personen aus den Familien höhere Körpergrößen und eine gegenüber altersadaptierten Referenzdaten erhöhte Knochendichte bei den übergewichtigen Trägern der Mutationen Del ctct 211/212, Ins gt 279, Cys 271 Tyr und bei homozygoten Asp 62 Ser Mutationsträgern (Farooqi et al., 2000). Eine gegenüber der Altersnorm erhöhte

Knochendichte findet sich auch bei einer homozygoten Trägerin der Mutation Gly 98 Arg (Kobayashi et al., 2002). Auch bei übergewichtigen Personen mit Leptindefizienz fand man eine beschleunigte Knochenreifung (Farooqi et al., 1999). Die von Farooqi et al. (2000) bei *MC4R*-Mutationsträgern berichtete beschleunigte Knochenreifung geht nach Ansicht der Autoren über die bei übergewichtigen Menschen generell beschleunigte Knochenreife hinaus. *MC4R*-Mutationen könnten für Essstörungen prädisponieren: Bei einer Mutationsträgerin aus den untersuchten Familienstammbäumen fand sich eine Binge-Eating Störung (Sina et al., 1999) und bei einer Untersuchung von Patientinnen mit Bulimia nervosa war eine *MC4R*-Mutation nachweisbar (Hebebrand et al., 2002). Der bei *MC4R*-Mutationsträgern vermehrte Appetit könnte für Fressattacken prädisponieren und die Gegenregulation bei bestehender Adipositas könnte die Entstehung einer Bulimia nervosa begünstigen.

Einheitliche Begleitsymptome neben der meist im Kindesalter beginnenden Adipositas (Vaisse et al., 1998; Yeo et al., 1998; Farooqi et al., 2000; Vaisse et al., 2000; Kobayashi et al., 2002) - außer dem oft berichteten großen Appetit besonders in der Kindheit und im Jugendalter (Yeo et al., 1998; Farooqi et al., 2000; Mergen et al., 2001; Kobayashi et al., 2002) - sind bei den übergewichtigen Menschen mit *MC4R*-Mutationen nicht beschrieben, so dass bisher von einer monosymptomatischen Form der Adipositas ausgegangen wird, die als Subform der häufigen allgemeinen Adipositas betrachtet werden kann. Auch die Befunde einer vermehrten Nahrungsaufnahme bei *MC4R*-Mutationsträgern können nicht von allen Autoren bestätigt werden (Vaisse et al., 2000; Dubern et al., 2001).

Die Untersuchung von Familienstammbäumen ausgehend von extrem adipösen Indexpatienten deutet auf einen autosomal dominanten Erbgang mit variabler Penetranz des Phänotyps Übergewicht bei *MC4R*-Mutationen hin; in den Familien finden sich einzelne Mutationsträger ohne Adipositas: Unter den bei Sina et al. (1999) aus drei Familien untersuchten neunzehn Haploinsuffizienz-Mutationsträgern findet sich eine Person mit einem BMI auf dem 67. Perzentil. Jedoch war der Proband zu einem früheren Zeitpunkt mit einem BMI-Perzentil von 96 adipös. Keine Adipositas in der Anamnese findet sich bei den heterozygoten beiden Brüdern und der Mutter einer adipösen Frau mit der Haploinsuffizienzmutation Ins g 16 (Vaisse et al., 2000). Eine variable Penetranz des Phänotyps Adipositas findet sich auch bei den *MC4R*^{+/+}-Mäusen (Huszar et al., 1997).

In zwei Familien sind homozygote Mutationsträger beschrieben: Asp 62 Ser wurde im homozygoten Zustand bei fünf extrem übergewichtigen Personen aus zwei Verwandtenehen innerhalb einer Großfamilie gefunden. Die vier heterozygoten Mutationsträger - die Eltern der fünf homozygoten - sind nach Angaben der Autoren nicht adipös, weswegen von einem

rezessivem Erbgang gesprochen wird (Farooqi et al., 2000). Jedoch liegen die BMI-SDS-Werte der heterozygoten Mutationsträger mit 0,68, 1,44, 1,88 und 1,93 tendenziell im oberen Bereich. Unter der Annahme einer Normalverteilung entsprächen diese Werte Prozenträngen von 75, 92, 96 und 97. Demnach könnten drei der heterozygoten als übergewichtig eingestuft werden. Gly 98 Ser fand sich homozygot bei einer extrem übergewichtigen Frau, die heterozygoten Eltern sind ebenfalls übergewichtig (Kobayashi et al., 2002). Obwohl im Falle der Mutation Asp 62 Ser von den Autoren ein rezessiver Erbgang berichtet wird, sind die Befunde aus den beiden Familien mit homozygoten Mutationsträgern mit einem kodominanten Erbgang vereinbar.

Die verschiedenen Mutationen im *MC4R* lassen unterschiedliche Auswirkungen auf Rezeptorfunktion und entsprechend unterschiedliche Effekte auf den Phänotyp erwarten. Wir betrachten lediglich nichtsynonyme Mutationen im translatierten Bereich des *MC4R*. Die Analyse der Wirkung der einzelnen Mutationen im *MC4R* kann nach klinischen Symptomen der bisher bekannten Mutationsträger, nach Art und Lokalisation der Mutation und nach pharmakologisch-funktioneller Charakterisierung erfolgen:

Mutationen, die in ähnlicher Frequenz bei Normalgewichtigen und Übergewichtigen vorkommen, haben mutmaßlich keinen Effekt auf den Phänotyp Adipositas. Dies gilt z.B. für die beiden Polymorphismen Val 103 Ile und Ile 251 Leu, wobei für Val 103 Ile neuerdings sogar über einen protektiven Effekt spekuliert wird (Hinney, unveröffentlichte Daten). Mit Hilfe des Transmissions-Disequilibriums-Tests (Spielman et al., 1993) kann die Bedeutung eines Allels abgeschätzt werden, indem geprüft wird, ob bestimmte Allele von den Eltern auf betroffene, d.h. übergewichtige Kinder überzufällig häufig transmittiert werden.

Rasterschubmutationen mit Veränderung der Aminosäuresequenz im Anschluss an die Mutation sowie Nonsense-Mutationen lassen eine stärkere Funktionsbeeinträchtigung erwarten als Missense-Mutationen, die einen Aminosäureaustausch in einer einzigen Position des Proteins bedingen, und somit möglicherweise die räumliche Struktur des Proteins relativ gering verändern. Die Mutation Tyr 35 Stop beispielsweise führt zu einem Rezeptorprotein, das auf 34 Aminosäuren verkürzt ist. Eine Funktion dieses trunkierten Proteins, das lediglich aus einem Teil der extrazellulären Domäne des Rezeptors besteht, ist kaum vorstellbar (Hinney et al., 1999).

Auch die Position einer Mutation muss berücksichtigt werden: Den verschiedenen Abschnitten des Rezeptors werden unterschiedliche Bedeutung für die Funktion des Rezeptors zugeschrieben. Die extrazellulären, N-terminalen 28 Aminosäuren des *MC4R* sind für die Bindung der Liganden ohne Bedeutung. Fehlen dem Rezeptor jedoch mehr als 28

N-terminale Aminosäuren, so ist eine Ligandenbindung nicht mehr möglich (Schiøth et al., 1997). Ho und MacKenzie (1999) konnten zeigen, dass bei Zerstörung des zytoplasmatischen Ende des Rezeptors, der C-terminalen 27 Aminosäuren, kein Einbau des verkürzten Rezeptormoleküls in die Membran erfolgt. Kürzt man den Rezeptor lediglich um 13 Aminosäuren, so kann der Membraneinbau erfolgen und sowohl Ligandenbindung als auch Signaltransduktion sind unbeeinträchtigt. Demnach kommt den Aminosäuren in Position 306 bis 319 eine Bedeutung für den Einbau des Rezeptors in die Membran zu. Zumindest die Positionen 306, 308, 309 und 310 sind über die Melanokortinrezeptoren 1 bis 4 konserviert (Gantz et al., 1993). Unter den ohne Funktionsverlust deletierbaren 13 C-terminalen und 28 N-terminalen Aminosäuren finden sich keine der 82 über die MC1R, MC2R, MC3R und MC4R konservierten Aminosäuren. Auf der Suche nach der Ligandenbindungsstelle konnte mit Hilfe von Mutageneseexperimenten, bei denen gezielt Positionen mutiert werden, unter 24 untersuchten Positionen in den Positionen 122, 126, 261 und 264 eine jeweils auf ein Fünftel reduzierte Affinität des MC4R für das MSH-Fragment Phe 7 Arg 8 Trp 9 gezeigt werden (Yang et al., 2000).

Nicht zuletzt dienen pharmakologische Untersuchungen der Einschätzung des Schweregrades der Funktionsbeeinträchtigung des Rezeptors durch eine Mutation. Hierbei werden Affinität eines Liganden zum Rezeptor und die Signaltransduktion der jeweiligen Rezeptorvariante untersucht. Für einige Mutationen konnte *in-vitro* gezeigt werden, dass sie zu einem vollständigen Funktionsverlust des MC4R führen (Tabelle 4).

Insgesamt lassen sich a priori keine eindeutigen Aussagen über Rezeptorfunktion der einzelnen Mutationen machen. Die Ergebnisse aus der Zusammenschau der verschiedenen Ansätze sind z.T. widersprüchlich: Die Mutation Del t 320 z.B. betrifft den C-terminalen Bereich, der für den Einbau des Rezeptors in die Membran wie auch für die Signaltransduktion abkömmlich ist. Dennoch zeigt diese Mutation in der pharmakologischen Testung eine reduzierte Funktion (Hinney et al, unveröffentlichte Daten). Drei heterozygote Mutationsträger ohne Adipositas in der Anamnese finden sich bei der Mutation Ins g 16 (Vaisse et al., 2000). Dies ist insofern erstaunlich, als es bei dieser Mutation durch Verschiebung des Leserahmens im Codon 28 zu einem Stopcodon kommt und somit ein extrem verkürztes Rezeptorstück entsteht, welches seine physiologische Funktion nicht erfüllen kann.

Dem autosomal-kodominanten Erbgang bei den *MC4R*-Knockout-Mäusen liegt eine Haploinsuffizienz zu Grunde: Zwei Wildtyp-Allele sind für den Wildtyp-Phänotyp notwendig. Fehlt, wie bei den hemizygoten Knockout-Mäusen ein Allel, so werden

mutmaßlich weniger Rezeptoren gebildet und es kommt zur Ausprägung von Übergewicht. Kodominanz bedeutet, dass die homozygoten Knockouts stärker betroffen sind als die hemizygoten Tiere. Jedoch gilt einschränkend, dass sich die Adipositas nicht bei allen hemizygoten Tieren manifestiert. Daher spricht man von unvollständiger Penetranz.

Wie bei *MC4R*-Knockout-Mäusen wird auch beim Menschen für die Adipositas durch Mutationen im *MC4R* Haploinsuffizienz als Mechanismus angenommen: Bei Funktionsverlust des mutierten Rezeptors verfügt ein heterozygoter Mutationsträger mutmaßlich über eine reduzierte Anzahl funktionsfähiger Rezeptoren. Haploinsuffizienz bedingt einen dominanten Erbgang. Haploinsuffizienz dagegen würde bedeuten, dass bei reduzierter Rezeptorenzahl die Funktion des Systems noch gewährleistet wäre, und der Phänotyp Übergewicht erst bei Mutationen im homozygoten Zustand manifest würde.

Einem autosomal dominantem Erbgang kann auch ein dominant negativer Effekt bei Haploinsuffizienz zu Grunde liegen: Das Genprodukt eines Wildtyp-Allels wäre ausreichend, jedoch stört das mutierte Genprodukt die Funktion des Wildtyp-Geproduktes.

Dies erklärt, dass bei den Mutationen im *POMC*-Gen in zwei Fällen ein rezessiver Erbgang berichtet wird, für eine andere Mutation ein dominanter Erbgang beschrieben wird (Krude et al., 1998; Challis et al., 2002).

Gegen den Mechanismus der Haploinsuffizienz bei *MC4R* wird folgende Untersuchung aufgeführt (Cody et al., 1999): Von 27 Personen mit einer partiellen Deletion des Chromosoms 18q waren 10 hemizygot für *MC4R*, in 17 Fällen schloss die Deletion *MC4R* nicht mit ein. Beim Vergleich der hemizygoten und dizygoten Probanden hinsichtlich der für das Alter korrigierten Gewichte finden die Autoren keinen Hinweis auf höhere Gewichte bei den hemizygoten Personen. Die Autoren kommen zu dem Schluss, das *MC4R* haploinsuffizient sei, und der Adipositas bei *MC4R*-Mutationen ein dominant negativer Effekt zu Grunde liegen müsse. Die geringe Anzahl der untersuchten Personen, vor allem aber das nicht näher beschriebene Alter der Probanden macht diese Schlussfolgerung unzulässig. Die Autoren berichten lediglich, dass die Probanden „über ein Jahr alt“ seien. Wir gehen bei Adipositas durch *MC4R*-Mutationen von einer früh beginnenden Adipositas aus. Das Manifestationsalter der Adipositas bei *MC4R*-Mutationsträgern ist jedoch noch nicht eindeutig beschrieben. Im *MC4R* hemizygoten Personen, die wie in der Untersuchung von Cody et al. „über ein Jahr“ alt sind, könnten durchaus noch vor der Manifestation der Adipositas stehen. Unterschiede hinsichtlich des Gewichtes bei im *MC4R* hemizygoten und dizygoten Menschen sind möglicherweise erst zu einem späteren Zeitpunkt nachweisbar. Zudem weisen die Personen

mit einer partiellen Deletion am 18q einen Verlust von weiteren Genen auf, der als Folge die Entstehung einer Adipositas abmildern bzw. sogar verhindern könnte.

Der Vasopressinrezeptor ist wie der MC4R ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor. Untersuchungen am Vasopressinrezeptor zeigen einen dominant negativen Effekt (Zhu und Wess, 1998): Für mehrere Mutationen konnte gezeigt werden, dass die resultierenden verkürzten Rezeptorproteine bei Coexpression Ligandenbindung, Signaltransduktion und Transport des Wildtyp-Rezeptors stören. Offenbar kommt es auf Grund einer Dimerisierung des Wildtyp-Rezeptors mit der dritten Transmembrandomäne des trunkierten Rezeptors zu einer Störung des Rezeptortransportes. Obwohl für die Klasse der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren Homologien in der Funktion angenommen werden, konnte ein dominant negativer Effekt der Mutationen Del ctct 211/212 und Ins gatt 244 im *MC4R* ausgeschlossen werden (Ho und MacKenzie, 1999). Bisher konnte nicht abschließend geklärt werden, in welchem Umfang sich *MC4R*-Mutationen beim Menschen auf das Körpergewicht auswirken. Wir untersuchten in der vorliegenden Arbeit große Familienstammbäume, um der Frage nach dem Erbgang der Adipositas durch *MC4R*-Mutationen, nach der Penetranz und nach der Expression auf den Grund zu gehen. Außerdem interessierten wir uns für weitere phänotypische Auffälligkeiten, die bei *MC4R*-Mutationsträgern eventuell neben der Adipositas bestehen.

2 Familien, Materialien und Methoden

2.1 Rekrutierung der Familien

In einer ersten Phase wurden übergewichtige Kinder und Jugendliche und zum Teil auch deren Eltern und Geschwister untersucht. Die Probanden wurden vermessen (2.3 anthropometrische Daten), und neben einer ausführlichen Anamnese (2.2 Anamnese und psychologische Variablen) erfolgte eine molekulargenetische Untersuchung auf Mutationen im *MC4R*-Gen (2.4.2 Molekulargenetische Untersuchungen). In einer zweiten Phase wurden in den Familien mit *MC4R*-Mutationen weitere Familienmitglieder für unsere Untersuchung rekrutiert.

Erste Phase:

Im Zeitraum von 1995 bis Mai 2001 wurden 887 extrem adipöse Kinder und Jugendliche (m: 387, w: 500) durch Mitarbeiter der klinischen Forschergruppe in folgenden Einrichtungen untersucht:

- Spessartklinik Bad Orb
- Klinik Hochried, Murnau
- Adipositas-Rehabilitations-Zentrum Insula, Berchtesgaden
- Prinzregent Luitpold Kinderkurklinik, Scheidegg im Allgäu
- Kinderklinik der Universität Gießen

In 520 Fällen konnten beide Eltern in die Untersuchung mit aufgenommen werden. Einschlusskriterium für unsere Untersuchung war eine Adipositas mit einem BMI oberhalb des 95. Perzentsils beim Indexpatienten.

Alle Probanden, bei Minderjährigen zusätzlich deren Eltern, erklärten sich schriftlich mit der Untersuchung einverstanden. Auch einer späteren Kontaktaufnahme stimmten die Probanden zu, falls bedeutsame Ergebnisse in der molekulargenetischen Untersuchung erzielt würden. Eine Zustimmung der Ethikkommission der Universität Marburg liegt vor.

Bei den 887 Familien fanden sich neben den beiden in der Literatur beschriebenen Polymorphismen (Gotoda et al., 1997; Hinney et al., 1999) bei insgesamt 28 Familien 17 verschiedene Mutationen im *MC4R*.

Zweite Phase:

In den Familien mit *MC4R*-Mutationen wurden unabhängig vom Körpergewicht weitere Familienmitglieder phänotypisch und genotypisch untersucht. Der Kontakt zur erweiterten Familie wurde dabei ausschließlich über die in der ersten Phase untersuchte Kernfamilie

hergestellt. Abgesehen von zwei Familien, die zwischenzeitlich verzogen waren, wurden zu diesem Zweck alle Familien, bei denen sich *MC4R*-Mutationen fanden, telefonisch re-kontaktiert. Zwei Familien lehnten zum Zeitpunkt der telefonischen Kontaktaufnahme einen Hausbesuch ab. In den restlichen 24 Familien war es möglich, erweiterte Familienstamm-bäume zu erheben. Insgesamt konnten so 217 Personen in unsere Untersuchung einbezogen werden.

2.2 Anamnese und psychologische Variablen

2.2.1 Semistrukturiertes Interview

Mit Hilfe eines semistrukturierten Interviews (Nicolaus Barth, Heye Coners, Andreas Ziegler und Johannes Hebebrand) wurden Daten zur Gewichtsanamnese, zu organischen Erkrankungen und soziodemografische Daten erfasst.

2.2.2 Fragebogen zum Essverhalten

Der Fragebogen zum Essverhalten von Pudiel und Westenhöfer (1989) wurde allen Probanden ab dem 15. Lebensjahr vor der Untersuchung in der zweiten Phase vorgelegt. Es handelt sich dabei um die deutsche Übersetzung des "Three factor eating questionnaire" von Stunkard und Messick (1985).

Drei grundlegende Dimensionen des menschlichen Essverhaltens werden dabei erfasst:

- kognitive Kontrolle des Essverhaltens
- Störbarkeit des Essverhaltens
- erlebte Hungergefühle

2.2.3 Nahrungsmittel-Häufigkeits-Fragebogen

Um die Energieaufnahme und den mit der Nahrung aufgenommenen Fettanteil abzuschätzen, wurde die von Wolfgang Grassl im Rahmen seiner Promotionsschrift erstellte deutsche Übersetzung des englischen „*Leeds Food and Nutrition Survey*“ von John Blundell aus Leeds verwendet (Cooling und Blundell, 1998; Grassl, 2002). Die Betrachtung eines breiten Spektrums von Nahrungsmitteln mit unterschiedlicher Verteilung der Nahrungsbestandteile ermöglicht es, die Gesamtenergie sowie die ungefähren prozentualen Anteile von Fett, Kohlenhydraten und Proteinen an der Gesamtenergiezufuhr zu ermitteln.

2.3 Anthropometrische Daten

Folgende anthropometrische Daten wurden erhoben:

2.3.1 Body-Mass-Index

Aus Körpergewicht und Körpergröße berechneten wir den Body-Mass-Index (BMI) nach der Formel:

$$BMI \left[\frac{\text{kg}}{\text{m}^2} \right] = \frac{\text{Körpergewicht} [\text{kg}]}{\text{Körpergröße}^2 [\text{m}^2]}$$

Der BMI wurde mit Hilfe der Daten aus der Nationalen Verzehrsstudie (NVS) (Hebebrand et al., 1994) in das alters- und geschlechtspezifische Perzentil transformiert. Der Datensatz der NVS beruht auf Selbstangaben zu Gewicht und Körpergröße von 21.452 Personen im Alter zwischen 10 Jahren und 75 Jahren und wurde im Zeitraum zwischen 1985 und 1989 erhoben. Aus dem eingeschränkten Altersbereich der NVS-Daten waren wir gezwungen, für die Abschätzung der Perzentile der insgesamt 5 Personen im Alter über 75 Jahren aus unserem Kollektiv das Lebensalter mit 75 Jahren gleichzusetzen. Für den von der NVS nicht abgedeckten unteren Altersbereich unter 10 Jahren konnten wir die BMI-Perzentile von Kromeyer-Hauschild et al. (2001) verwenden. Diese Perzentile wurde unter Heranziehung der Daten von ca. 17.000 Jungen und ca. 17.000 Mädchen im Alter von 0-18 Jahren konstruiert, die nach 1985 erhoben wurden. Wir verwendeten diese Perzentile auch für die retrospektiven Berechnungen aus den Daten, die im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen in den „gelben Untersuchungsheften“ vom Kinderarzt dokumentiert waren.

Auch bei den erwachsenen Probanden wurde zusätzlich zu den aktuellen Messdaten aus den retrospektiv erhobenen Körpermaßen das BMI-Perzentil berechnet.

2.3.2 Waist Hip Ratio

Aus Taillen- und Hüftumfang berechneten wir die Waist-Hip-Ratio (WHR).

2.3.3 Bestimmung des Körperfettanteils

Zur Abschätzung des prozentualen Körperfettanteils wurde mittels eines portablen Messgerätes (Bodystat[®] 1500; Bodystat limited, PO Box 50, Isle of Man, British Isles) die bioelektrische Impedanz ermittelt. Mit Hilfe der Formeln nach Segal et al. (1988) berechneten wir aus der gemessenen Impedanz die fettfreie Körpermasse:

Berechnung der fettfreien Körpermasse für Männer:

$$\text{Fettfreie Masse} = 0.00132 * \text{Körpergröße [cm]}^2 - 0.04394 * \text{bioelektrische Impedanz} + 0.3052 * \text{Körpergewicht [kg]} - 0.16760 * \text{Lebensalter [Jahre]} + 22.66827$$

Berechnung der fettfreien Körpermasse für Frauen:

$$\text{Fettfreie Masse} = 0.00108 * \text{Körpergröße [cm]}^2 - 0.02090 * \text{bioelektrische Impedanz} + 0.23199 * \text{Körpergewicht [kg]} - 0,06777 * \text{Lebensalter [Jahre]} + 14.59453$$

Mit der Formel:

$$\text{Körperfettmasse} = \text{Gesamtmasse} - \text{fettfreie Masse}$$

wurde die Körperfettmasse berechnet.

Der Prozentuale Körperfettanteil wurde aus der fettfreien Körpermasse wie folgt berechnet:

$$\text{Körperfettanteil [\%]} = \frac{\text{Körperfettmasse}}{\text{Gesamtkörpermasse}} \times 100$$

2.4 Gewinnung und Auswertung der Proben

Für die molekulargenetische Untersuchung wurde venöses Blut in EDTA KE Monovetten[®] der Firma Sarstedt entnommen. Alternativ erfolgte ein Abstrich der Mundschleimhaut (Abstrichtupfer Plastik Rayon, Artikel-Nr. : 80/1301, Sarstedt).

Für die Leptinbestimmung erfolgte die Abnahme in Sarstedt Serum Gel Monovetten[®].

2.4.1 Leptinbestimmung

Die Messung der Serum-Leptinkonzentrationen erfolgte im Labor von Professor Dr. Werner F. Blum, Universitätsklinikum Gießen.

2.4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Alle molekulargenetischen Untersuchungen wurden im Labor der klinischen Forschergruppe unter der Leitung von Frau Dr. Anke Hinney durchgeführt.

2.4.2.1 Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) ermöglicht die Vervielfältigung definierter DNA-Abschnitte *in-vitro*. Durch Erhitzen wird dabei der Doppelstrang zu Einzelsträngen denaturiert, die dann als Vorlage zur weiteren DNA-Synthese dienen. Oligonukleotide, die an die Vorlage spezifisch binden, sogenannte Primer, werden zur Anlagerung der Polymerasen benötigt. Polymerasen synthetisieren DNA durch Anlagerung von Desoxynucleosidtriphosphaten entsprechend der Vorlage.

Nach Extraktion der DNA aus EDTA-Blut durch die Salzmethode bzw. von den Schleimhautabstrichen über Säulchen (Quiagen, Qamp DNA Mini Kit: 51104) wurde das *MC4R*-Gen mittels PCR amplifiziert. Durch Einsatz von zwei Primerpaaren entstanden bei unserem PCR-Ansatz zwei 615 bzw. 622 Basenpaare umfassende, überlappende Fragmente des *MC4R*.

2.4.2.2 Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse

Für die Untersuchung auf Mutationen mit Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse (single-stranded conformation polymorphism-analysis: SSCP) wurden aus den Fragmenten mittels drei Restriktionsenzymen fünf Fragmente erzeugt. Bei der SSCP macht man sich zu Nutze, dass die abweichende Primärstruktur des DNA-Einzelstranges einer Mutation eine veränderte räumliche Struktur des Einzelstranges bedingt, die bei der Elektrophorese eine veränderte Laufeigenschaft des Einzelstranges im Polyacrylamidgel bewirkt. Mutationen werden so nach Silberfärbung durch das zum Wildtyp unterschiedliche Bandenmuster erkannt. Bei adäquater Fragmentlänge detektiert die SSCP 70-95% der Mutationen, gibt aber keine Information über Position und Art der Mutation. Daher müssen in der SSCP auffällige Proben sequenziert werden.

2.4.2.3 Sequenzierung

Zur Bestimmung der Basenabfolge muss der interessierende Abschnitt als Einzelstrang vorliegen. Der Strang dient als Matrize zur DNA-Synthese. Zusätzlich zu den vier Desoxy-Nucleotidtriphosphaten (dNTP) Desoxy-Adenosintriphosphat, Desoxy-Guanosintriphosphat, Desoxy-Cytosintriphosphat und Desoxy-Thymidintriphosphat sind dem Reaktionsgemisch die vier Didesoxynucleotide (ddNTP) beigefügt. Den ddNTPs fehlt die für die Kettenverlängerung notwendige Hydroxylgruppe am 3'-Kohlenstoffom. Daher kommt es nach Einbau eines ddNTP zum Abbruch der Synthese. Da die Konzentration der ddNTPs im

Reaktionsgemisch wesentlich geringer ist, als die der normalen dNTPs, erfolgt der Einbau der ddNTPs und somit auch der Kettenabbruch in statistischer Verteilung: Es entstehen so Fragmente des interessierenden Stranges aller möglichen Längen, die in einem Polyacrylamidgel elektrophoretisch aufgetrennt werden. Verwendet man im Reaktionsansatz ddNTPs, die spezifisch mit vier Fluorophoren markiert sind, so entspricht die Reihenfolge der Fluoreszenzsignale, die während der Elektrophorese detektiert werden können, der Basenabfolge.

Nach Entdeckung einer Mutation im *MC4R* bei einer Person wurde auch bei Verwandten nach dieser Mutation gesucht. Im ersten Schritt wurde auch hier die SSCP eingesetzt. Bei positivem Befund bedienten wir uns zur Typisierung der Mutation der ARMS-Technik und den Restriktionsenzymen. Der Einsatz dieser ökonomischen Verfahren ist durch die von der Sequenzierung der Indexprobe bekannte Basenabfolge der Mutation möglich.

2.4.2.4 Restriktionsendonukleasen

Restriktionsendonukleasen schneiden DNA-Abschnitte sequenzspezifisch. Bei Auswahl geeigneter Restriktionsendonukleasen werden mutationsspezifische Fragmente erzeugt; der Nachweis der Fragmente erfolgt elektrophoretisch.

2.4.2.5 ARMS Test

Der ARMS-Test (Amplification refractory mutation system) ist eine PCR mit mutationsspezifischen Primern, so dass Vervielfältigung der DNA nur bei Vorliegen der Mutation ablaufen kann. Das Amplifikationsprodukt wird dann elektrophoretisch nachgewiesen.

2.5 Pharmakologische Untersuchungen

Soweit sich die Rezeptorfunktion der einzelnen Mutationen nicht - wie z.B. im Falle eines frühzeitigen Abbruchs der Synthese des Rezeptormoleküls - aus der Rezeptorstruktur unmittelbar ableiten lässt, bzw. soweit die Funktion nicht aus der Literatur bereits bekannt war, wurden die in unserem Kollektiv gefundenen Mutationen im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Marburg unter der Leitung von Herrn Prof. Thomas Gudermann einer funktionellen *In-vitro*-Untersuchung unterzogen. Dabei wurde die Signaltransduktion der Rezeptorvariante geprüft. Nach Stimulation des mutierten Rezeptors mit einem Liganden wurde der als Antwort von der Adenylatzyklase gebildete Second-messenger cAMP quantifiziert. Zu diesem Zweck wurden COS-7 Zellen, die normalerweise

keinen MC4R bilden, mit einer Rezeptorvariante transfiziert. Nach Lyse der transfizierten Zellen erfolgte eine Bestimmung des cAMP ohne vorausgegangene Stimulation (= Basalwert). Außerdem interessierte die maximale cAMP-Antwort (= E_{max}) und die für die halbmaximale Antwort nötige Konzentration des Liganden (= EC_{50}). Als Ergebnis dieser pharmakologischen Untersuchungen konnten die in unserem Kollektiv gefundenen Rezeptorvarianten in drei Gruppen eingeteilt werden: Erstens: Rezeptoren, deren Funktion zumindest unter Heranziehung dieses Tests *in-vitro* unbeeinträchtigt ist. Zweitens: Rezeptoren mit reduzierter Funktion. Drittens: Rezeptorvarianten mit völligem Funktionsverlust (Tabelle 4).

2.6 Statistische Verfahren

2.6.1 Die Stammbäume

Die Dokumentation der Stammbäume erfolgte mit Hilfe des Programms Cyrillic 2.1 (Cherwell Scientific, The Magdalen Centre, Oxford Science Park, Oxford OX4 4GA, Great Britain) in Anlehnung an die Empfehlungen für die Autoren des American Journal of Human Genetics (Bennett et al., 1995). Als „betroffen“ wurden wie für die Berechnungen (siehe unten) alle Personen gewertet, deren BMI jemals über dem 84. Perzentil lag, d.h. es wurden sowohl die aktuellen Messwerte wie auch die retrospektiv erhobenen Gewichte in die Berechnung mit einbezogen. Die Daten aus dem Säuglings- Kleinkind- und Vorschulalter, dokumentiert in den „gelben Untersuchungsheften“, wurden hierbei allerdings nicht berücksichtigt, d.h. Personen die lediglich in dieser frühen Periode übergewichtig waren, wurden als „nicht betroffen“ gewertet. Diese Vorgehensweise hat mehrere Gründe: Erstens liegen uns die Daten aus dieser Periode nur von 36 der 210 untersuchten Personen vor. Zweitens ist die Messung von Gewicht und Körperlänge im Krabbelalter fehleranfälliger als bei Personen, bei denen die Körperhöhe im Stehen gemessen werden kann, so dass Artefakte wahrscheinlicher sind. Drittens, und das ist der entscheidende Punkt, unterliegt das Körpergewicht besonders in den ersten beiden Lebensjahren einer Reihe externer Faktoren, und erst mit ca. 2 Jahren richtet sich das Gewicht nach dem genetisch vorgegebenen Bauplan (Ong et al., 2000). Obwohl wir das Alter unter 6 Jahren für unsere Berechnungen ausschließen, sprechen wir im Weiteren der Einfachheit halber von maximalem Lebenszeit-BMI.

Personen, die wir nicht untersuchen konnten, wurden selbstverständlich nicht in die Berechnungen mit einbezogen, jedoch in den Stammbäumen dokumentiert. Als „betroffen“

wurden dabei diejenigen Personen gekennzeichnet, die von den Angehörigen als Übergewichtig beschrieben wurden. In den meisten Fällen konnten die Personen dazu auf einer Silhouetten-Skala eingestuft werden (Sorensen und Stunkard, 1993). Bulik et al. (2001) ließen Versuchspersonen sich mit Hilfe dieser Skala selbst einschätzen. Entsprechend der Selbsteinschätzung konnten sie den neun Stufen des Silhouetten-Ratings altersspezifische BMI-Bereiche zuordnen. Eine Berücksichtigung des Alters bei der Beurteilung der Silhouette durch die Angehörigen scheidet für unsere Untersuchung aus, da meist das Lebensalter bei maximalem Umfang des zu Beurteilenden nicht genannt werden konnte. Die Stufe sechs übertraf bei beiden Geschlechtern in den meisten Altersstufen deutlich das 84. Perzentil, so dass wir Personen, denen eine größere als die fünfte Silhouette zugeordnet wurde, für die Darstellung in den Stammbäumen als „betroffen“ werteten.

2.6.2 *MC4R*-Mutationsträger: höheres Körpergewicht als die Wildtyp-Träger? Test auf Kopplungsungleichgewicht

Uns interessierte die Frage, ob die Mutationsträger aus den rekrutierten Familien im Mittel ein höheres Körpergewicht aufweisen als die Familienmitglieder ohne *MC4R*-Mutationen.

Dazu verwendeten wir den maximal ermittelten standard deviation score (SDS) für den BMI. Der SDS ist die Abweichung des BMI eines Individuums vom alters- und geschlechtsabhängigen Bevölkerungsdurchschnitt in Vielfachen der Standardabweichung. Wir wählten für den Permutationstest (wie auch in der Darstellung der Stammbäume im Anhang) die BMI-SDS-Werte, da die Perzentile in den Extrembereichen nicht mehr differenzieren. Die Perzentil-Werte der extrem adipösen Personen sind mit $\geq p 99$ gedeckelt.

Die zu testenden Hypothesen lauten:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2.$$

Die Nullhypothese besagt, dass die *MC4R*-Mutationen ohne Einfluss auf das Körpergewicht sind, d.h. dass sich die heterozygoten *MC4R*-Mutationsträger nicht bezüglich Gewicht, gemessen am BMI-SDS, von den Wildtyp-Trägern unterscheiden.

$$H_1: \mu_1 > \mu_2.$$

Die heterozygoten *MC4R*-Mutationsträger sind schwerer als die homozygoten Wildtyp-Träger, d.h. sie haben im Mittel höhere BMI-SDS-Werte.

Wir verwenden einen Permutationstest anstelle des entsprechenden parametrischen Tests, einer zweifaktoriellen Varianzanalyse, in der das Gewicht als Funktion des Rezeptor-Allels und der Familie modelliert wird, weil die Gewichte innerhalb der Familien korreliert sind,

und weil der BMI-SDS in den hohen Gewichtsbereichen nicht der Normalverteilung entspricht.

Um eine Verzerrung durch die Rekrutierung zu vermeiden, wurden die Index-Patienten von der Berechnung ausgeschlossen. Diese wurden ja wegen ihres Übergewichts rekrutiert und sind fast alle Mutationsträger.

Um zu untersuchen, welche Unterschiede zwischen Wildtyp- und Mutationsträgern unter der Nullhypothese durch Zufall zu erwarten sind, permutieren wir die beobachteten Genotypen innerhalb der Stammbäume. Da in großen Stammbäumen die Anzahl möglicher Permutationen zu groß wird, wurden 100000 zufällige Replikationen erzeugt.

Der p-Wert entspricht dann dem Anteil derjenigen Replikationen, in denen die phänotypische Differenz zwischen den Genotypen mindestens ebenso groß ist wie in den beobachteten Daten.

2.6.3 Deskriptive Analysen

Alle weiteren Mittelwertvergleiche in dieser Arbeit sind lediglich explorativ angelegt, d.h. die auf Zwei-Stichproben-t-Tests beruhenden p-Werte haben nur deskriptiven Charakter. Wie der Test auf Kopplungsungleichgewicht, erfolgten auch diese Berechnungen an Hand der Daten der 162 Personen aus den 21 Familien, bei denen funktionell relevante Mutationen gefunden wurden.

Zur grafischen Darstellung von Körperfettanteil, Fettaufnahme, Energieaufnahme, der Konstrukte Hunger, kognitive Kontrolle und Störbarkeit des Essverhaltens sowie für Leptin, für die ich eine lineare Abhängigkeit vom BMI vermutete, verwendete ich Scatter-Plots. Es wurde die interessierende Variable in Abhängigkeit von BMI aufgetragen. Die *MC4R*-Mutationsträger und die Wildtyp-Träger aus den Familien, für die die Mittelwertsunterschiede in den genannten Variablen untersucht werden sollten, wurden in der grafischen Darstellung farblich gekennzeichnet.

Für diese Variablen führten wir Kovarianzanalysen durch, um den Einfluss von BMI und dem *MC4R*-Allel als unabhängige Variablen auf die jeweilige abhängige Variable zu testen.

Die Berechnungen wurden von Dipl.-Math. Astrid Dempfle und Dr. Monika Heinzl-Gutenbrunner am Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie Philipps-Universität Marburg durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Test auf Kopplungsungleichgewicht: höheres Körpergewicht bei *MC4R*-Mutationsträgern

Bei 28 von 887 untersuchten Familien fanden wir insgesamt 17 verschiedene Mutationen im *MC4R*. Die Mutationen Thr 112 Met (Gu et al., 1999) und Del ctct 211/212 (Yeo et al., 1998) wurden bereits von anderen Arbeitsgruppen bei adipösen Personen beschrieben, 15 Mutationen wurden erstmals von unserer Arbeitsgruppe berichtet (Hinney et al., 1999; Hinney et al., unveröffentlichte Daten). Zusätzlich fanden sich die beiden Polymorphismen Val 103 Ile und Ile 251 Leu (Gotoda et al., 1997; Hinney et al., 1999).

In drei Familien fand sich eine Mutation bei einem Elternteil und wurde nicht an die Indexpatienten weitergegeben: Die drei Indexpatienten (zwei Mädchen, ein Junge) aus diesen Familien sind homozygote Wildtyp-Träger im *MC4R*. Wir fanden keine homozygoten Mutationsträger, jedoch waren zwei Indexpatienten compound-heterozygot. Unter den Indexpatienten waren 9 männliche Mutationsträger (5 davon Träger funktionell relevanter Mutationen), 15 weibliche Mutationsträger (14 davon Träger relevanter Mutationen).

In der zweiten Phase der Untersuchung konnten aus den 28 Familien in 24 Fällen erweiterte Familienstammbäume erhoben werden, davon wurden 4 Familien von unserer Arbeitsgruppe bereits zu einem früheren Zeitpunkt untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass 2 unabhängig voneinander rekrutierte Indexpatienten Cousinsen zweiten Grades waren (Sina et al., 1999).

In drei Familien, bei denen eine zweite Untersuchung nicht möglich war (zwei Familien waren unbekannt verzogen, eine Familie hatte kein Interesse an einer erneuten Untersuchung), waren die Daten und die Anzahl der untersuchten Familienmitglieder bereits von der Erstuntersuchung in den Kliniken ausreichend, um die Stammbäume in unsere Familienstudie aufzunehmen. Insgesamt wurden so in diese Untersuchung 26 Familien (eine Großfamilie davon mit 2 unabhängig voneinander rekrutierten Indexpatienten) mit 17 verschiedenen Mutationen im *MC4R* eingeschlossen. Die Stammbäume dieser 26 Familien sind im Anhang dokumentiert. Lediglich eine Familie, bei der sich bei einem männlichen Indexpatienten die Mutation Arg 165 Trp fand, konnte nicht in unsere Untersuchung aufgenommen werden.

Von 217 untersuchten Probanden aus den 26 Familien konnten wir in 210 Fällen die genetische Untersuchung des *MC4R* durchführen. Dabei fanden sich 114 homozygote Wildtyp-Träger, 3 heterozygote Träger des Polymorphismus Val 103 Ile und weitere 3 heterozygote Träger des Polymorphismus Ile 251 Leu. 90 Probanden waren

Mutationsträger, wobei bei 5 Mutationsträgern zusätzlich einer der beiden Polymorphismen nachweisbar war.

Genetische Untersuchung von 210 Personen aus 26 Familien mit Mutationen im <i>MC4R</i>:	
homozygote Wildtyp-Träger:	114 Personen
heterozygote Träger von Polymorphismen:	6 Personen
heterozygote Mutationsträger: (davon 5 Personen zusätzlich Träger eines Polymorphismus)	88 Personen
compound-heterozygote Mutationsträger:	2 Personen
Mutationsträger gesamt:	90 Personen

Table 5: Ergebnisse der genetischen Untersuchung der 210 Personen aus den 26 Familien.

Die Auswirkungen der Mutationen auf die Rezeptorfunktion sind nicht einheitlich: Entsprechend der funktionellen Charakterisierung (siehe Abschnitt 2.5: Pharmakologische Untersuchungen) können Mutationen einen totalen Funktionsverlust des Rezeptors bedingen oder zu einer reduzierten Rezeptorfunktion führen. Eine dritte Gruppe von Mutationen ist mutmaßlich ohne Einfluss auf die Rezeptorfunktion.

Funktionelle Einteilung der <i>MC4R</i>-Mutationen in den untersuchten Familien		
	Anzahl der Familien in unserer Untersuchung	Anzahl der identifizierten Mutationsträger in den untersuchten Familien
Mutationen mit Totalverlust	14 Familien	49 Personen
Mutationen mit reduzierter Funktion	7 Familien	25 Personen
Mutationen ohne funktionelle Beeinträchtigung	4 Familien	13 Personen
Mutationen mit derzeit noch unklarer Funktion	1 Familie	3 Personen

Table 6: Funktionelle Einteilung der *MC4R*-Mutationen in den 26 untersuchten Familien und Anzahl der untersuchten Mutationsträger aus den jeweiligen Familien.

Für die weiteren Analysen werden die Familien mit Mutationen, die zu einem totalen Funktionsverlust des Rezeptors führen, und die Familien mit Mutationen mit reduzierter Rezeptorfunktion zusammen betrachtet und als Familien mit funktionell relevanten *MC4R*-Mutationen bezeichnet; in dieser Gruppe finden sich 21 Familien mit insgesamt 74 *MC4R*-Mutationsträgern. Die 5 heterozygoten Träger der Polymorphismen aus diesen 21 Familien betrachteten wir funktionell als homozygote Wildtyp-Träger.

Aus dem aktuellen Gewicht der Probanden und der aktuellen Körpergröße berechneten wir den BMI, den wir in das alters- und geschlechtsspezifische Perzentil transformierten. In den untersuchten Familien fällt eine deutliche Verschiebung in den oberen Gewichtsbereich auf:

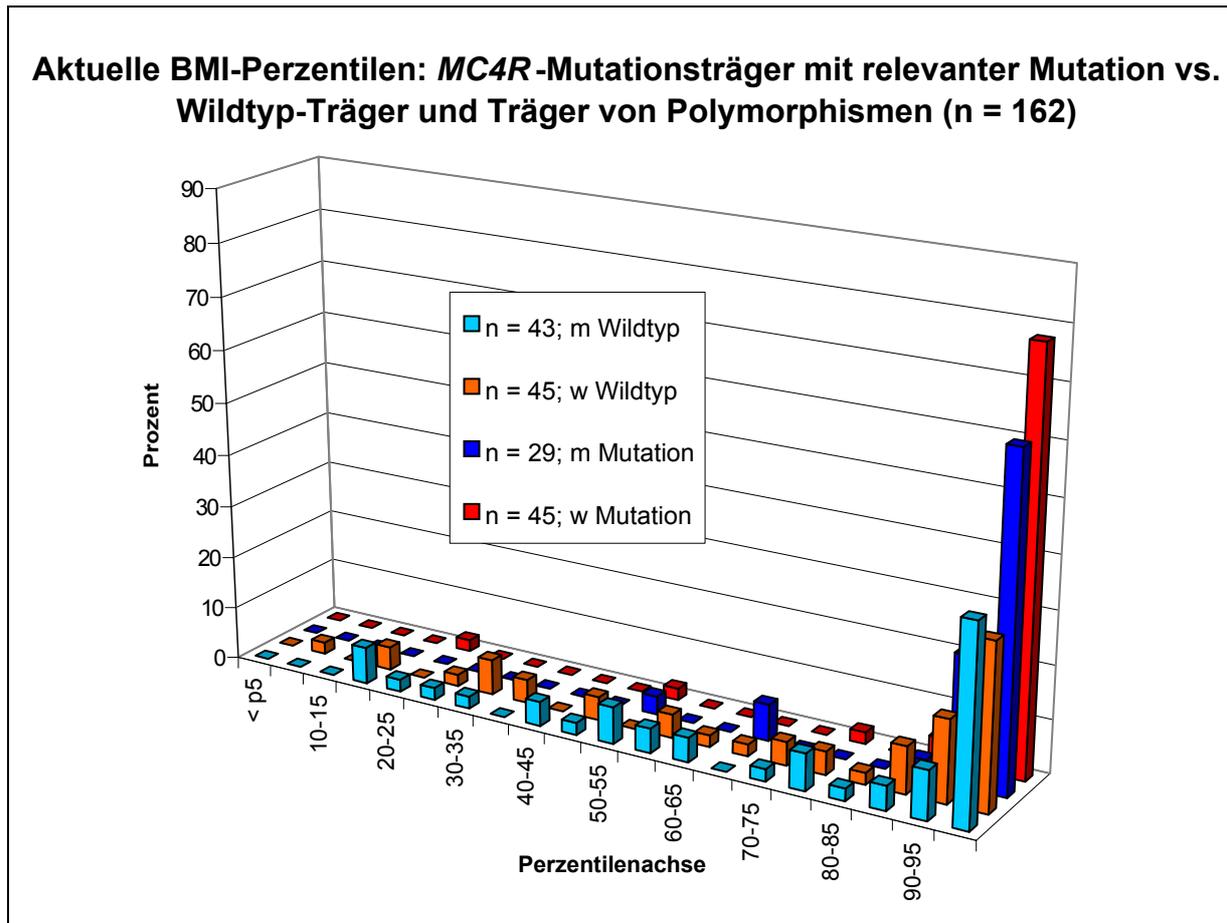


Abbildung 3: Perzentile der aktuellen BMI-Werte der 74 *MC4R*-Mutationsträger aus 21 Familien mit funktionell relevanten Mutationen (Frauen und Mädchen dunkelrot, Männer und Jungen dunkelblau) und der 83 homozygoten Wildtyp-Träger. 5 heterozygote Träger von Polymorphismen wurden zu den Wildtyp-Trägern gezählt. (Wildtyp-Frauen und -Mädchen orange, Wildtyp-Männer und -Jungen hellblau).

So haben z.B. 77 % der weiblichen Mutationsträger einen BMI größer oder gleich dem 95. Perzentil. Bei den männlichen Mutationsträgern liegen immerhin noch 62 % auf oder oberhalb des 95. BMI-Perzentil. Auf der anderen Seite sind die BMI-Werte einzelner Mutationsträger gegenwärtig im mittleren und unteren BMI-Bereich.

Die Verschiebung auf die hohen Gewichtsgebiete findet sich, wenn auch in deutlich geringerem Ausmaß, auch bei den Wildtyp-Trägern. Immerhin entsprechen die BMI-Werte von ca. 31 % der Frauen und 37 % Männer dem 95. oder einem höheren Perzentil.

Da das Körpergewicht auch im Erwachsenenalter nicht stabil ist, berechneten wir, soweit dies möglich war, aus anamnestischen Daten das im Laufe des Lebens maximale BMI-Perzentil.

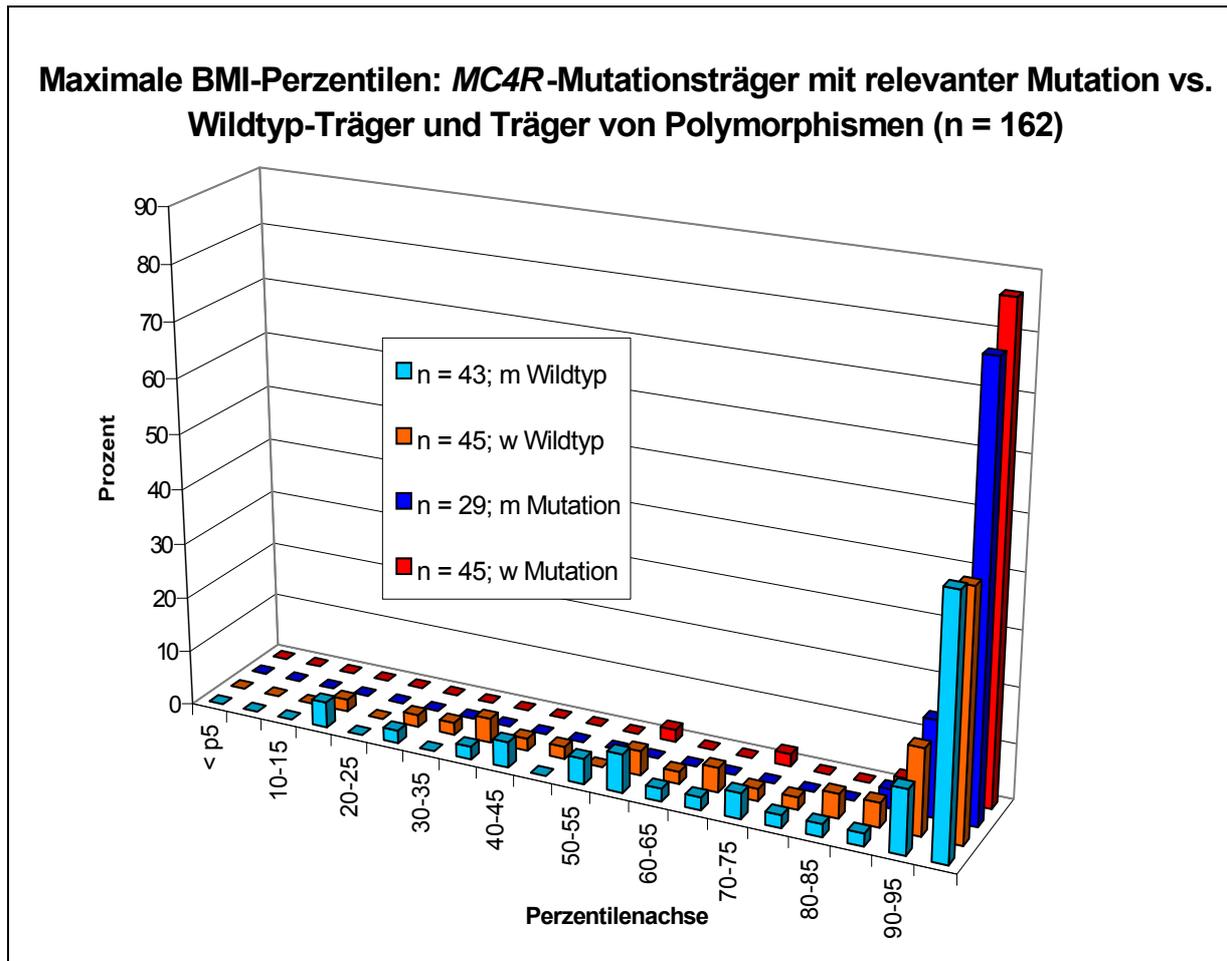


Abbildung 4: Perzentile der über die Lebenszeit maximalen BMI-Werte der Mutationsträger und Wildtyp-Träger (Probanden wie Abbildung 3). Auch in dieser Darstellung scheint der Effekt der Mutation auf das weibliche Geschlecht stärker zu sein. Für zwei Mutationsträgerinnen lässt sich zu keinem Zeitpunkt Übergewicht ($\text{BMI} \geq p 85$) nachweisen.

Wie erwartet, sind bei Betrachtung der über die Lebenszeit maximalen BMI-Perzentile deutlich mehr Personen im oberen Gewichtsbereich angesiedelt.

Als Kriterium für „Übergewicht“ verwendeten wir das 85. BMI-Perzentil (Hebebrand et al., 1994). In der Dokumentation der Stammbäume (siehe Anhang) wurde jede Person als „betroffen“ dargestellt, deren BMI entweder aktuell oder zu einem früheren Zeitpunkt nachweislich dem 85. Perzentil oder einem höheren Perzentil entsprach. Bei diesem Lebenszeit-Kriterium sind immerhin 72 der Träger funktionell relevanter *MC4R*-Mutationen als „betroffen“ einzustufen. Nur für 2 Mutationsträgerinnen ließ sich kein BMI im Übergewichtsbereich zeigen. Beide Personen sind heterozygote Trägerinnen der Mutation Tyr 35 Stop. Die eine Probandin (Familie 1 C, II:2) ist die 45 Jahre alte anamnestisch gesunde Mutter einer Indexpatientin. Mit einem BMI von $23,08 \text{ kg/m}^2$ liegt sie auf dem 53. Perzentil. Ihr maximales BMI Perzentil von 71 erreichte sie bei einem BMI von $24,22 \text{ kg/m}^2$ im Alter von 35 Jahren. Sie gibt an, im Alter von 3 bis ca. 10 Jahren ein eher höheres Gewicht als als

die gleichaltrigen Kinder gehabt zu haben. Obwohl die Probandin zu keinem Zeitpunkt übergewichtig war, habe sie seit Beginn der 5. Lebensdekade mehrmals eine ca. einwöchige Nulldiät durchgeführt. Eine konventionelle Diät führe sie zusätzlich seit dem ca. 14. Lebensjahr einmal pro Jahr durch. Hinweise auf eine Essstörung finden sich bei der Probandin anamnestisch nicht.

Die andere Probandin (Familie 1 D, II:5), die ebenfalls niemals nachweislich übergewichtig war, ist die 56 Jahre alte kinderlose Großtante eines Indexpatienten. Aktuell liegt sie mit einem BMI von $22,17 \text{ kg/m}^2$ auf dem 22. Perzentil. Im Alter von 38 Jahren erreicht sie mit einem BMI von $22,98 \text{ kg/m}^2$ entsprechend dem 56. Perzentil das bisherige Maximum. Sie gibt an, im Alter von 6 bis 10 Jahren eher schwerer als die Gleichaltrigen gewesen zu sein, seither sei sie leichter als die Gleichaltrigen. Seit dem 14. Lebensjahr sei sie bestrebt, ihr Gewicht niedrig zu halten, und seit dem 15. Lebensjahr sei sie ständig auf Diät. Im Alter von 38 und 45 Jahren habe sie jeweils für ca. 2 Wochen eine Nulldiät durchgeführt.

Im Gegensatz zu den Mutationsträgern (mit relevanten Mutationen), bei denen 72 von 74 betroffen waren (97%), finden sich bei den 88 homozygoten Wildtyp-Trägern aus diesen Familien 55 Personen (62,5 %), für die mindestens einmal im Laufe des Lebens ein BMI auf oder oberhalb des 85. Perzentil gezeigt werden konnte.

Die Perzentile erlauben in den Extrembereichen keine Differenzierung. Daher wählten wir für die Darstellung in den Stammbäumen wie auch als abhängige Variable im Permutationstest die über die Lebenszeit maximalen BMI-SDS-Werte.

Personen mit funktionell relevanten <i>MC4R</i> -Mutationen (n = 74) und Personen ohne <i>MC4R</i> -Mutationen (n= 88) aus den Familien: über die Lebenszeit maximaler BMI-SDS					
	Anzahl der Personen	Mittelwert der maximalen BMI-SDS	Standard-Abweichung	kleinster maximaler BMI-SDS	größter maximaler BMI-SDS
<i>MC4R</i> -Mutationsträger	74	4,16	2,95	-0,08	15,88
<i>MC4R</i> -Mutationsträger nur Indexpatienten	19	6,68	3,67	2,85	15,88
<i>MC4R</i> -Mutationsträger ohne Indexpatienten	55	3,30	2,06	-0,08	9,20
Im <i>MC4R</i> homozygote Wildtyp-Träger	88	1,75	1,95	-0,90	9,38
Im <i>MC4R</i> homozygote Wildtyp-Träger nur Indexpatienten	3	5,01	3,80	2,42	9,38
Im <i>MC4R</i> homozygote Wildtyp-Träger ohne Indexpatienten	85	1,63	1,80	-0,90	8,52

Tabelle 7: Über die Lebenszeit maximale BMI-SDS-Werte der Mutationsträger mit relevanten Mutationen und der im *MC4R* wildtypischen Personen aus den 21 Familien mit funktionell relevanten *MC4R*-Mutationen. Die Mutationsträger haben höhere Körpergewichte als ihre Angehörigen ohne *MC4R*-Mutationen. Zu den homozygoten Wildtyp-Trägern wurden die heterozygoten Träger der Polymorphismen dazugerechnet.

Mit Hilfe des Permutationstests konnten wir den Unterschied, der sich in der Stichprobe zwischen Wildtyp-Trägern und Mutationsträgern deskriptiv gezeigt hat, inferenzstatistisch untermauern. Um eine Verzerrung durch die Rekrutierung zu vermeiden, haben wir die 22 Indexpatienten (14 Mädchen und 5 Jungen mit *MC4R*-Mutationen sowie die drei im *MC4R* homozygoten Wildtyp-Träger [w: 1, m: 2]) von der Berechnung ausgeschlossen, da diese ja auf Grund der extremen Adipositas rekrutiert wurden. Die über die Lebenszeit maximalen BMI-SDS-Werte der 55 Träger funktionell relevanter *MC4R*-Mutationen sind größer (Mittelwert des maximalen BMI-SDS: 3,3) als die BMI-SDS-Werte der 85 „Wildtyp-Träger“ (Mittelwert des maximalen BMI-SDS: 1,63) ($p = 0,0008$), wobei wir die „echten“ homozygoten Wildtyp-Träger und die 5 heterozygoten Träger der Polymorphismen aus den 21 Familien mit funktionell relevanten Mutationen zusammenfassten.

Das Ergebnis spricht für die Alternativhypothese: $H_1: \mu_1 > \mu_2$.

Unsere Haupthypothese, dass die Mutationsträger höhere BMI-Werte als die Wildtyp-Träger haben, wird damit angenommen.

Den durchschnittlichen BMI-SDS-Unterschied von 1,7 zwischen den *MC4R*-Mutationsträgern und den Wildtyp-Trägern kann man sich folgendermaßen veranschaulichen: Eine Standardabweichung entspricht bei einem 35 Jahre alten Mann 3 BMI-Punkten. Ein BMI-SDS Unterschied von 1,7 entspricht demnach 5,1 BMI-Punkten. Bezogen auf eine Körpergröße von 1,8 m bedeutet dies einen Gewichtsunterschied von 16,5 kg.

Alle weiteren Mittelwertvergleiche in dieser Arbeit haben lediglich explorativen Charakter, d.h. die dazu angegebenen p-Werte sind nur deskriptiv zu interpretieren.

3.2 Deskriptive Ergebnisse zum Phänotyp der *MC4R*-Mutationsträger

3.2.1 *MC4R*-Mutationen haben beim weiblichen Geschlecht möglicherweise einen größeren Effekt auf das Körpergewicht

Die Befunde bei homozygoten wie auch bei hemizygoten *MC4R*-Knockout Mäusen zeigen einen stärkeren Effekt der *MC4R*-Defizienz beim weiblichen Geschlecht (Huszar et al., 1997). Wir haben die über die Lebenszeit maximalen BMI-SDS-Werte der weiblichen und männlichen Träger der funktionell relevanten Mutationen verglichen. Die Frauen und Mädchen mit *MC4R*-Mutationen haben tendenziell höhere BMI-SDS-Werte als die Jungen und Männer mit *MC4R*-Mutationen ($p = 0,079$). Bei den Wildtyp-Trägern ($n = 85$, ohne Indexpatienten) weisen die Männer höhere Gewichte auf (Männer: $n = 41$; mittlerer BMI-SDS: 1,76; Frauen: $n = 44$; mittlerer BMI-SDS: 1,52; $p = 0,533$).

Träger (einschließlich Indexpatienten) funktionell relevanter <i>MC4R</i>-Mutationen ($n = 74$): Über die Lebenszeit maximaler BMI-SDS					
Geschlecht	Anzahl der Personen	Mittelwert der maximalen BMI-SDS	Standard-Abweichung	kleinster maximaler BMI-SDS	größter maximaler BMI-SDS
männlich	29	3,08	1,65	1,02	7,96
weiblich	45	4,86	3,38	-0,08	15,88

Tabelle 8: Über die Lebenszeit maximale BMI-SDS-Werte aller 74 Träger relevanter Mutationen aus 21 Familien. Der Mittelwert ist bei den weiblichen Mutationsträgern höher als bei den männlichen Mutationsträgern.

Indexpatienten mit funktionell relevanten <i>MC4R</i>-Mutationen (n = 19): Über die Lebenszeit maximaler BMI-SDS					
Geschlecht	Anzahl der Personen	Mittelwert der maximalen BMI-SDS	Standard-Abweichung	kleinster maximaler BMI-SDS	größter maximaler BMI-SDS
männlich	5	4,96	2,49	2,85	7,96
weiblich	14	7,3	3,98	3,6	15,88

Table 9: Über die Lebenszeit maximale BMI-SDS-Werte der 19 Indexpatienten mit relevanten Mutationen. Die Indexpatienten sind schwerer als ihre Angehörigen, die ebenfalls relevante *MC4R*-Mutationen tragen. Auch bei den Indexpatienten finden sich höhere Werte beim weiblichen Geschlecht.

Träger funktionell relevanter <i>MC4R</i>-Mutationen (n = 55), ohne Indexpatienten: Über die Lebenszeit maximaler BMI-SDS					
Geschlecht	Anzahl der Personen	Mittelwert der maximalen BMI-SDS	Standard-Abweichung	kleinster maximaler BMI-SDS	größter maximaler BMI-SDS
männlich	24	2,69	1,15	1,02	4,85
weiblich	31	3,77	2,47	-0,08	9,2

Table 10: Um eine Verzerrung durch die Rekrutierung auszuschließen, hier der Vergleich der über die Lebenszeit maximalen BMI-SDS-Werte der Träger relevanter Mutationen beider Geschlechter ohne die Indexpatienten. Die BMI-SDS Werte bei den weiblichen Probanden sind von der Tendenz her größer als bei den männlichen Probanden ($p = 0,079$).

3.2.2 Der Schweregrad der Adipositas bei den Wildtyp-Trägern scheint abhängig vom Verwandtschaftsgrad zum Index zu sein

Aus den 21 Familien, in denen funktionell relevante *MC4R*-Mutationen vorkommen, analysierten wir die über die Lebenszeit maximalen BMI-SDS-Werte der 85 im *MC4R* homozygoten Wildtyp-Träger: Erstgradig Verwandte der Indexpatienten, die selbst keine Mutation im *MC4R* tragen ($n = 26$), sind tendenziell schwerer ($p = 0,057$) als die zum Index zweitgradig und entfernter verwandten, im *MC4R* wildtypischen Personen ($n = 59$).

Maximaler BMI-SDS bei 85 homozygoten Wildtyp-Trägern: Mit dem Index erstgradig verwandte und entfernter verwandte Personen					
Verwandschafts-grad	Anzahl der Personen	Mittelwert der maximalen BMI-SDS	Standard-Abweichung	kleinster maximaler BMI-SDS	größter maximaler BMI-SDS
erstgradig verwandt	26	2,19	1,47	-0,65	4,80
zweitgradig und entfernter verwandt	59	1,39	1,88	-0,90	8,52

Tabelle 11: Über die Lebenszeit maximale BMI-SDS-Werte der 85 Wildtyp-Träger aus den 21 Familien mit relevanten Mutationen. Die mit dem Index erstgradig verwandten homozygoten Wildtyp-Träger haben höhere BMI-SDS-Werte als die entfernter verwandten ($p = 0,057$).

Bei den *MC4R*-Mutationsträgern ist der Unterschied zwischen zum Index erstgradig ($n = 29$) und entfernter verwandten Personen ($n = 26$) hinsichtlich des maximalen BMI-SDS kleiner: Erstgradig Verwandte: mittlerer BMI-SDS: 3,53, entfernter Verwandte: mittlerer BMI-SDS: 3,03 ($p = 0,387$).

3.2.3 Übergewicht manifestiert sich bei *MC4R*-Mutationsträgern meist bereits im Vorschulalter

3.2.3.1 Daten aus den Untersuchungsheften

Zur Klärung der Frage nach dem Beginn der Adipositas haben wir aus den im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen („gelbe Untersuchungshefte“) dokumentierten Maßen die BMI-SDS-Werte berechnet und im zeitlichen Verlauf dargestellt. 36 Untersuchungshefte von Kindern und Jugendlichen aus den untersuchten Familien wurden uns zur Verfügung gestellt. Die Daten der Jungen sind im Anschluss dargestellt, die Daten der Mädchen finden sich im Anhang.

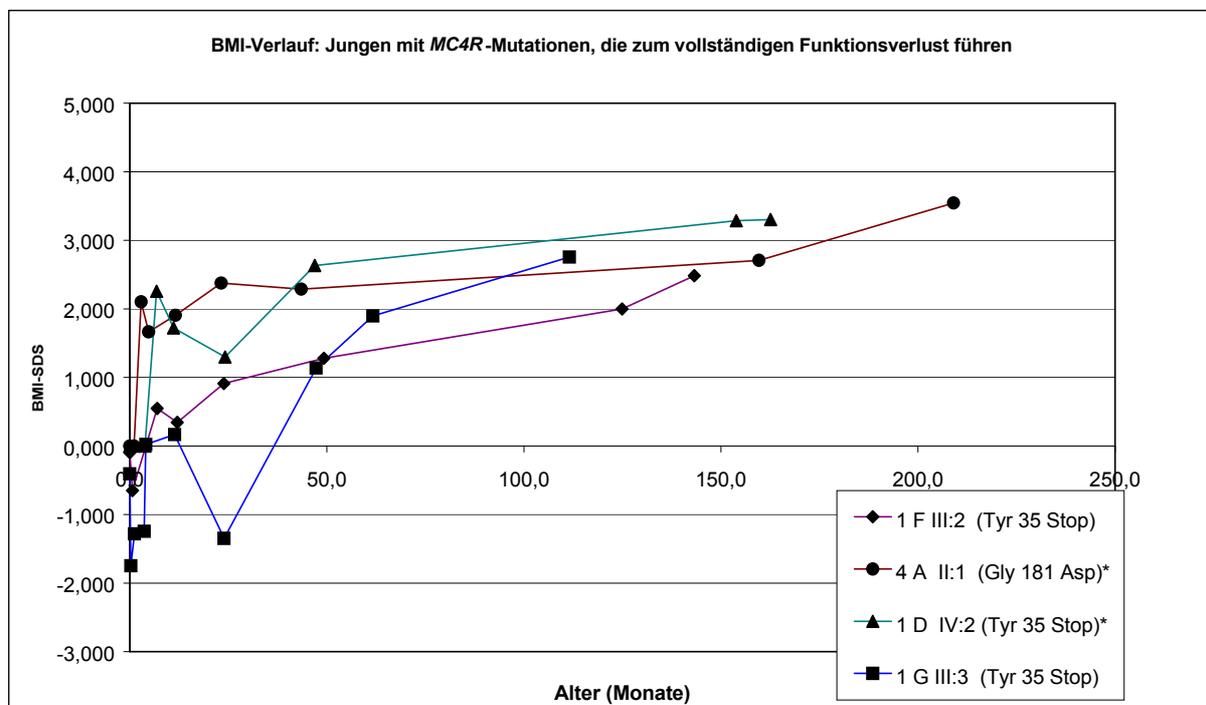


Abbildung 5: Verläufe der aus den Daten der Vorsorgeuntersuchungen errechneten BMI-SDS-Werte: Im Alter von ca. 4 Jahren überschreiten alle 4 Träger von *MC4R*-Mutationen, die zum totalen Funktionsverlust führen, die erste SDS (ca. p 85). Im Alter von ca. 11,5 Jahren sind alle BMI-SDS-Werte ≥ 2 (ca. p 97). Die Symbole in der Legende bezeichnen die Nummer der Familie (die Stammbäume sind im Anhang dokumentiert) und die Mutation. 4 A II:1 trägt zusätzlich zur Mutation Gly 181 Asp den Polymorphismus Ile 251 Leu. Die mit (*) gekennzeichneten Personen sind Indexpatienten.

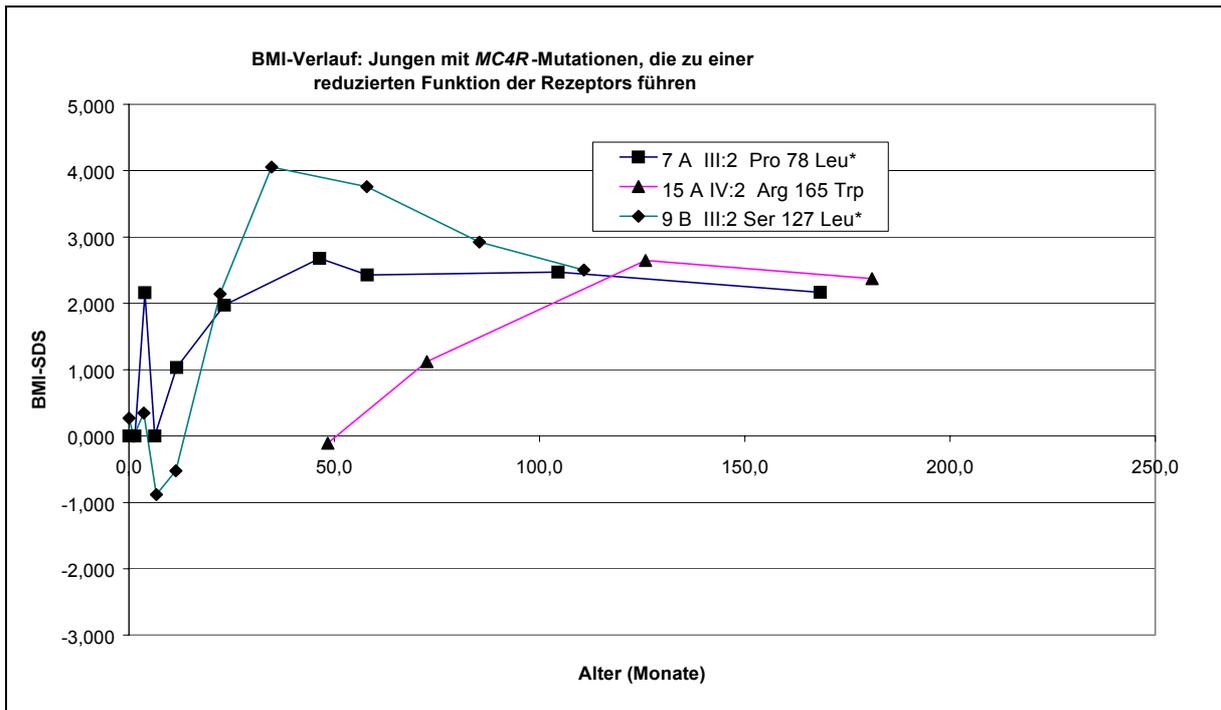


Abbildung 6: Im Alter von ca. 6 Jahren überschreiten alle 3 Träger von *MC4R*-Mutationen, die eine reduzierte Rezeptorfunktion bedingen, die erste SDS (ca. p 85). Im Alter von ca. 10 Jahren sind alle BMI-SDS-Werte ≥ 2 (ca. p 97). 15 A IV:2 trägt zusätzlich zur Mutation Arg 165 Trp den Polymorphismus Val 103 Ile. Leider beginnt für diese Person die Dokumentation erst im Alter von ca. 4 Jahren. Die mit (*) gekennzeichneten Personen sind Indexpatienten.

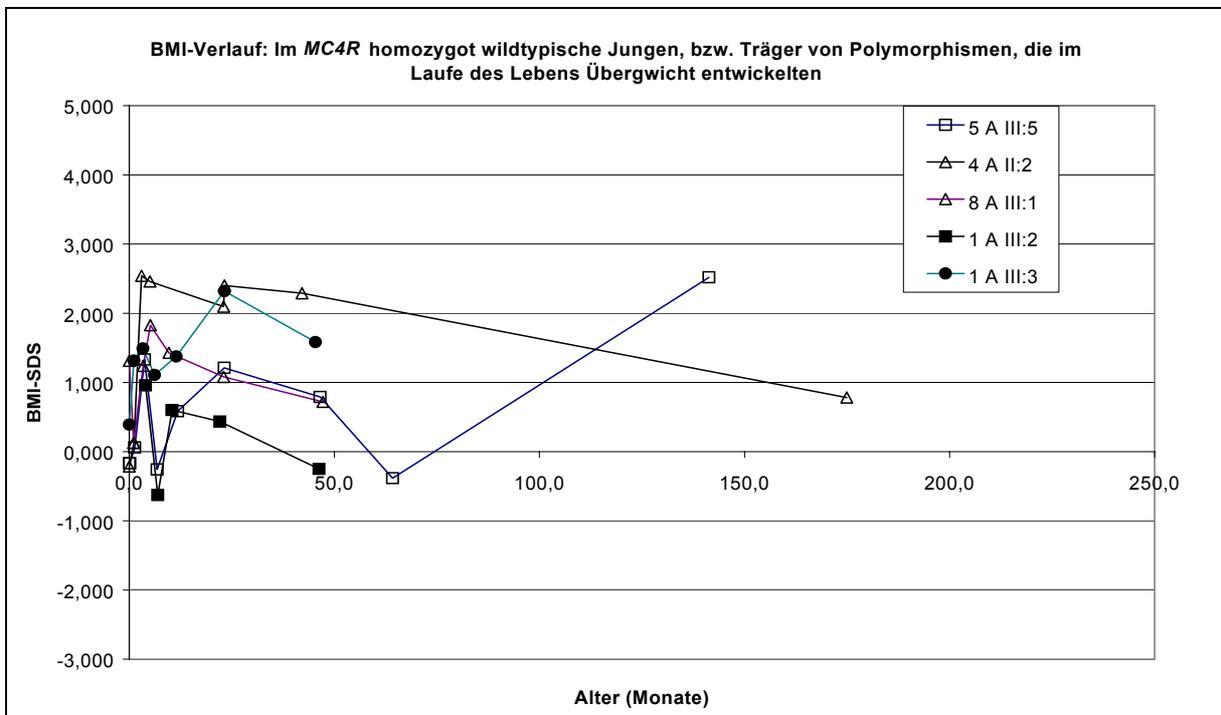


Abbildung 7: Im Alter von ca. 4 Monaten überschreiten 4 von 5 Jungen die erste Standardabweichung. Alle hier dargestellten Personen sind Brüder von Mutationsträgern, und alle sind betroffen, d.h. haben zu mindestens einem Zeitpunkt im Leben nachweislich einen BMI über dem 84. Perzentil. Ein SDS von 2 wird von 3 der Jungen im dargestellten Zeitraum erreicht.

Sowohl bei den *MC4R*-Mutationsträgern mit totalem Funktionsverlust, wie auch bei reduzierter Funktion, ist ein früher Beginn der Adipositas dokumentiert. Ein BMI entsprechend mindestens 2 Standardabweichungen über dem Mittelwert errechnet sich aus den Daten der Vorsorgeuntersuchungen für alle Träger relevanter Mutationen beider Geschlechter mit spätestens 12 Jahren. Die meisten Mutationsträger erreichen die zweite Standardabweichung des BMI jedoch bereits im Vorschulalter.

Mit 6 Jahren hatten von den 5 im *MC4R* homozygoten männlichen Wildtyp-Trägern, die jemals übergewichtig waren, lediglich 2 bereits einen BMI über der 2. Standardabweichung erreicht. Die beiden homozygot wildtypischen Mädchen, die Übergewicht entwickelten, erreichen die 2. BMI-SDS in dem im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen dokumentierten Zeitraum bis zum Alter von ca. 12,5 Jahren nicht.

3.2.3.2 Verlauf des subjektiv eingeschätzten Körpergewichts in der Kindheit und Jugend

Die Daten aus den Vorsorgeuntersuchungen standen leider nur von 36 Personen zur Verfügung. Die Frage nach dem Alter bei Beginn des Übergewichts versuchten wir daher durch eine subjektive und retrospektive Einschätzung des Körpergewichts weiter zu verfolgen. Die Probanden - bei den Kindern und Jugendlichen stellvertretend deren Eltern - wurden gebeten, das Körpergewicht im Alter von 1, 3, 6, 10, 15 und 18 Jahren in Relation zu den Gleichaltrigen einzuschätzen. Wir konnten so auf die Daten von 138 Personen aus den untersuchten Familien zurückgreifen (68 Träger relevanter Mutationen, 70 Wildtyp-Träger). Die Verläufe sind im Anhang grafisch dargestellt.

Diese Daten zeigen, dass die Mutationsträger oft schon im Alter von einem Jahr, in aller Regel aber spätestens mit Beginn des Schulalters, schwerer als die Gleichaltrigen eingeschätzt werden. Dies gilt vor allem für die Indexpatienten und deren erstgradige Angehörige, die ebenfalls *MC4R*-Mutationen tragen. 16 von 23 männlichen Trägern funktionell relevanter *MC4R*-Mutationen werden in Alter von 6 Jahren schwerer als die Gleichaltrigen eingestuft, 29 von 45 weiblichen Trägern relevanter Mutationen werden ebenfalls im Alter von 6 Jahren schwerer eingestuft. Zweitgradige Verwandte mit *MC4R*-Mutationen schätzen ihr Gewicht retrospektiv deutlich seltener im Vergleich zu den Gleichaltrigen höher ein, bzw. werden von den Angehörigen höher eingeschätzt.

Die Wildtyp-Träger, die ebenfalls „betroffen“ sind, d. h. einen über die Lebenszeit maximalen BMI entsprechend dem 85. Perzentil oder höher erreicht haben, werden deutlich seltener

„schwerer als die Gleichaltrigen“ eingeschätzt. Im Alter von 6 Jahren sind dies 9 von 30 bei den Frauen und 8 von 24 bei den Männern.

3.2.4 *MC4R*-Mutationsträger: Übergewicht auch jenseits von 40 Jahren

MC4R-Mutationen sind möglicherweise bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt für das Körpergewicht von Bedeutung. Bei der Betrachtung der BMI-SDS-Verläufe bei Erwachsenen fiel kein besonderes Muster auf (Die Grafiken sind nicht abgedruckt): Hohe BMI-SDS-Werte finden sich bei den Mutationsträgern (m = 16; w = 20) wie auch bei den Wildtyp-Trägern (m = 18; w = 34), sofern diese betroffen waren, in allen dokumentierten Altersstufen.

3.2.5 Wachstumsbeschleunigung bei *MC4R*-Mutationsträgern

Auch für die Körpergrößen berechneten wir die SDS-Werte aus den Daten der Vorsorgeuntersuchungen. Als Referenz wurde dabei - wie schon für die Berechnung der BMI-SDS-Werte in Kindesalter - der aktuellste Datensatz für Kinder und Jugendliche gewählt (Kromeyer-Hauschild, 2001). Die SDS-Werte der Körperhöhen liegen vor allem bei den Mädchen mit Mutationen, die zu Funktionsverlust des *MC4R* führen (n = 11), im oberen Bereich. Auch bei den Größenverläufen der Jungen (n = 6) findet sich diese Tendenz. Leider ist aufgrund der nur 2 bei den betroffenen Wildtyp-Mädchen dokumentierten Verläufe kein Vergleich möglich. Jedoch finden sich auch bei den betroffenen, im *MC4R* homozygot wildtypischen Jungen (n = 5) hohe SDS-Werte für die Körpergrößen.

3.2.6 Die Körpergröße bei Erwachsenen ist unabhängig vom *MC4R*-Allel

Wir stellten die Körpergrößen der erwachsenen Mutationsträger denen der erwachsenen Wildtyp-Träger gegenüber. Dabei fanden wir für beide Geschlechter keinen Unterschied zwischen Mutationsträgern und Wildtyp-Trägern hinsichtlich der Körpergrößen (Frauen: p = 0,727; Männer: p = 0,691). Mit einer zweifaktoriellen Varianzanalyse wurde dabei auch die Abhängigkeit der Größe von der Familienzugehörigkeit berücksichtigt.

Körpergrößen der erwachsenen <i>MC4R</i>-Mutationsträger (n = 48) und der Wildtyp-Träger (n = 69) aus dem 21 Familien mit relevanten <i>MC4R</i>-Mutationen				
Geschlecht und <i>MC4R</i> -Allel	Körpergröße [cm] (Mittelwert)	Standard-Abweichung	Minimum [cm]	Maximum [cm]
Frauen Mutationsträger (n = 28)	165,03	6,3	151	176
Frauen Wildtyp-Träger (n = 34)	164,39	7,7	146	179
Männer Mutationsträger (n = 20)	177,97	36,37	168	194
Männer Wildtyp-Träger (n = 35)	177,31	5,81	162	193

Tabelle 12: Vergleich der Körpergrößen: Erwachsene weibliche *MC4R*-Mutationsträger unterscheiden sich nicht hinsichtlich der Körpergröße von den Wildtyp-Trägern ($p = 0,727$). Gleiches gilt für die Männer ($p = 0,691$).

3.2.7 Körperfettanteil als Funktion des BMI

Die Mutationsträger aus den untersuchten Familien haben höhere BMI-Werte als die Wildtyp-Träger. Der BMI lässt jedoch für den Einzelfall keine Rückschlüsse auf die Körperzusammensetzung zu. Daher ermittelten wir mit Hilfe der Bioimpedanzanalyse den prozentualen Körperfettanteil der Probanden. Der mittlere Fettanteil bei den Frauen beträgt für Mutationsträger 44%, für die Wildtyp-Träger 36%. Bei den Männern beträgt der Körperfettanteil bei den Mutationsträgern 31%, bei den Wildtyp-Trägern 30%.

In der Kovarianzanalyse (unabhängige Variablen: BMI und *MC4R*-Allel, abhängige Variable: Körperfettanteil) findet sich für beide Geschlechter ein Zusammenhang zwischen BMI und prozentualen Körperfettanteil ($p < 0,0001$), die p-Werte für den Zusammenhang zwischen *MC4R*-Allel und Körperfettanteil sind jedoch groß (Frauen: $p = 0,187$; Männer: $p = 0,338$).

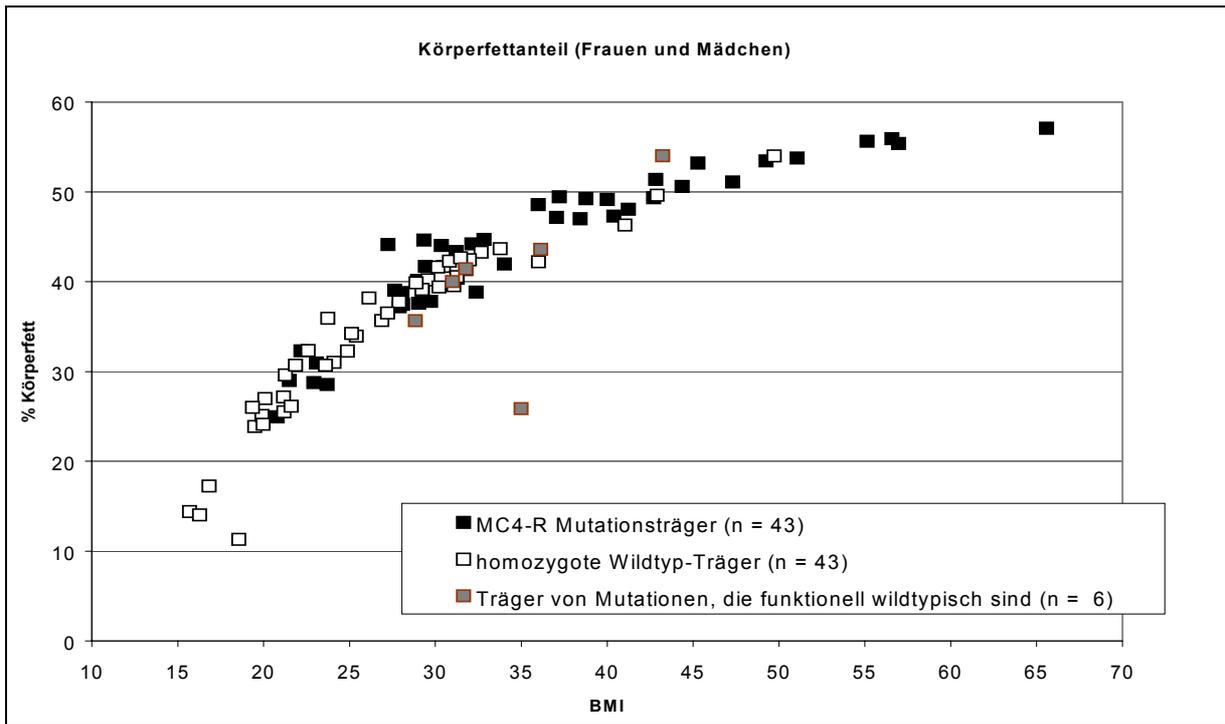


Abbildung 8 zeigt den Körperfettanteil bei den untersuchten Frauen und Mädchen in Abhängigkeit vom BMI. Die Mutationsträger haben entsprechend den höheren BMI-Werten einen höheren Körperfettanteil als die Wildtyp-Träger.

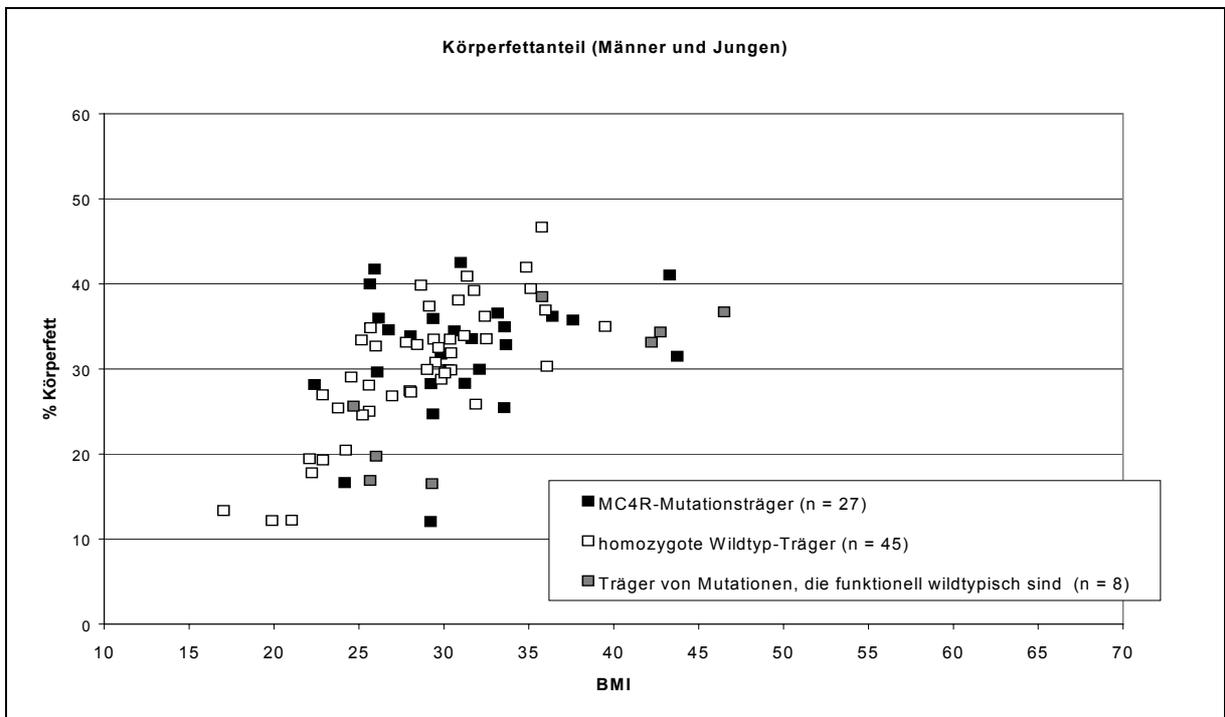


Abbildung 9 zeigt den Körperfettanteil bei den untersuchten Männern und Jungen in Abhängigkeit vom BMI.

3.2.8 Energie- und Fettaufnahme sind unabhängig vom *MC4R*-Allel

Mit Hilfe eines Fragebogens, der ins Deutsche übersetzten Version der „Leeds Food and Nutrition Survey“ (FFQ) (Cooling und Blundell, 1998), wurde der relative Fettanteil der Nahrung in Prozent wie auch die aufgenommene Energie (in Kcal) ermittelt. Bei den Frauen liegt die mittlere prozentuale Fettaufnahme bei den Mutationsträgerinnen bei 40 %, bei den Wildtyp-Trägerinnen bei 39,4 % (Abbildung 10). Die mittlere tägliche Energiezufuhr beträgt bei den Mutationsträgerinnen 1374 Kcal und bei den Wildtyp-Trägerinnen 1447 Kcal.

Die p-Werte einer Kovarianzanalyse, die die prozentuale Fettaufnahme in Abhängigkeit vom BMI und von *MC4R*-Allel modelliert sind 0,151 (BMI) und 0,645 (*MC4R*-Allel).

Auch hinsichtlich der täglichen Energiezufuhr ist das *MC4R*-Allel ($p = 0,662$) und der BMI ($p = 0,802$) in der untersuchten Stichprobe scheinbar ohne Bedeutung.

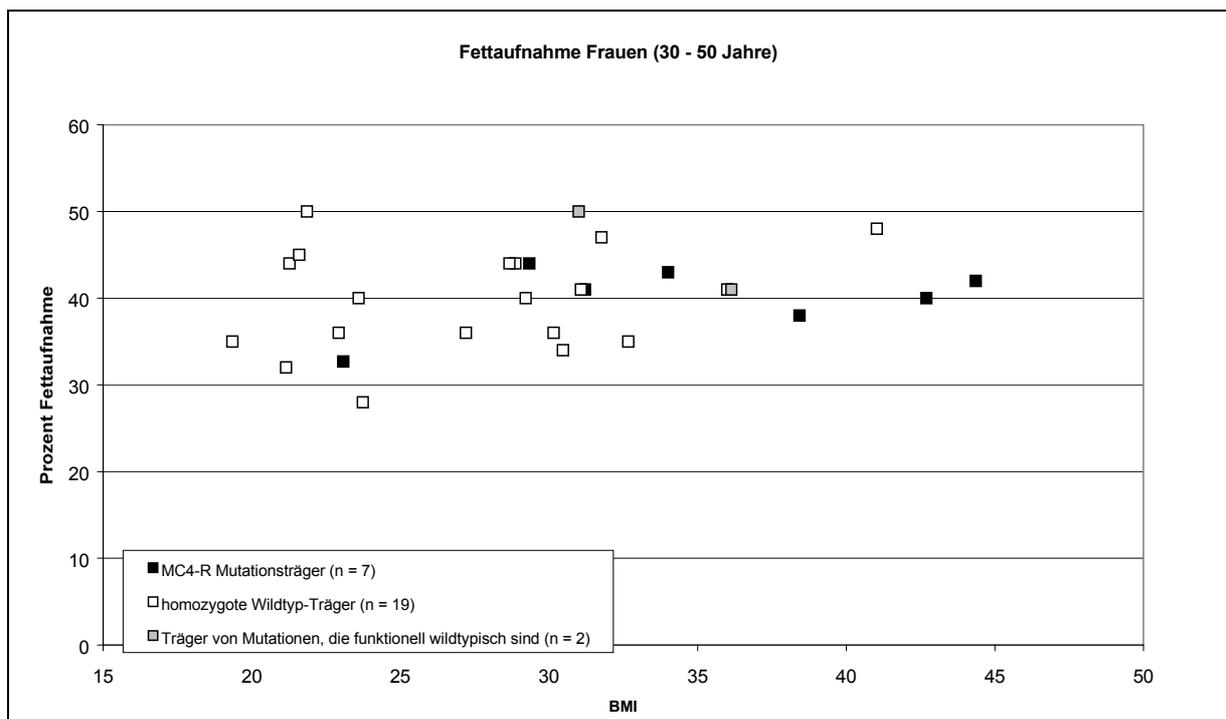


Abbildung 10 zeigt den Fettanteil der Nahrung bei weiblichen *MC4R*-Mutationsträgern und Wildtyp-Trägern. Die mittlere prozentuale Fettaufnahme beträgt bei den Mutationsträgerinnen 40 % (mittlerer BMI: 34), bei den Wildtyp-Trägerinnen 39,4 % (mittlerer BMI: 28).

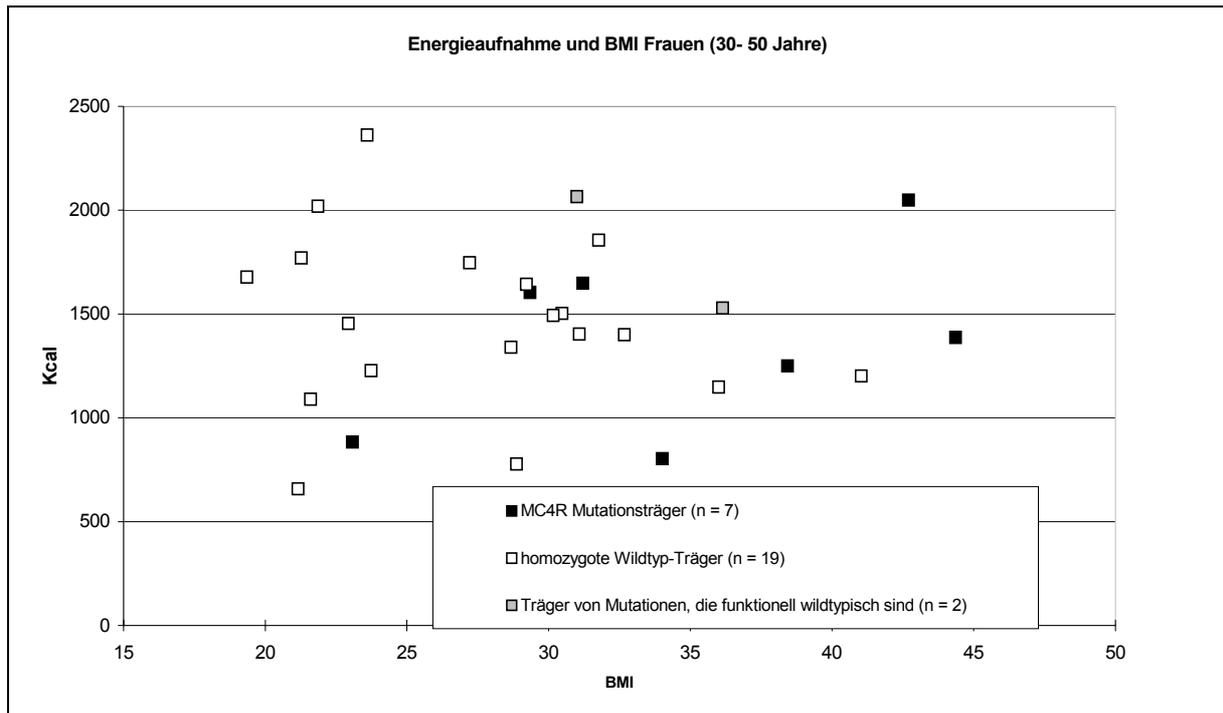


Abbildung 11 zeigt die tägliche Energiezufuhr, ermittelt mit dem FFQ, bei weiblichen *MC4R*-Mutationsträgern und Wildtyp-Trägern. Die Probanden sind die selben wie in Abbildung 10 dargestellt. Die Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung für die tägliche Energiezufuhr liegt für Frauen derzeit bei 2300 Kcal.

Ähnliche Daten finden sich bei Männern im Alter zwischen 30 bis 50 Jahren: Die Mutationsträger ($n = 8$, mittlerer BMI = 32,5) nehmen durchschnittlich 41,6 % Fett mit der Nahrung auf, bei den Wildtyp-Trägern ($n = 17$, mittlerer BMI = 29) sind es 41 % ($p = 0,522$). Die mit dem FFQ gemessene durchschnittliche Energiezufuhr beträgt bei den Mutationsträgern 1774 Kcal und 2058 Kcal bei den Wildtyp-Trägern ($p = 0,509$).

3.2.9 Daten aus dem Fragebogen zum Essverhalten (FEV)

Der FEV (Pudel und Westenhöfer, 1989) erfasst die Dimensionen „kognitive Kontrolle des Essverhaltens“, „Störbarkeit des Essverhaltens“ und „erlebte Hungergefühle“. Unsere Analyse zielt auf eventuelle Unterschiede zwischen *MC4R*-Mutationsträgern und Wildtyp-Trägern in den drei Dimensionen des Essverhaltens.

3.2.9.1 Hunger ist unabhängig vom *MC4R*-Allel

Die Skala „erlebte Hungergefühle“ beinhaltet 14 Items. Hohe Werte auf der Skala stehen für stark erlebte Hungergefühle.

Bei den untersuchten Frauen ergibt sich kein Unterschied zwischen Mutationsträgern und Wildtyp-Trägern hinsichtlich des im FEV angegebenen Hungers: Der mittlere Summenscore bei Mutationsträgerinnen beträgt 4,54, bei den Wildtyp-Trägerinnen 4,33 ($p = 0,083$). Der Zusammenhang zwischen BMI und Hunger erscheint relativ eng und ergibt in der Kovarianzanalyse einen p -Wert von 0,001.

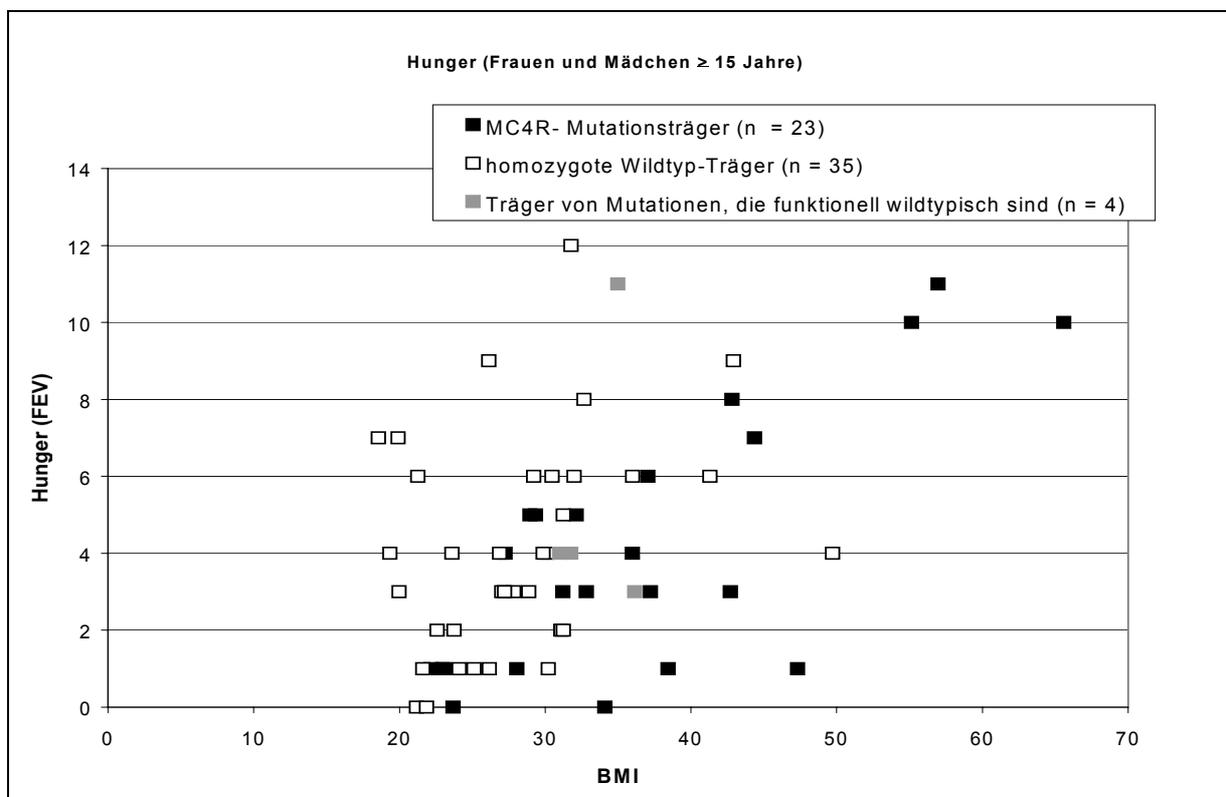


Abbildung 12: Erlebte Hungergefühle bei den Frauen und Mädchen aus den Familien, gemessen mit dem FEV. Hohe Werte stehen für stark erlebte Hungergefühle (maximaler Summenscore = 14).

Bei den untersuchten Männern haben die Wildtyp-Träger einen mittleren Summenscore von 4,07, die Mutationsträger 2,72 ($p = 0,061$). Im Vergleich zu den Frauen ist der p-Wert für den Zusammenhang zwischen BMI und Hunger bei den Männern größer ($p = 0,083$).

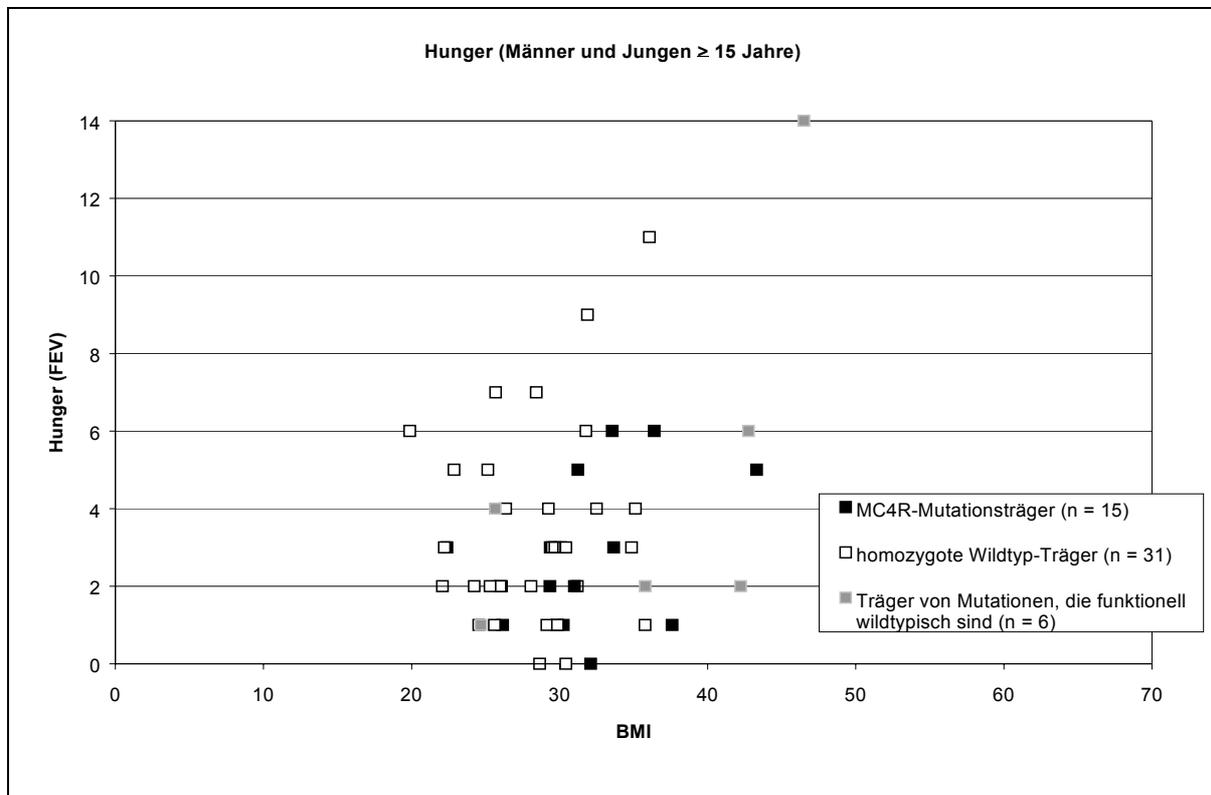


Abbildung 13: Erlebte Hungergefühle bei den Männern und Jungen aus den Familien.

3.2.9.2 Kognitive Kontrolle des Essverhaltens

Die Skala „kognitive Kontrolle des Essverhaltens“ besteht aus 21 Items. Hohe Werte auf der Skala stehen für ausgeprägt gezügeltes Essverhalten. Die Mutationsträgerinnen haben mit durchschnittlich 9,5 Punkten eine geringfügig höhere mittlere Kontrolle als die Wildtyp-Trägerinnen mit 7,92 Punkten ($p = 0,143$). Bei den Männern ist die mittlere Kontrolle mit 5,5 dagegen bei den Mutationsträgern kleiner als bei den Wildtyp-Trägern mit 6,13 ($p = 0,569$). Die große Streuung, die auch in der grafischen Darstellung deutlich wird, bedingt die großen p-Werte und relativiert die Mittelwertsunterschiede. Große p-Werte finden sich auch für den Zusammenhang zwischen BMI und Kontrolle (Frauen: $p = 0,332$; Männer: $p = 0,634$).

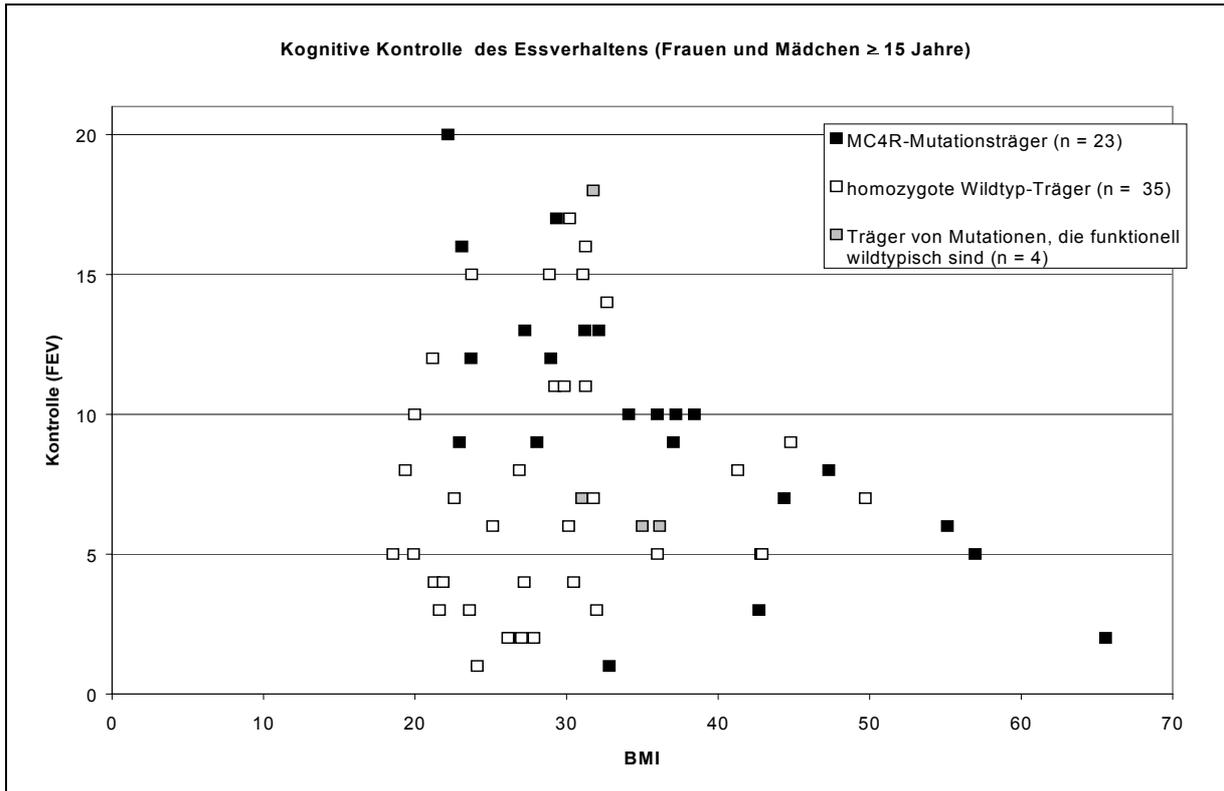


Abbildung 14: Kognitive Kontrolle des Essverhaltens bei Frauen und Mädchen. Ausgeprägte Kontrolle geht tendenziell mit niedrigem BMI einher. Der p-Wert ist jedoch 0,33. Den höchsten Kontroll-Score mit 20 hat die Person 1 D II:5, heterozygote *MC4R*-Mutationsträgerin, die niemals nachweislich übergewichtig war. Für die andere niemals übergewichtige *MC4R*-Mutationsträgerin, 1 C II:2, beträgt der Wert 16.

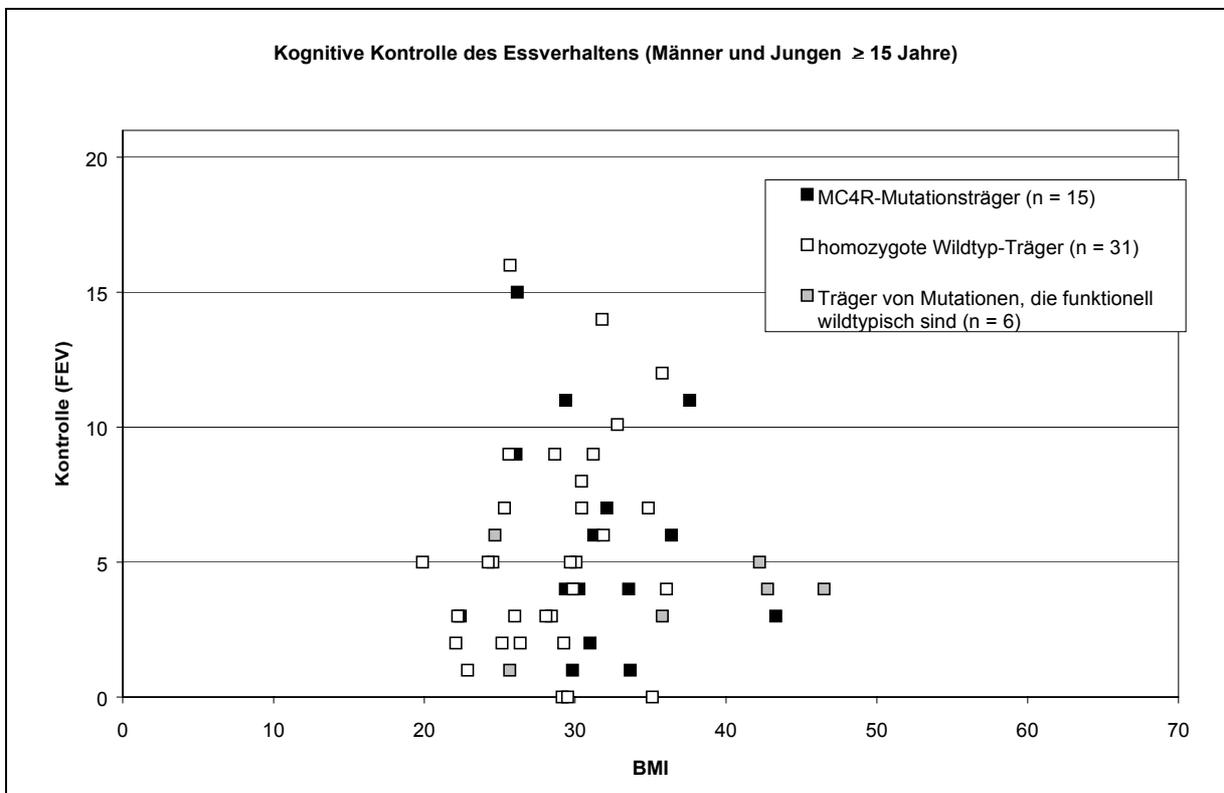


Abbildung 15: Kognitive Kontrolle des Essverhaltens bei Männern und Jungen.

3.2.9.3 Störbarkeit des Essverhaltens

Die Skala "Störbarkeit des Essverhaltens" beinhaltet 16 Items. Hohe Werte auf der Skala stehen für eine ausgeprägte Störbarkeit des Essverhaltens, was bedeutet, dass die Kontrolle des Essverhaltens in hohem Maße von situativen Faktoren abhängig ist. Die Störbarkeit des Essverhaltens behindert demnach die Kontrolle.

Geringe Störbarkeit geht bei beiden Geschlechtern mit kleinen BMI-Werten einher (Frauen: $p < 0,0001$; Männer: $p = 0,033$). Die mittleren Summenscores sind bei den Frauen 7 für die Mutationsträger und 5,54 für die Wildtyp-Träger ($p = 0,900$). Der Unterschied ist demnach durch die Unterschiede im BMI erklärbar, bzw. sind die großen p-Werte durch die große Streuung der Scores bedingt. Bei den Männern ist der mittlere Summenscore 4,54 bei den Mutationsträgern und 4,33 bei den Wildtyp-Trägern ($p = 0,498$).

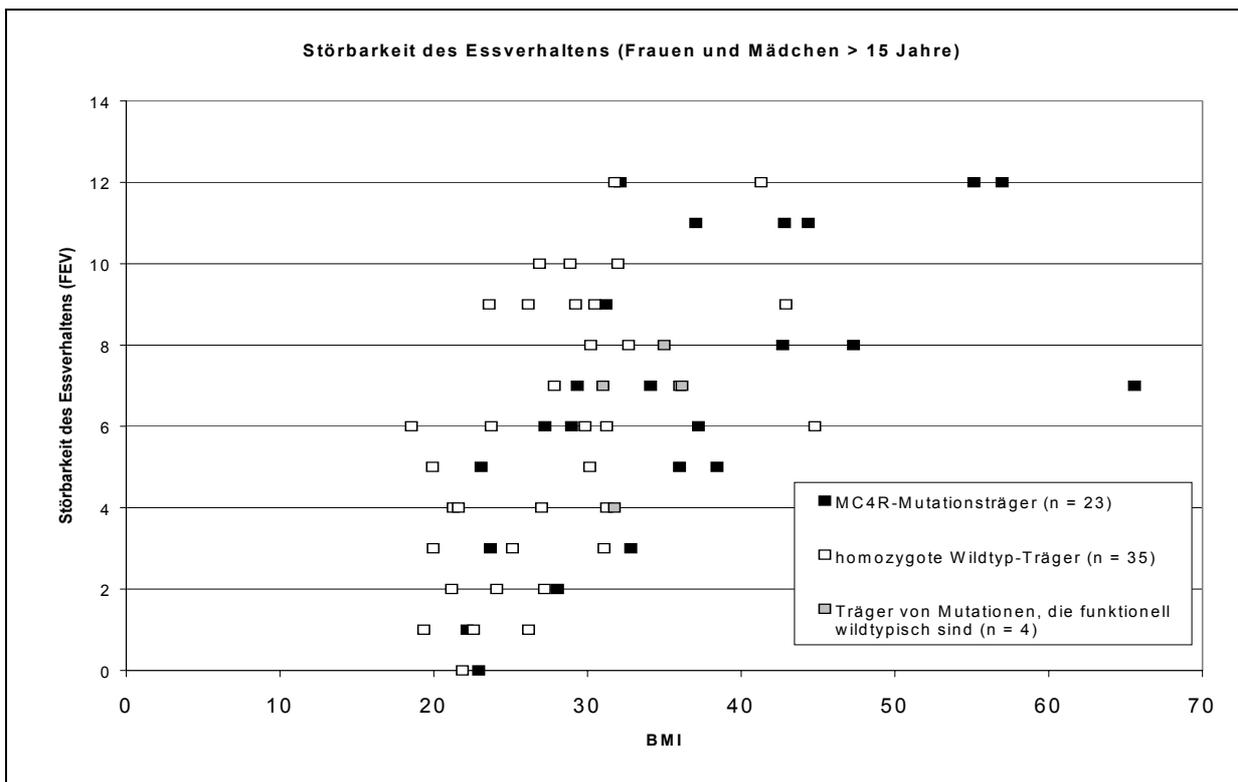


Abbildung 16: Störbarkeit des Essverhaltens bei Frauen und Mädchen. Geringe Störbarkeit geht bei Mutationsträgern wie auch bei Wildtyp-Trägern mit niedrigerem BMI einher.

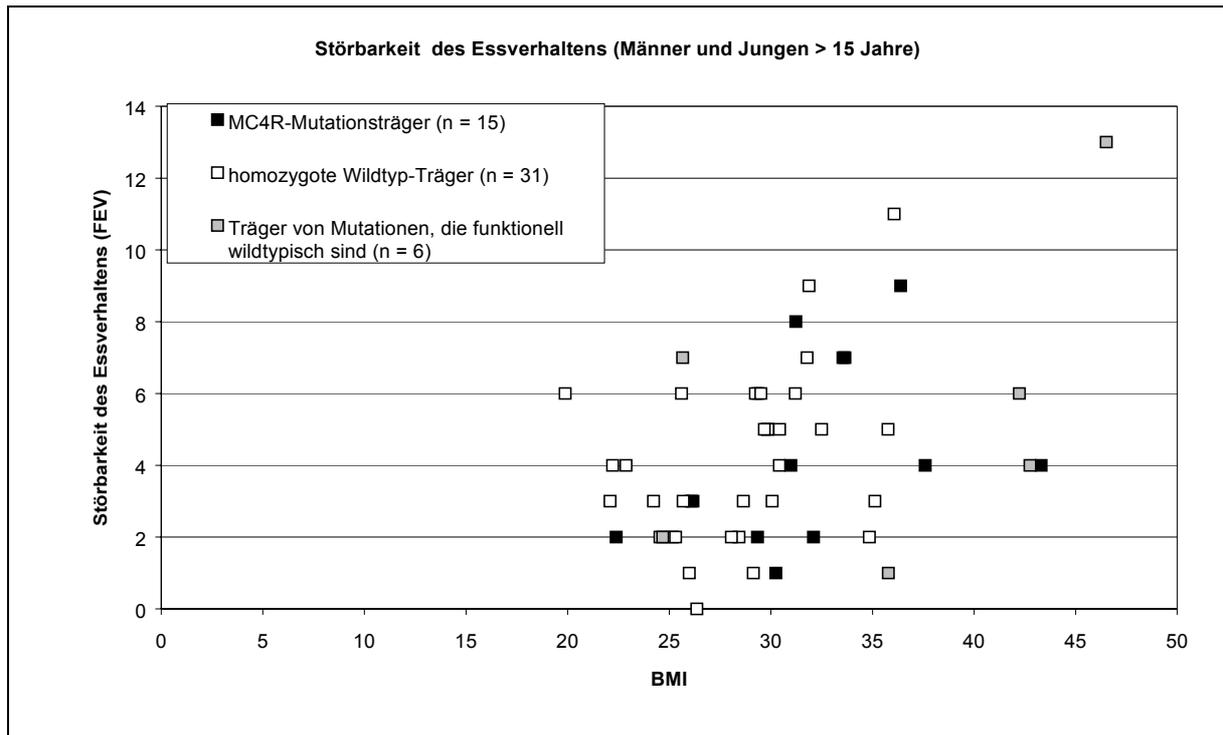


Abbildung 17: Störbarkeit des Essverhaltens bei Männern und Jungen. Auch hier finden sich niedrige BMI-Werte bei geringer Störbarkeit.

3.2.10 Frauen mit *MC4R*-Mutationen in unserer Untersuchung haben höhere Leptinspiegel als die Wildtyp-Trägerinnen

Die Serumspiegel des „Fettgewebshormons“ Leptin korrelieren mit der Fettmasse des Individuums. Menschen, die kein Leptin bilden können, entwickeln aufgrund des Fehlens des Sättigungssignals großen Hunger. Wir gingen der Frage nach etwaigen Auffälligkeiten des Leptinspiegels bei *MC4R*-Mutationsträgern nach, die an der Entstehung des Übergewichts bei *MC4R*-Mutationsträgern mitbeteiligt sein könnten.

Die Kovarianzanalyse ergibt zumindest für die untersuchten Frauen den erwarteten Zusammenhang zwischen BMI und Leptinspiegel (Frauen: $p < 0,0001$; Männer: $p = 0,207$). Der mittlere Leptinspiegel ist bei den Frauen mit $44,4 \mu\text{g/l}$ bei den Mutationsträgerinnen höher als mit $17,3 \mu\text{g/l}$ bei den Wildtyp-Trägerinnen. Dies lässt sich gut sowohl anhand der Grafik als auch unter Berücksichtigung des kleinen p-Wertes ($p = 0,033$) nachvollziehen. Auch bei den Männern haben die Mutationsträger mit $14,4 \mu\text{g/l}$ gegenüber den Wildtyp-Trägern mit $6,84 \mu\text{g/l}$ den höheren mittleren Leptinspiegel. Allerdings beträgt der p-Wert aus der Kovarianzanalyse für die Männer $0,103$.

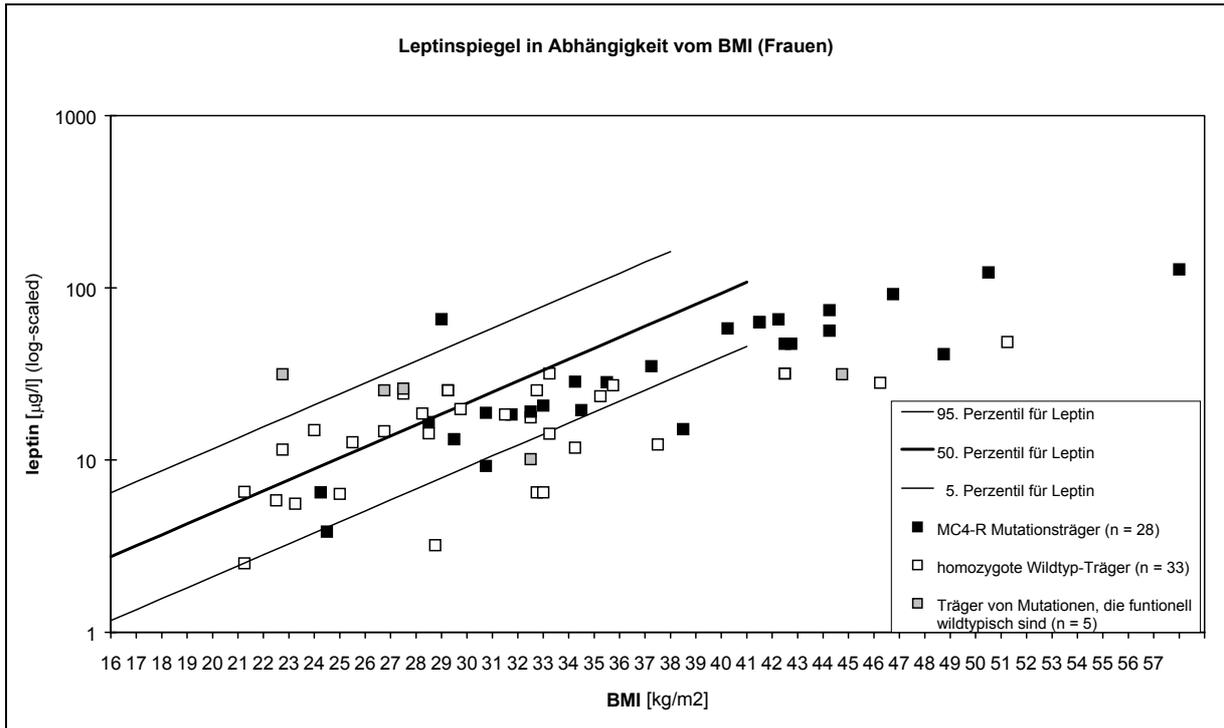


Abbildung 18: Leptinspiegel der *MC4R*-Mutationsträgerinnen und der Wildtyp-Trägerinnen in Abhängigkeit vom BMI. Die Linien stellen das 5., 50. und 95. Perzentil dar (Blum und Juul, 1997). Für die extremen BMI-Bereiche sind keine Normwerte verfügbar. Die Leptinwerte sind wie erwartet vom BMI abhängig.

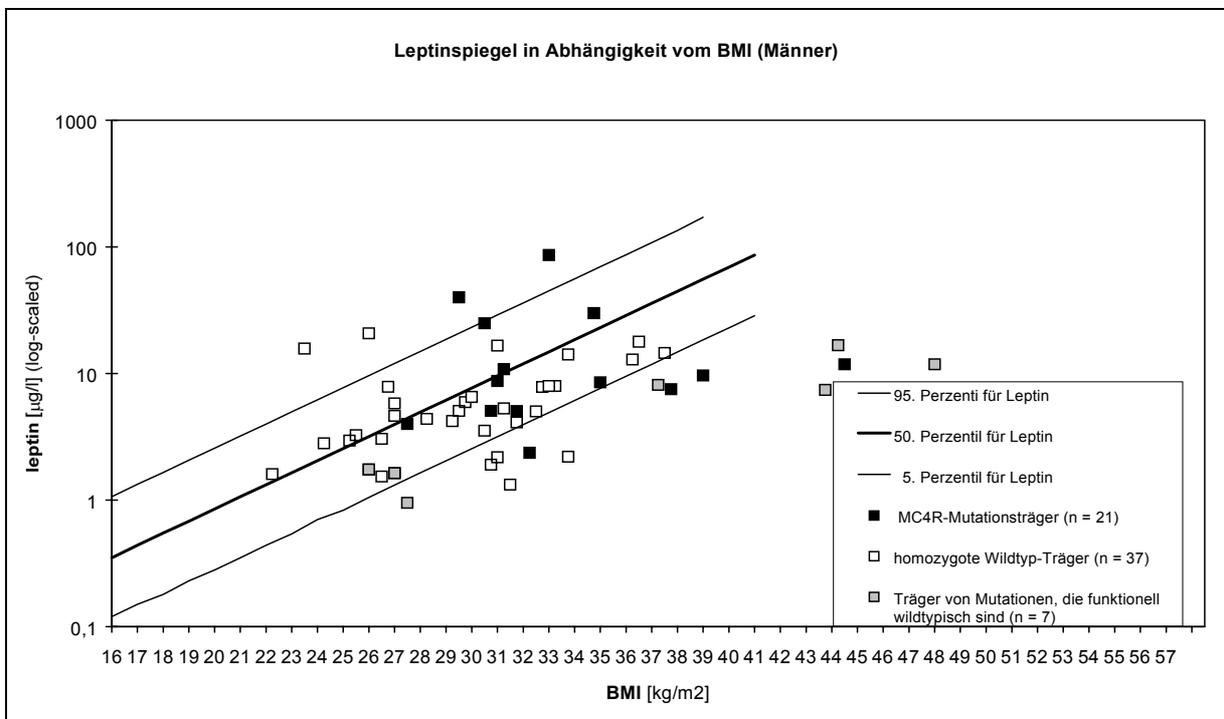


Abbildung 19: Leptinspiegel der *MC4R*-Mutationsträger und der Wildtyp-Träger in Abhängigkeit vom BMI.

4 Diskussion

4.1 Die Haupthypothese: Übergewicht durch *MC4R*-Mutationen

4.1.1 Diskussion der Methoden zur Untersuchung der Haupthypothese

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen folgende methodischen Einschränkungen berücksichtigt werden:

4.1.1.1 Studienteilnehmer

Die Auswahl der Probanden gerade in der zweiten Phase der Untersuchung könnte zu einer Verzerrung führen. Unabhängig vom Phänotyp haben wir versucht, möglichst viele Verwandte in den Familien zu rekrutieren. Ich bekam bei den Hausbesuchen den Eindruck, dass die Personen, die oftmals schon lange Jahre mit Gewichtsproblemen zu kämpfen hatten, mit großer Erwartung auf eine mögliche Ursache ihrer Gewichtsprobleme an unserer Untersuchung teilnahmen. Auf der anderen Seite konnte ich im Gespräch mit zwei zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht übergewichtigen Studienteilnehmern (15 A III:6; 1 D II:5) folgendes Motiv für ihre Teilnahme erfahren: Beide nahmen an, Träger einer *MC4R*-Mutation zu sein und hofften so ihren übergewichtigen Angehörigen zu beweisen, dass *MC4R*-Mutationsträger nicht übergewichtig sein müssen. Insgesamt aber war mein Eindruck, dass eher diejenigen Personen an unserer Untersuchung teilnahmen, die von der Kernfamilie beim Erstbesuch als übergewichtig beschrieben wurden.

4.1.1.2 Erhebung von Körpergewicht und Körperhöhe

Die Daten zum Körpergewicht und zur Körperhöhe, die in die Berechnung des über die Lebenszeit maximalen BMI-SDS und in die Testung auf Kopplungsungleichgewicht eingegangen sind, wurden nicht unter optimal standardisierten Bedingungen erhoben. Die Messungen von Körpergewicht und Körperhöhe habe ich größtenteils im Rahmen von Hausbesuchen vorgenommen. Ein standardisierter Untersuchungszeitpunkt - optimal wäre morgens nach dem Aufstehen - war dabei freilich nicht zu berücksichtigen. Ein Teil der Daten stammt aus den Kurkliniken bzw. von den bereits zuvor von Sina et al. (1999) durchgeführten Messungen.

Gravierender ist sicherlich die Tatsache, dass wir für die Berechnung des über die Lebenszeit maximalen BMI-SDS auf Angaben der Probanden über Körpergewicht und Körperhöhe zu einem früheren Zeitpunkt zurückgreifen mussten, wobei wir für die Berechnung der BMI-Werte aus früheren Jahren bei Erwachsenen die anamnestischen Gewichtsangaben und die aktuell von uns gemessene Körperhöhe heranzogen.

Aus epidemiologischen Studien ist bekannt, dass Selbstangaben über Körpergewicht und Körperlänge fehlerhaft sein können (Hebebrand et al., 1994). Der Fehler, der bei retrospektiven Selbstangaben gemacht wird, ist nicht kalkulierbar; man kann sich jedoch veranschaulichen, welchen Effekt derartige Fehler auf BMI- und Perzentilberechnung haben. Wird beispielsweise für einen 30jährigen Mann mit 86 kg Körpergewicht und 180 cm Körperhöhe das Gewicht um 2 kg zu niedrig angenommen, so vermindert sich der BMI von $26,4 \text{ kg/m}^2$ auf $25,9 \text{ kg/m}^2$. Das BMI-Perzentil rutscht von p 82 auf p 77. Der gleiche Perzentilsprung ergibt sich bei dieser Person durch eine um 3 cm höher angenommene Größe. Der BMI-SDS-Wert fällt in beiden Fällen von 0,8 auf 0,6. Im oberen Gewichtsbereich sind diese Effekte ähnlich. Würde die gleiche Person 120 kg wiegen, ergäbe eine Unterschätzung des Gewichts um 2 kg eine SDS-Veränderung von 4,3 auf 4,1, eine Überschätzung der Körperhöhe um 3 cm eine Veränderung des SDS von 4,3 auf 3,9.

4.1.1.3 Die Referenzdaten: BMI-Perzentile und SDS-Werte des BMI

Um eine Vergleichbarkeit des BMI über beide Geschlechter und alle Altersstufen zu erreichen, war es notwendig, die BMI-Werte in Perzentile bzw. SDS-Werte zu transformieren. Dazu verwendeten wir die Daten aus der Nationalen Verzehrsstudie (Hebebrand et al., 1994). Der Datensatz beruht auf Selbstangaben zu Gewicht und Körpergröße von 21.452 Personen im Alter zwischen 10 und 75 Jahren und wurde zwischen 1985 und 1989 in der alten Bundesrepublik erhoben. Die Autoren berichten von einer Tendenz zur Überschätzung der Körperhöhe und zur Unterschätzung des Körpergewichts bei den Selbstangaben. Dies hat zur Folge, dass die Perzentile bei BMI-Werten, die aus zuverlässig gemessenen Daten hervorgehen, zu hoch angenommen werden.

Die Konstruktion der Perzentile beruht auf einer Querschnittuntersuchung. Wir müssen jedoch von einer Zunahme des BMI in der Gesamtbevölkerung, der sogenannten säkularen Gewichtszunahme, ausgehen (Kromeyer-Hauschild et al., 2001). Wenn die Gesamtbevölkerung heute höhere Körpergewichte aufweist, als die Bevölkerung im Zeitraum der Erhebung der Daten für die Perzentile, resultiert eine „Inflation“ der Perzentile. Die Anwendung dieser Perzentile auf heute, 15 Jahre nach Erhebung der Daten der Nationalen

Verzehrsstudie gewonnene Körpergrößen und Gewichte, führt ebenfalls zu einer Überschätzung.

Problematisch im Kontext einer säkularen Veränderung des BMI ist zusätzlich, dass bei der Betrachtung des Gewichts über die Lebenszeit in unserer Untersuchung die BMI-Werte vom gleichen Lebensalter bei Personen unterschiedlicher Geburtsjahrgänge verglichen werden.

Da die Perzentile nur für Personen bis zum Alter von 75 Jahren ermittelt wurden, waren wir gezwungen, für die Kalkulation der Perzentile der insgesamt 5 Personen im Alter über 75 Jahren das Lebensalter mit 75 Jahren gleichzusetzen.

4.1.1.4 Permutationstest

Zur Prüfung der Hypothese wurde das Gewicht (die maximalen BMI-SDS-Werte) innerhalb der Familien permutiert. Da die Korrelation des Körpergewichts zwischen den Familienmitgliedern bei entfernter verwandten Personen geringer ausfällt, hätten die Permutationen idealerweise innerhalb der Familie zwischen erstgradigen Verwandten und entfernten Verwandten getrennt durchgeführt werden sollen. Da jedoch neben einigen großen Stammbäumen (z.B. Familie 1 E, 5 A, 15 A) in manchen Familien nur sehr kleine Stammbäume erhoben werden konnten (1 F, 4 A), war die getrennte Permutation nicht möglich.

4.1.1.5 Pharmakologische Charakterisierung der Rezeptorvarianten

Die MC4-Rezeptorvarianten wurden im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Marburg unter der Leitung von Herrn Prof. Thomas Gudermann *in-vitro* funktionell getestet, soweit die funktionelle Beeinträchtigung nicht bereits aus der Literatur bekannt war.

Aufgrund dieser Untersuchungen schlossen wir 5 Familien von der Testung auf Kopplungsungleichgewicht aus: In 4 Familien fanden sich Mutationen, die zu keiner Beeinträchtigung der Funktion des Rezeptors führten. Die Rezeptorvariante Pro 230 Leu konnte funktionell nicht eindeutig klassifiziert werden.

Gemessen wurde im *In-vitro*-Assay der Second-Messenger cAMP nach Stimulation der Rezeptorvariante mit einem Liganden. Der MC4R gehört zur Klasse der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Für diese sind neben dem G-Protein-gekoppelten Signalweg über die Adenylatzyklase weitere G-Protein-gekoppelte Signalwege wie z.B. der Diacylglycerol-Signalweg, aber auch von G-Proteinen unabhängige Signalwege bekannt (Marinissen und Gutkind, 2001; Neves et al., 2002). Demnach ist die cAMP-Antwort nur ein Aspekt der

Rezeptorfunktion und eine Beeinträchtigung der Rezeptorfunktion *in-vivo* kann durch die *in-vitro*-Untersuchung dieser einen Teilfunktion nicht sicher ausgeschlossen werden. Jedenfalls sind die 10 Träger (Indexpatienten ausgeschlossen) der als funktionell nicht relevant eingestuften Mutationen mit einem mittleren maximalen BMI-SDS von 3,56 keinesfalls leichter als die Träger der relevant eingestuften Mutationen (mittlerer maximaler BMI-SDS 3,30; $p = 0,713$). Unter der Annahme, dass die nicht relevant eingestuften Mutationen über alternative Signalwege die Rezeptorfunktion beeinträchtigen, hätten wir die Träger dieser Varianten unnötig von unserer Untersuchung ausgeschlossen. Die Aussage über die in unserer Untersuchung als relevant eingestuften Rezeptorvarianten wäre davon aber nicht betroffen. Schwerwiegender wäre jedoch, wenn der cAMP-Signalweg für die Gewichtsregulation keine Bedeutung hätte, und einige in unserer Arbeit als bedeutsam eingestufte Mutationen hinsichtlich eines hypothetisch für die Gewichtsregulation entscheidenden Signalweges nicht beeinträchtigt wären.

4.1.2 Diskussion zum Ergebnis der Haupthypothese: *MC4R*-Mutationsträger sind schwerer als die Wildtyp-Träger

Die bisherigen Familienuntersuchungen beschreiben z.B. 19 *MC4R*-Mutationsträger aus 3 Familien (Sina et al., 1999), 11 Mutationsträger aus 4 Familien (Farooqi et al., 2000) und 15 Mutationsträger aus 5 Familien (Vaisse et al., 2000). Unsere Untersuchung ist mit 90 *MC4R*-Mutationsträgern aus 26 Familien die bisher größte Untersuchung dieser Art.

Der Test auf Kopplungsungleichgewicht mit Hilfe der Permutationsanalyse zeigt, dass die *MC4R*-Mutationsträger (alle in die Testung einbezogenen Mutationsträger waren heterozygot bzw. compound-heterozygot für eine Mutation und einen Polymorphismus) über die Lebenszeit betrachtet, signifikant höhere maximale BMI-SDS-Werte haben als die Wildtyp-Träger. Das über die Lebenszeit maximale Körpergewicht ist also bei den Mutationsträgern größer als bei den Wildtyp-Trägern.

Körpergewicht ist ein quantitativer Phänotyp. Die Abgrenzung zum Normalen ist dabei letztendlich immer willkürlich. Wir entschieden uns für das 85. Perzentil als Kriterium für Übergewicht (Hebebrand et al., 1994; Himes und Dietz, 1994). Bei der Rekrutierung der Familien in den Kliniken seit 1995 wurde das 95. Perzentil als Kriterium für extreme Adipositas verwendet (Hebebrand et al., 1994). In einer neueren deutschen Studie wird allerdings das 90. Perzentil als Definition für Übergewicht und das 97. Perzentil als Kriterium für Adipositas empfohlen (Kromeyer-Hauschild et al., 2001).

Wir entschieden uns für ein Lebenszeit-Kriterium, da das aktuelle Gewicht durch Lebensumstände, wie z.B. Krankheit, insbesondere aber durch eine momentan durchgeführte oder nur kurz zurückliegende Diät, Schwankungen unterliegen kann. Außerdem war nicht bekannt, in welchem Ausmaß sich *MC4R*-Mutationen im mittleren und höheren Alter auf das Körpergewicht auswirken.

Unsere Befunde sind vereinbar mit einem autosomal kodominanten Erbgang von Übergewicht durch *MC4R*-Mutationen beim Menschen. Lediglich in zwei Fällen (3%) ließ sich bei *MC4R*-Mutationsträgern kein Übergewicht ($\text{BMI} \geq p 85$) nachweisen, jedoch geben beide Personen an, in der Kindheit die Gleichaltrigen an Körpergewicht übertroffen zu haben. Wählt man „extremes Übergewicht“, z.B. das 97. Perzentil (bzw. das 99. Perzentil) als Kriterium, so reduziert sich die Penetranz: Es wären dann 67% (53%) der *MC4R*-Mutationsträger als betroffen einzustufen. Auch andere Arbeitsgruppen finden eine inkomplette Penetranz. Als nicht übergewichtig sind drei Träger einer Frameshift-Mutation beschrieben (Vaisse et al., 2000): Der Index ist eine im *MC4R* für die Mutation Ins g 16 heterozygote Frau mit einem BMI von 41 kg/m². Die Mutter der Patientin, heterozygote Mutationsträgerin, war nie übergewichtig (maximaler BMI 22 kg/m²), wie auch die beiden heterozygoten Brüder der Patientin. Je ein Träger der Mutation Ile 102 Ser (BMI-SDS -0,4) und Ser 50 Cys (BMI SDS 1,1) wird als nicht betroffen beschrieben (Dubern et al., 2001).

Bemerkenswert ist die hohe Phänokopierate, d.h. der große Anteil (62,5 %) der Wildtyp-Träger in unserer Untersuchung, die mindestens einmal im Leben einen BMI entsprechend des 85. Perzentil oder höher erreicht haben. Die hohe Phänokopierate in unserer Untersuchung hat mehrere Gründe:

- 1) Wie oben beschrieben, waren die übergewichtigen Familienmitglieder möglicherweise eher zur Teilnahme an unserer Studie bereit.
- 2) Aufgrund methodischer Probleme sind die erzielten Perzentil-Werte zu hoch (s. o.).
- 3) Auf die Lebenszeit bezogen, sind mehr Personen betroffen als nur unter Berücksichtigung der aktuellen BMI-Werte. Eine Verschiebung in den oberen Gewichtsbereich zeigt sich jedoch auch bei Betrachtung der aktuellen BMI-Werte (Abbildung 3). In der einzigen Studie, die ebenfalls ein Lebenszeit-Kriterium verwendet (Sina et al., 1999), sind lediglich 8 von 21 Wildtyp-Trägern betroffen. Die Daten dieser Untersuchung sind übrigens in unsere Untersuchung eingeflossen (Familien 1 G und H, 5 A).
- 4) Auch die Definition des Phänotyps spielt eine entscheidende Rolle. Fast alle mir bekannten *MC4R*-Familienstudien wählten „extreme Adipositas“ (übrigens mit unterschiedlichen bzw. oftmals nicht angegebenen Definitionen). Für eine 24 Jahre alte

Wildtyp-Trägerin, die Mutter eines Trägers der Mutation Del ctct 211/212, wird z.B. ein BMI von 26 kg/m² und ein BMI-SDS von 1,29 angegeben (Farooqi et al., 2000). Unter der Annahme der Normalverteilung entspricht ein SDS von 1,29 den 90. Perzentil. Somit hätte die Probandin in unserer Studie als „betroffen“ eingestuft werden müssen. Bei der Anwendung des 97. (bzw. 99.) Perzentil auf unsere Daten reduziert sich die Phänokopierate von 62,5% auf 37,6% (bzw. 24,7%).

Die Definitionen des Phänotyps erklärt auch, weswegen für die homozygot gefundene Mutation Asp 62 Ser ein rezessiver Erbgang angenommen wird: Für die vier heterozygoten Träger der Mutation Asp 62 Ser werden BMI-SDS-Werte von 0,68, 1,44, 1,88 und 1,93 beschrieben (Farooqi et al., 2000). Unter Annahme einer Normalverteilung entsprächen diese Werte Prozenträngen von 75, 92, 96 und 97. Drei der heterozygoten Träger wären in unserer Untersuchung als betroffen eingestuft worden.

- 5) Für Adipositas kann allgemein ein polygener Erbgang angenommen werden. Bei fast 35% der extrem übergewichtigen Kinder sind beide Elternteile ebenfalls extrem übergewichtig (Hebebrand et al., 2000). Die hohe Phänokopierate in unseren Familien wäre demnach erklärbar durch eine polygen vererbte Disposition zu Übergewicht und im möglichen Zusammenhang mit einer gerichteten Partnerwahl. Den *MC4R*-Mutationen käme hierbei in unseren Familien ein Hauptgeneffekt zu. Für ein ansonsten polygenes Geschehen spricht die Tatsache, dass zum Index erstgradig verwandte Wildtyp-Träger in unseren Familien tendenziell höhere Gewichte aufweisen als die entfernter verwandten Wildtyp-Träger. Auch Dubern et al. (2001) berichten eine unvollständige Penetranz und Phänokopien in *MC4R*-Familien. Die Befunde veranlassen auch diese Autoren zur Annahme eines polygenen Erbganges.

4.2 Weitere Charakterisierung des Phänotyps der *MC4R*-Mutationsträger

4.2.1 *MC4R*-Mutationen haben möglicherweise beim weiblichen Geschlecht einen größeren Effekt auf das Körpergewicht

Die Mädchen und Frauen mit *MC4R*-Mutationen in unserer Stichprobe haben höhere über die Lebenszeit maximale BMI-SDS-Werte als die Jungen und Männer. Umgekehrt finden sich in unserer Untersuchung höhere Gewichte unter den Wildtyp-Trägern bei den Jungen und Männern. Höhere BMI-SDS-Werte unter den Mutationsträgern beim weiblichen Geschlecht

sind gut vereinbar mit den Befunden bei den *MC4R*^{-/-} und *MC4R*^{+/-}-Mäusen (Huszar et al., 1997).

Unter den in den Kliniken gescreenten übergewichtigen 887 Kindern und Jugendlichen waren 387 Jungen (43%). Generell ist extremes Übergewicht bei Mädchen häufiger und Mädchen werden häufiger wegen Übergewicht vorgestellt. Der Anteil der Jungen unter den Indexpatienten mit relevanten *MC4R*-Mutationen in unserer Untersuchung war jedoch mit 5 von 19 (26%) geringer als der Anteil der Jungen unter den in den Kurkliniken rekrutierten Patienten. Unter dem Vorbehalt der kleinen Zahlen könnte auch dies als Hinweis gewertet werden, dass sich die Mutationen im *MC4R* bei Mädchen stärker auf das Körpergewicht auswirken, und diese daher häufiger als Jungen mit *MC4R*-Mutationen eine stationäre Behandlung in Anspruch nehmen. Der Anteil der männlichen Indexpatienten mit *MC4R*-Mutationen in allen publizierten Untersuchungen - soweit das Geschlecht der Indexpatienten angegeben wurde - beträgt übrigens 28% (Yeo et al., 1998; Vaisse et al., 1998; Gu et al., 1999; Hinney et al., 1999; Sina et al., 1999; Vaisse et al., 2000; Farooqi et al., 2000; Dubern et al., 2001; Mergen et al., 2001; Kobayashi et al., 2002; Jacobson et al., 2002; Miraglia del Guidice et al., 2002; Hinney et al., unveröffentlichte Daten).

4.2.2 Alter bei Beginn des Übergewichts

4.2.2.1 Die Daten aus Vorsorgeuntersuchungen („gelbe Untersuchungshefte“)

Vorsorgeuntersuchungen im Kindes- und Jugendalter gibt es in Deutschland seit 1976. Die Daten können also nur für Jugendliche und heute junge erwachsene Probanden erwartet werden. Hinzu kommt, dass die Vorsorgeuntersuchungen mit zunehmendem Alter des Kindes weniger häufig wahrgenommen werden und ein großer Teil der Untersuchungshefte bei den heute erwachsenen Probanden nicht mehr auffindbar war, so dass wir letztendlich nur 36, zum Teil unvollständige Untersuchungshefte zu Verfügung hatten. Um eine Verzerrung durch die Rekrutierung zu vermeiden, sollten auch bei diesem Vergleich die Indexpatienten ausgeschlossen werden. Das war aber aufgrund der geringen Zahl der dokumentierten Verläufe nicht möglich. Die Indexpatienten sind in den Abbildungen 4 und 5 deswegen mit einem Sternchen (*) gekennzeichnet.

Problematisch ist auch die Auswahl der Vergleichsgruppe: Die betroffenen Wildtyp-Träger sind in der Regel weniger stark übergewichtig als die Mutationsträger, so dass man erwarten kann, dass erstere zu einem späteren Zeitpunkt durch Übergewicht auffallen. Außerdem haben wir von den betroffenen Wildtyp-Trägern lediglich 7 dokumentierte Verläufe (5 Jungen, 2

Mädchen). Zuverlässiger wäre der Vergleich des Alters bei Beginn der Adipositas zwischen Mutationsträgern und für das Gewicht gematchten Wildtyp-Trägern.

Die Daten aus den Vorsorgenuntersuchungen zeigen einen frühen Beginn des Übergewichts bei den Mutationsträgern. Bei den Jungen besteht im Hinblick auf den Zeitpunkt des Beginns des Übergewichts - gemessen am Kreuzen der ersten BMI-SDS - kein deutlicher Unterschied zwischen den Mutationsträgern und den ebenfalls übergewichtigen, Wildtyp-Geschwistern der *MC4R*-Mutationsträger. Ein Unterschied findet sich jedoch bei Betrachtung höherer SDS-Werte: Diese werden von den Mutationsträgern früher erreicht, jedoch weisen die Mutationsträger auch deutlich höhere maximale BMI-SDS-Werte auf.

Ein früher Beginn der Adipositas bei *MC4R*-Mutationsträgern wird von vielen Arbeitsgruppen berichtet. Yeo et al. (1998) beschreiben bei dem Indexpatienten mit der Mutation Del ctct 211/212 bei normalem Geburtsgewicht eine rasante Gewichtszunahme: Ab dem 4. Lebensmonat ist ein Gewicht über dem 98. Perzentil dokumentiert. Auch der Vater des Probanden, ebenfalls Mutationsträger, kreuzte im Alter von 6 Monaten das 98. Gewichtspersentil. Die homozygote Trägerin der Mutation Gly 98 Arg (Kobayashi et al., 2002) sei seit dem 10 Lebensmonat durch Übergewicht aufgefallen. Für den Träger der Mutation Ins gatt 244 wird im Alter von 10 Jahren ein BMI in Bereich von 3 SDS berichtet (Vaisse et al., 1998). Für die beiden heterozygoten Träger der Mutation Ins gt 279 wird ohne genaue Zeitangaben ein „früher Beginn“ der Adipositas angegeben (Farooqi et al., 2000). Ebenso besteht bei Trägern verschiedener *MC4R*-Mutationen eine Adipositas, die bereits im Kindesalter beginnt; im Alter von 20 Jahren haben diese Personen im Vergleich zu adipösen Kontrollpersonen höhere BMI-SDS-Werte (Vaisse et al., 2000). Im Gegensatz hierzu werden von vier Mutationsträgern mit 59 übergewichtigen Kontrollpersonen vergleichbare Zeitpunkte des Umkehrpunktes des BMI (adiposity rebound) berichtet (Dubern et al., 2001). Dieser Umkehrpunkt - darunter versteht man den zweiten BMI-Anstieg, der mit ca. 6 Jahren beginnt (Kromeyer-Hauschild et al., 2001) - ist insofern von Bedeutung, als ein früher Umkehrpunkt als Risikofaktor für eine persistierende Adipositas angesehen wird (Rolland-Cachera et al., 1987). Von der einzigen bekannten Trägerin der Mutation Del c 57 wird berichtet, dass sie erst im Alter von 34 Jahren Übergewicht entwickelte (Jacobson et al., 2002).

4.2.2.2 Retrospektive Angaben zum Körpergewicht relativ zu den Gleichaltrigen

Obwohl nach Gewicht gefragt wird, ist anzunehmen, dass sich die Befragten an ihre Figur (bzw. an die Figur der Kinder) zu den bestimmten Zeitpunkten und nicht tatsächlich an das Gewicht erinnern. Kritisch hierbei ist, wie genau sich die Befragten jeweils ihre Figur relativ

zu den Gleichaltrigen zum jeweiligen Zeitpunkt erinnern bzw. die zeitliche Zuordnung vornehmen können. Ebenso problematisch scheint, dass die Aussagen der Eltern über ihre Kinder und die Aussagen der Probanden selbst in unserer Auswertung zusammenfließen. Hinzu kommt, dass sich die verschiedenen Bezugsgruppen („die Gleichaltrigen“) mit Sicherheit hinsichtlich des Gewichtes bzw. figurlich unterscheiden.

Das Körpergewicht der Indexpatienten und erstgradig verwandter Personen mit *MC4R*-Mutationen wird meist spätestens zu Beginn des Schulalters als größer im Vergleich zu den Gleichaltrigen eingeschätzt. Die zweitgradig Verwandten werden deutlich seltener schwerer als die Gleichaltrigen eingeschätzt. Das Ausmaß dieses Unterschiedes in der subjektiven Einschätzung des Körpergewichtes in der Kindheit und Jugend zwischen erstgradig und entfernter verwandten Mutationsträgern überrascht in Anbetracht des nur geringen Unterschiedes in mittleren maximalen BMI-SDS. Jedoch sind die mehr als erstgradig Verwandten der Indexpatienten überwiegend die Geschwister der Eltern oder gehören zur Generation der Großeltern. Diese werden sich an ihr Gewicht in der Kindheit weniger treffend erinnern können, als dies die Mütter für die Indexpatienten und deren Geschwister tun.

4.2.3 Wachstumsbeschleunigung und normale Endgröße bei *MC4R*-Mutationsträgern

Bei den in den Untersuchungsheften dokumentierten Verläufen weisen *MC4R*-Mutationsträger, gemessen am Lebensalter, große Körperhöhen auf, die - wenn auch in geringerem Ausmaß - auch bei den übergewichtigen Wildtyp-Trägern aus den Familien erscheinen. Aus den wenigen Daten lässt sich nicht ableiten, ob hier ein spezifischer Effekt des *MC4R* vorliegt oder die hohe Wachstumsgeschwindigkeit lediglich eine Funktion des Gewichts darstellt. Es ist jedenfalls bekannt, dass übergewichtige Kinder und Jugendliche vom Kleinkindalter bis zum Alter von ca. 14 Jahren im Vergleich zu Populationsdaten höhere Körpergrößen aufweisen (De Simone et al., 1995). Im Erwachsenenalter jedoch sind die Körpergrößen unauffällig. Auch in unserer Studie fand sich bei den Erwachsenen hinsichtlich der Körpergrößen kein Unterschied zwischen den gewichtigeren *MC4R*-Mutationsträgern und den Wildtyp-Trägern.

4.2.4 Körperfettanteil als Funktion des BMI

Nicht nur das erhöhte Gewicht an sich, sondern vor allem das vermehrte Fettgewebe wird allgemein als gesundheitlicher Risikofaktor angesehen (Wenzel, 1998). Wir haben daher in unserer Untersuchung den prozentualen Körperfettanteil unserer Probanden mit der

Bioimpedanzanalyse gemessen. Nach Korrektur für den BMI zeigte sich in unserer Untersuchung kein Effekt des *MC4R*-Allels auf den Körperfettanteil.

4.2.5 Energie- und Fettaufnahme

Wir verwendeten die von Wolfgang Grassl übersetzte Version des Leeds-FFQ (Grassl, 2002). Die Konstruktion und Validität dieses Fragebogens wird bei Grassl diskutiert. Entscheidend scheint zu sein, dass bezüglich derartiger Fragebogendaten besonders für Übergewichtige ein "Underreporting" gezeigt werden konnte. Außerdem ist der Fragebogen zur Messung der absoluten Energieaufnahme wenig geeignet, da die Probanden keine Nahrungsmengen, sondern lediglich Häufigkeiten des Verzehrs bestimmter Nahrungsmittel angeben. Die Verzehrshäufigkeit wird für die Auswertung mit einer festgelegten Portionsgröße multipliziert.

Eine rezente Untersuchung zeigte eine bei adipösen im Vergleich zu nicht adipösen Kindern und Jugendlichen vermehrte Fettaufnahme und höhere Energiezufuhr (Gillis et al., 2002). In unserer Untersuchung jedoch sind bei Erwachsenen sowohl die Fettaufnahme als auch die Energieaufnahme unabhängig vom BMI und vom *MC4R*-Allel. In einer anderen Untersuchung war die ebenfalls mit einem Fragebogen gemessene mittlere Energieaufnahme bei allen 8 *MC4R*-Mutationsträgern mit einer übergewichtigen Kontrollgruppe vergleichbar (Vaisse et al., 2000).

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt eine tägliche Energiezufuhr von 2300 Kcal für Frauen und 2900 Kcal für Männer (http://www.dge.de/Pages/navigation/dge_datenbank/index.htm). Diese Empfehlung wird im Bevölkerungsdurchschnitt jedoch überschritten. Im Gegensatz wird die empfohlene Kalorienzahl in unserer Untersuchung von fast allen Probanden - laut ihren Angaben in dem Fragebogen - nicht erreicht, so dass die Betrachtung der absoluten Kalorienzahl aus den Fragebogendaten nicht sinnvoll erscheint. Für den Fall, dass jedoch ein Verhältnis richtig abgebildet würde, ergäbe sich eine Unabhängigkeit der Energieaufnahme vom Körpergewicht. Wenn also übergewichtige Personen nicht mehr Energie zuführen als nicht übergewichtige, so müsste dies im Sinne eines niedrigeren Energieverbrauchs der Übergewichtigen gewertet werden. Im Tiermodell wurde z.B. für die *MC4R*^{-/-}-Mäuse eine reduzierte körperliche Aktivität, ein reduzierter Stoffwechsel und eine eingeschränkte Fettsäureoxidation postuliert (Chen et al., 2000b; Ste Marie et al., 2000; Butler et al., 2001).

Auf der anderen Seite steht der z.B. bei Yeo et al. (1998) berichtete große Hunger bei *MC4R*-Mutationsträgern und die bei *MC4R*^{-/-}-Mäusen beobachtete vermehrte Nahrungsaufnahme (Huszar et al., 1997; Chen et al., 2000b) im Widerspruch zu unseren Fragebogendaten.

Wir haben hinsichtlich der Energieaufnahme Personen im Alter zwischen 30 und 50 Jahren untersucht. Möglicherweise besteht eine vermehrte Nahrungsaufnahme bei *MC4R*-Mutationsträgern jedoch nur in der Kindheit und Jugend. Bei jugendlichen *MCR*-Mutationsträgern wird im Rahmen von Testmahlzeiten eine im Vergleich zu Geschwistern ohne *MC4R*-Mutationen doppelte Energiezufuhr, bezogen auf die fettfreie Körpermasse, beobachtet (Farooqi et al., 2000). In der gleichen Studie geben *MC4R*-Mutationsträger ausgeprägten Hunger in der Kindheit an, der sich in der Jugend jedoch abschwächt. Die beiden Schwestern mit der Mutation Asp 274 Ser nahmen bis zu im Alter von 20 Jahren auffällig viel Nahrung zu sich (Mergen et al., 2001).

4.2.6 Fragebogen zum Essverhalten

Die Punktwerte auf den Skalen Hunger, Störbarkeit des Essverhaltens und kognitive Kontrolle des Essverhaltens wurden in unserer Arbeit zwischen den *MC4R*-Mutationsträgern und den Wildtyp-Trägern in den Familien verglichen. Dabei fand sich für keines der drei Konstrukte nach Korrektur für den BMI in der Kovarianzanalyse eine Abhängigkeit vom *MC4R*-Allel. Diese Befunde sind im Einklang mit einer Studie, bei der die Punktwerte von 8 übergewichtigen Mutationsträgern mit den Punktwerten von 201 übergewichtigen nichtverwandten Personen verglichen werden (Vaisse et al., 2000).

Höhere Werte für Hunger bei höheren BMI-Werten finden sich in unserer Untersuchung bei den Frauen (deskriptiver p-Wert: 0,001), und auch bei den Männern ist dieser Zusammenhang in der Grafik sichtbar (Abbildung 13).

Pudel und Westenhöfer (1989) beschreiben hohe Punktwerte für die kognitive Kontrolle bei niedrigem BMI. Dieser Zusammenhang wird in unserer Untersuchung lediglich bei den Frauen ersichtlich.

Bezüglich der Störbarkeit des Essverhaltens sind unsere Ergebnisse jedoch im Einklang mit den Daten von Pudel und Westenhöfer. Es findet sich ein Zusammenhang zwischen niedriger Störbarkeit des Essverhaltens und kleinen BMI-Werten.

4.2.7 Leptin

Die Messungen des Leptins im Serum zeigen den erwarteten Zusammenhang zwischen BMI und Leptinspiegel. Vaisse et al. (2000) fanden beim Vergleich der Leptinspiegel von 8

Mutationsträgern mit 201 ebenso übergewichtigen Wildtyp-Kontrollen keinen Unterschied im Leptinspiegel. In unserer Untersuchung sind beim weiblichen Geschlecht die Leptinspiegel der Mutationsträger gegenüber den Wildtyp-Trägern höher, auch nach Bereinigung für den BMI (deskriptiver p-Wert = 0,033).

Unsere Arbeit zeigt, dass die *MC4R*-Mutationsträger signifikant größeres Körpergewicht aufweisen als die Angehörigen ohne *MC4R*-Mutationen. Insgesamt sind die Ergebnisse vereinbar mit einem autosomal kodominanten Erbgang von Übergewicht durch *MC4R*-Mutationen. Es darf ein Hauptgeneffekt des *MC4R* für den Phänotyp Adipositas angenommen werden.

Unter dem Vorbehalt der kleinen Anzahl der Probanden und methodischer Probleme bei den Fragebogendaten legen die deskriptiven Untersuchungen folgendes Ergebnis nahe:

Eventuelle Unterschiede zwischen den *MC4R*-Mutationsträgern und den Wildtyp-Trägern in den untersuchten Eigenschaften wie z.B. der frühe Beginn des Übergewichts, das beschleunigte Längenwachstum, der hohe Körperfettanteil und die hohen Leptinspiegel sind eher ein Effekt des bei den *MC4R*-Mutationsträgern höheren Gewichtes, und damit indirekte Effekte des *MC4R*.

Sofern der fehlende Nachweis einer vermehrten Energiezufuhr bei den Mutationsträgern im Vergleich zu den Wildtyp-Trägern nicht auf einem Artefakt beruht (wie z.B. einem „Underreporting“ der Mutationsträger), muss ein bei den Mutationsträgern verminderter Energieverbrauch als Ursache für das höhere Gewicht der Mutationsträger angenommen werden.

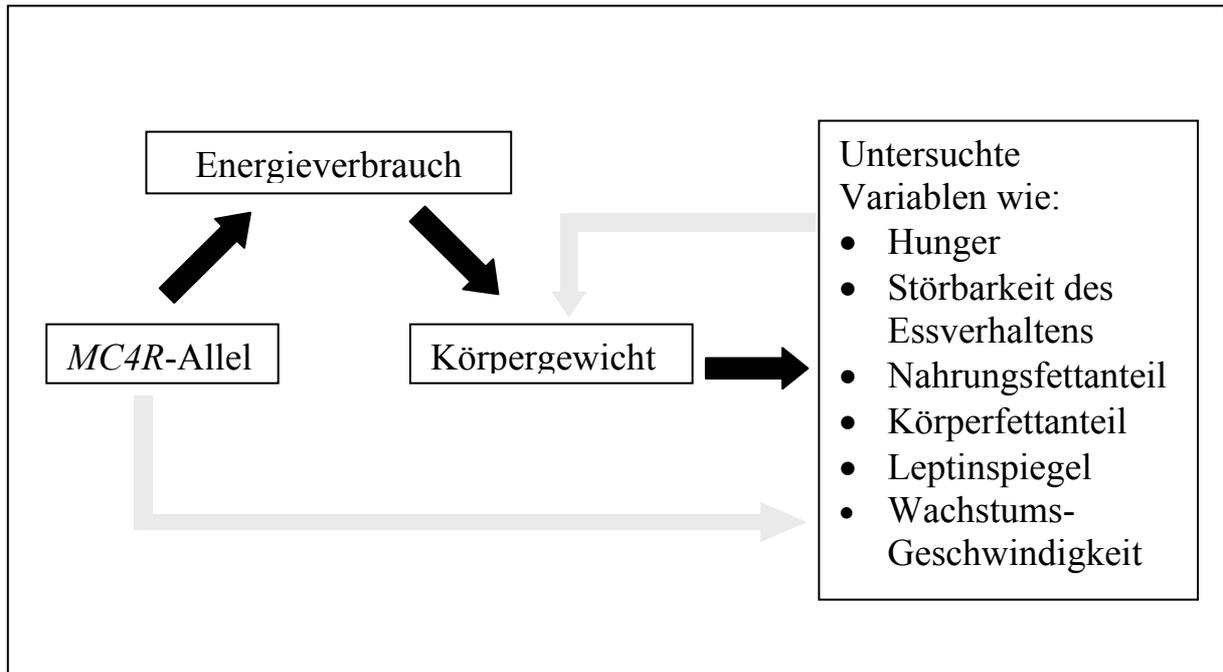


Abbildung 20: *MC4R*-Mutationsträger haben ein signifikant höheres Körpergewicht als Wildtyp-Träger. Die Unterschiede zwischen den Mutationsträgern und den Wildtyp-Trägern in den weiteren von uns untersuchten Variablen sind eher ein Effekt des bei den Mutationsträgern höheren Gewichtes als ein direkter Effekt der *MC4R*-Mutationen. Da bei den Mutationsträgern keine vermehrte Energiezufuhr nachgewiesen werden konnte, könnte ein reduzierter Energieverbrauch den Unterschied im Körpergewicht begründen.

Die hier vorgestellten Ergebnisse belegen die Bedeutung der *MC4R*-Mutationen als monogene Form der Adipositas beim Menschen. Weitere Anstrengungen sollten unternommen werden, um den Mechanismus der Entstehung und Aufrechterhaltung der Adipositas bei *MC4R*-Mutationsträgern zu beleuchten. Die Untersuchung von nicht betroffenen *MC4R*-Mutationsträgern könnte Hinweise für eine mögliche Intervention bei den betroffenen Mutationsträgern ergeben. Auch können wir aus dem Wissen über die Mechanismen des melanokortinergen Systems auf Therapieoptionen für die weit häufigere allgemeine Adipositas hoffen. Weiter Untersuchungen sollten durchgeführt werden, um die Frage nach Begleitsymptomen bei *MC4R*-Mutationsträgern abschließend zu klären.

5 Zusammenfassung

Nachdem durch Knockout-Mäuse die Bedeutung des Melanokortin-4-Rezeptors für die Gewichtsregulation gezeigt werden konnte, wurden zwischenzeitlich bei extrem adipösen Menschen 38 verschiedene nicht-synonyme Mutationen im Gen des Melanokortin-4-Rezeptors nachgewiesen.

Mehrere Arbeitsgruppen veröffentlichten Stammbäume, die eine Kosegregation der Adipositas mit Melanokortin-4-Rezeptor-Mutationen zeigen. Obwohl überwiegend ein autosomal dominanter Erbgang angenommen wird, ist der Erbmodus noch nicht definitiv geklärt.

Ausgehend von extrem adipösen Personen aus 887 Familien fanden wir in 28 Familien 17 verschiedene Mutationen im Melanokortin-4-Rezeptor-Gen. In 26 Familien konnten wir insgesamt 210 Familienmitglieder auf Mutationen untersuchen. Außerdem erfolgte eine Bestimmung des Leptins. Anthropometrische Daten wie Körpergröße, Gewicht, Waist-Hip-Ratio und Körperfettgehalt wurden bestimmt. Neben einer ausführlichen Anamnese zum Körpergewicht wurden Daten zum Essverhalten ermittelt.

Aus Körpergröße und Gewicht wurde der BMI kalkuliert. Der Abstand des errechneten BMI vom alters- und geschlechtsspezifischen Mittelwert wurde in Vielfachen der Standardabweichung dargestellt (SDS). Wir berechneten an Hand von retrospektiven Selbstangaben die über die Lebenszeit maximalen BMI-SDS-Werte.

Das Körpergewicht der Mutationsträger war in unserer Untersuchung mit einem mittleren maximalen BMI-SDS von 3,30 gegenüber Wildtyp-Trägern mit einem maximalen BMI-SDS von 1,63 deutlich höher. Zum Test auf Kopplungsungleichgewicht wurde ein Permutationstest durchgeführt. Der Unterschied im (über die Lebenszeit maximalen) BMI-SDS war dabei signifikant ($p = 0,0008$). Der Effekt einer heterozygoten Mutation im Melanokortin-4-Rezeptor-Gen auf das Körpergewicht kann entsprechend durchschnittlich 5,1 BMI-Punkten bei einem 35 Jahre alten Mann bei 180 cm Körperhöhe mit 16,5 Kg veranschlagt werden.

Trotz des signifikanten Gewichtsunterschiedes zwischen den Melanokortin-4-Rezeptor-Mutationsträgern und den Wildtyp-Trägern war die Penetranz hinsichtlich des Phänotyps Übergewicht unvollständig, und die Phänokopierate betrug 62,5%.

Die hohe Phänokopierate und die Tatsache, dass unter den Wildtyp-Trägern das Körpergewicht bei den zum Indexpatienten entfernter verwandten Personen im Vergleich zu den erstgradig verwandten abnimmt, werten wir als Hinweis, dass in den Familien zusätzlich

zu den Mutationen im Melanokortin-4-Rezeptor-Gen eine polygen vererbte Disposition für Übergewicht vorliegt.

Wie auch im Tiermodell sind die weiblichen Mutationsträger in unserer Untersuchung stärker betroffen als die männlichen Mutationsträger.

Die in der Literatur überwiegend beschriebene frühmanifeste Form der Adipositas durch Melanokortin-4-Rezeptor-Mutationen wird durch unsere Daten bestätigt, jedoch sind auch die Wildtyp-Träger, sofern sie übergewichtig sind, bereits früh betroffen.

Das Wachstum ist bei den Melanokortin-4-Rezeptor-Mutationsträgern beschleunigt. Ihre Endgröße ist aber vergleichbar mit der Endgröße der Wildtyp-Träger.

Die für das Gewicht bereinigten Effekte des Melanokortin-4-Rezeptor-Allels hinsichtlich des prozentualen Körperfettanteils, für den Anteil von Fett an der mit der Nahrung aufgenommenen Gesamtenergie und für die Variablen Hunger, kognitive Kontrolle des Essverhaltens und Störbarkeit des Essverhaltens sind gering. Lediglich die Leptinspiegel sind auch BMI-korrigiert bei den weiblichen Mutationsträgern deutlich höher.

Die Unterschiede hinsichtlich der untersuchten Merkmale zwischen den Mutationsträgern und den Wildtyp-Trägern sind eher ein Effekt des bei den Mutationsträgern höheren Gewichtes als ein eigenständiger Effekt der Melanokortin-4-Rezeptor-Mutationen.

Unsere Ergebnisse sind vereinbar mit einem autosomal kodominantem Erbgang von Übergewicht durch Melanokortin-4-Rezeptor-Mutationen beim Menschen. Ein Hauptgeneffekt des Melanokortin-4-Rezeptor-Gens kann angenommen werden.

6 Literaturverzeichnis

Adan RA, Gispen WH:

Melanocortins and the brain: from effects via receptors to drug targets.

Eur J Pharmacol (2000), 405: 13-24.

Ahima RS, Flier JS:

Leptin.

Annu Rev Physiol (2000), 62: 413-437.

Argyropoulos G, Rankinen T, Neufeld DR, Rice T, Province MA, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bouchard C:

A polymorphism in the human agouti-related protein is associated with late-onset obesity.

J Clin Endocrinol Metab (2002), 87: 4198-4202.

Bednarek MA, Macneil T, Kalyani RN, Tang R, Van der Ploeg LH, Weinberg DH:

Analogs of MTH, lactam derivatives of alpha-melanotropin, modified at the N-terminus, and their selectivity at human melanocortin receptors 3, 4, and 5.

Biochem Biophys Res Commun (1999), 261: 209-213.

Bennett RL, Steinhaus KA, Uhrich SB, O'Sullivan CK, Resta RG, Lochner-Doyle D, Markel DS, Vincent V, Hamanishi J:

Recommendations for standardized human pedigree nomenclature. Pedigree Standardization Task Force of the National Society of Genetic Counselors.

Am J Hum Genet (1995), 56: 745-752.

Blum WF, Juul A:

Reference ranges of serum leptin levels according to body mass index, gender and developmental stage.

In: Rascher W: Leptin - the voice of adipose tissue. Heidelberg und Leipzig (1997): 318-326.

Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm HL:

Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain.

Nat Neurosci (2002), 5: 514-516.

Bulik CM, Wade TD, Heath AC, Martin NG, Stunkard AJ, Eaves LJ:

Relating body mass index to figural stimuli: population-based normative data for Caucasians.

Int J Obes Relat Metab Disord (2001), 25: 1517-1524.

Butler A, Cone R:

The melanocortin receptors: Lessons from knockout models.

Neuropeptides (2002), 36: 77-84.

Butler AA, Kesterson RA, Khong K, Cullen MJ, Pellemounter MA, Dekoning J, Baetscher M, Cone RD:

A unique metabolic syndrome causes obesity in the melanocortin-3 receptor-deficient mouse.

Endocrinology (2000), 141: 3518-3521.

- Butler AA, Marks DL, Fan W, Kuhn CM, Bartolome M, Cone RD:
Melanocortin-4 receptor is required for acute homeostatic responses to increased dietary fat.
Nat Neurosci (2001), 4: 605-611.
- Challis BG, Pritchard LE, Creemers JW, Delplanque J, Keogh JM, Luan J, Wareham NJ, Yeo GS, Bhattacharyya S, Froguel P, White A, Farooqi IS, O'Rahilly S:
A missense mutation disrupting a dibasic prohormone processing site in pro-opiomelanocortin (POMC) increases susceptibility to early-onset obesity through a novel molecular mechanism.
Hum Mol Genet (2002), 11: 1997-2004.
- Chen AS, Marsh DJ, Trumbauer ME, Frazier EG, Guan XM, Yu H, Rosenblum CI, Vongs A, Feng Y, Cao L, Metzger JM, Strack AM, Camacho RE, Mellin TN, Nunes CN, Min W, Fisher J, Gopal-Truter S, MacIntyre DE, Chen HY, Van der Ploeg LH:
Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass.
Nat Genet (2000a), 26: 97-102.
- Chen AS, Metzger JM, Trumbauer ME, Guan XM, Yu H, Frazier EG, Marsh DJ, Forrest MJ, Gopal-Truter S, Fisher J, Camacho RE, Strack AM, Mellin TN, MacIntyre DE, Chen HY, Van der Ploeg LH:
Role of the melanocortin-4 receptor in metabolic rate and food intake in mice.
Transgenic Res (2000b), 9: 145-154.
- Chen W, Kelly MA, Opitz-Araya X, Thomas RE, Low MJ, Cone RD:
Exocrine gland dysfunction in MC5-R-deficient mice: evidence for coordinated regulation of exocrine gland function by melanocortin peptides.
Cell (1997), 91: 789-798.
- Clapham JC, Arch JR, Tadayyon M:
Anti-obesity drugs: a critical review of current therapies and future opportunities.
Pharmacol Ther (2001), 89: 81-121.
- Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gormelen M, Dina C, Chambaz J, Lacorte JM, Basdevant A, Bougneres P, Lebouc Y, Froguel P, Guy-Grand B:
A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction.
Nature (1998), 392: 398-401.
- Cody JD, Reveles XT, Hale DE, Lehman D, Coon H, Leach RJ:
Haplosufficiency of the melanocortin-4 receptor gene in individuals with deletions of 18q.
Hum Genet (1999), 105: 424-427.
- Cooling J, Blundell J:
Differences in energy expenditure and substrate oxidation between habitual high fat and low fat consumers (phenotypes).
Int J Obes Relat Metab Disord (1998), 22: 612-618.

De Simone M, Farello G, Palumbo M, Gentile T, Ciuffreda M, Oliosio P, Cinque M, De Matteis F:

Growth charts, growth velocity and bone development in childhood obesity.

Int J Obes Relat Metab Disord (1995), 19: 851-857.

Dubern B, Clement K, Pelloux V, Froguel P, Girardet JP, Guy-Grand B, Tounian P:

Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti-related protein, and alpha-melanocyte-stimulating hormone genes in severely obese children.

J Pediatr (2001), 139: 204-209.

Elias LL, Clark AJ:

The expression of the ACTH receptor.

Braz J Med Biol Res (2000), 33: 1245-1248.

Fan W, Boston BA, Kesterson RA, Hrubby VJ, Cone RD:

Role of melanocortineric neurons in feeding and the agouti obesity syndrome.

Nature (1997), 385: 165-168.

Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA, McCamish MA, O'Rahilly S:

Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency.

N Engl J Med (1999), 341: 879-884.

Farooqi IS, Keogh JM, Kamath S, Jones S, Gibson WT, Trussell R, Jebb SA, Lip GY, O'Rahilly S:

Partial leptin deficiency and human adiposity.

Nature (2001), 414: 34-35.

Farooqi IS, Yeo GS, Keogh JM, Aminian S, Jebb SA, Butler G, Cheetham T, O'Rahilly S:
Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency.

J Clin Invest (2000), 106: 271-279.

Fehm HL, Smolnik R, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Born J:

The melanocortin melanocyte-stimulating hormone/adrenocorticotropin(4-10) decreases body fat in humans.

J Clin Endocrinol Metab (2001), 86: 1144-1148.

Gantz I, Miwa H, Konda Y, Shimoto Y, Tashiro T, Watson SJ, DelValle J, Yamada T:

Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor.

J Biol Chem (1993), 268: 15174-15179.

Gillis LJ, Kennedy LC, Gillis AM, Bar-Or O:

Relationship between juvenile obesity, dietary energy and fat intake and physical activity.

International journal of obesity and related metabolic disorders journal of the International Association for the Study of Obesity (2002), 26: 458-463.

Gotoda T, Scott J, Aitman TJ:

Molecular screening of the human melanocortin-4 receptor gene: identification of a missense variant showing no association with obesity, plasma glucose, or insulin.

Diabetologia (1997), 40: 976-979.

Grassl W:

Einflüsse des Fettanteils in der Nahrung auf die Entstehung und Ausprägung von Übergewicht.

Promotionsschrift (eingereicht). Marburg (2002).

Gu W, Tu Z, Kleyn PW, Kissebah A, Duprat L, Lee J, Chin W, Maruti S, Deng N, Fisher SL, Franco LS, Burn P, Yagaloff KA, Nathan J, Heymsfield S, Albu J, Pi-Sunyer FX, Allison DB: Identification and functional analysis of novel human melanocortin-4 receptor variants.

Diabetes (1999), 48: 635-639.

Hebebrand J, Fichter M, Gerber G, Goerg T, Hermann H, Geller F, Schaefer H, Remschmidt H, Hinney A:

Genetic predisposition to obesity in bulimia nervosa: a mutation screen of the melanocortin-4 receptor gene.

Mol Psychiatry (2002), 7: 647-651.

Hebebrand J, Hesecker H, Himmelman W, Schäfer W, Remschmidt H:

Altersperzentilen für den Body-Mass-Index aus Daten der Nationalen Verzehrsstudie einschließlich einer Übersicht zu relevanten Einflußfaktoren.

Aktuelle Ernährungsmedizin (1994), 19: 259-265.

Himes JH, Dietz WH:

Guidelines for overweight in adolescent preventive services: recommendations from an expert committee. The Expert Committee on Clinical Guidelines for Overweight in Adolescent Preventive Services.

American journal of clinical nutrition, The (1994), 59: 307-316.

Hinney A, Schmidt A, Nottebom K, Heibult O, Becker I, Ziegler A, Gerber G, Sina M, Goerg T, Mayer H, Siegfried W, Fichter M, Remschmidt H, Hebebrand J:

Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans.

J Clin Endocrinol Metab (1999), 84: 1483-1486.

Ho G, MacKenzie RG:

Functional characterization of mutations in melanocortin-4 receptor associated with human obesity.

J Biol Chem (1999), 274: 35816-35822.

Huang Q, Viale A, Picard F, Nahon J, Richard D:
Effects of leptin on melanin-concentrating hormone expression in the brain of lean and obese Lep(ob)/Lep(ob) mice.
Neuroendocrinology (1999), 69: 145-153.

Huszar D, Lynch CA, Fairchild-Huntress V, Dunmore JH, Fang Q, Berkemeier LR, Gu W, Kesterson RA, Boston BA, Cone RD, Smith FJ, Campfield LA, Burn P, Lee F:
Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice.
Cell (1997), 88: 131-141.

Jackson RS, Creemers JW, Ohagi S, Raffin-Sanson ML, Sanders L, Montague CT, Hutton JC, O'Rahilly S:
Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene.
Nat Genet (1997), 16: 303-306.

Jacobson P, Ukkola O, Rankinen T, Snyder EE, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Lonn L, Cowan GS, Jr., Sjostrom L, Bouchard C:
Melanocortin 4 Receptor Sequence Variations Are Seldom a Cause of Human Obesity: The Swedish Obese Subjects, the HERITAGE Family Study, and a Memphis Cohort.
J Clin Endocrinol Metab (2002), 87: 4442-4446.

Kask A, Rago L, Wikberg JE, Schioth HB:
Differential effects of melanocortin peptides on ingestive behaviour in rats: evidence against the involvement of MC(3) receptor in the regulation of food intake.
Neurosci Lett (2000), 283: 1-4.

Kobayashi H, Ogawa Y, Shintani M, Ebihara K, Shimodahira M, Iwakura T, Hino M, Ishihara T, Ikekubo K, Kurahachi H, Nakao K:
A Novel homozygous missense mutation of melanocortin-4 receptor (MC4R) in a Japanese woman with severe obesity.
Diabetes (2002), 51: 243-246.

Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, Geller F, Geiß HC, Hesse V, Hippel von A:
Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben.
Monatsschrift Kinderheilkunde (2001), 149: 807-818.

Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Gruters A:
Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans.
Nat Genet (1998), 19: 155-157.

Li WD, Joo EJ, Furlong EB, Galvin M, Abel K, Bell CJ, Price RA:
Melanocortin 3 receptor (MC3R) gene variants in extremely obese women.
Int J Obes Relat Metab Disord (2000), 24: 206-210.

Marinissen MJ, Gutkind JS:

G-protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms.
Trends in pharmacological sciences (2001), 22: 368-376.

Marks DL, Ling N, Cone RD:

Role of the central melanocortin system in cachexia.
Cancer Res (2001), 61: 1432-1438.

Mergen M, Mergen H, Ozata M, Oner R, Oner C:

A novel melanocortin 4 receptor (MC4R) gene mutation associated with morbid obesity.
J Clin Endocrinol Metab (2001), 86: 3448.

Miltenberger RJ, Mynatt RL, Wilkinson JE, Woychik RP:

The role of the agouti gene in the yellow obese syndrome.
J Nutr (1997), 127: 1902S-1907S.

Miraglia Del Giudice E, Cirillo G, Nigro V, Santoro N, D'Urso L, Raimondo P, Cozzolino D, Scafato D, Perrone L:

Low frequency of melanocortin-4 receptor (MC4R) mutations in a Mediterranean population with early-onset obesity.
Int J Obes Relat Metab Disord (2002), 26: 647-651.

Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S:
Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans.
Nature (1997), 387: 903-908.

Naggert JK, Fricker LD, Varlamov O, Nishina PM, Rouille Y, Steiner DF, Carroll RJ, Paigen BJ, Leiter EH:

Hyperproinsulinaemia in obese fat/fat mice associated with a carboxypeptidase E mutation which reduces enzyme activity.
Nat Genet (1995), 10: 135-142.

Nagle DL, McGrail SH, Vitale J, Woolf EA, Dussault BJ, Jr., DiRocco L, Holmgren L, Montagno J, Bork P, Huszar D, Fairchild-Huntress V, Ge P, Keilty J, Ebeling C, Baldini L, Gilchrist J, Burn P, Carlson GA, Moore KJ:

The mahogany protein is a receptor involved in suppression of obesity.
Nature (1999), 398: 148-152.

Neves SR, Ram PT, Iyengar R:

G protein pathways.
Science (2002), 296: 1636-1639.

Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz I, Barsh GS:

Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein.
Science (1997), 278: 135-138.

Ong KK, Ahmed ML, Emmett PM, Preece MA, Dunger DB:
Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study.

BMJ Clinical research ed (2000), 320: 967-971.

Palmer JS, Duffy DL, Box NF, Aitken JF, O'Gorman LE, Green AC, Hayward NK, Martin NG, Sturm RA:

Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype?

Am J Hum Genet (2000), 66: 176-186.

Pierroz DD, Ziotopoulou M, Ungsunan L, Moschos S, Flier JS, Mantzoros CS:

Effects of acute and chronic administration of the melanocortin agonist MTII in mice with diet-induced obesity.

Diabetes (2002), 51: 1337-1345.

Pudel V, Westenhöfer J:

Fragebogen zum Eßverhalten (FEV) - Handanweisung.

Verlag für Psychologie Dr. C. J. Hogrefe., Göttingen (1989).

Reizes O, Lincecum J, Wang Z, Goldberger O, Huang L, Kaksonen M, Ahima R, Hinkes MT, Barsh GS, Rauvala H, Bernfield M:

Transgenic expression of syndecan-1 uncovers a physiological control of feeding behavior by syndecan-3.

Cell (2001), 106: 105-116.

Rolland-Cachera MF, Deheeger M, Guillaud-Bataille M, Avons P, Patois E, Sempe M:

Tracking the development of adiposity from one month of age to adulthood.

Ann Hum Biol (1987), 14: 219-229.

Schioth HB, Petersson S, Muceniece R, Szardenings M, Wikberg JE:

Deletions of the N-terminal regions of the human melanocortin receptors.

FEBS Lett (1997), 410: 223-228.

Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG:

Central nervous system control of food intake.

Nature (2000), 404: 661-671.

Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald PI, Hodgdon JA, Van Itallie TB:

Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study.

Am J Clin Nutr (1988), 47: 7-14.

- Sina M, Hinney A, Ziegler A, Neupert T, Mayer H, Siegfried W, Blum WF, Remschmidt H, Hebebrand J:
Phenotypes in three pedigrees with autosomal dominant obesity caused by haploinsufficiency mutations in the melanocortin-4 receptor gene.
Am J Hum Genet (1999), 65: 1501-1507.
- Sorensen TI, Stunkard AJ:
Does obesity run in families because of genes? An adoption study using silhouettes as a measure of obesity.
Acta Psychiatr Scand Suppl (1993), 370: 67-72.
- Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ:
Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM).
Am J Hum Genet (1993), 52: 506-516.
- Ste Marie L, Miura GI, Marsh DJ, Yagaloff K, Palmiter RD:
A metabolic defect promotes obesity in mice lacking melanocortin-4 receptors.
Proc Natl Acad Sci U S A (2000), 97: 12339-12344.
- Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD:
A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity.
Nat Genet (1998), 18: 213-215.
- Stunkard AJ, Messick S:
The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger.
J Psychosom Res (1985), 29: 71-83.
- Vaisse C, Clement K, Durand E, Hercberg S, Guy-Grand B, Froguel P:
Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity.
J Clin Invest (2000), 106: 253-262.
- Vaisse C, Clement K, Guy-Grand B, Froguel P:
A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity.
Nat Genet (1998), 20: 113-114.
- Van-der-Ploeg L-HT, Martin W-J, Howard A-D, Nargund R-P, Austin C-P, Guan X, Drisko J, Cashen D, Sebat I, Patchett A-A, Figueroa D-J, DiLella A-G, Connolly B-M, Weinberg D-H, Tan C-P, Palyha O-C, Pong S-S, MacNeil T, Rosenblum C, Vongs A, Tang R, Yu H, Sailer A-W, Fong T-M, Huang C, Tota M-R, Chang R-S, Stearns R, Tamvakopoulos C, Christ G, Drazen D-L, Spar B-D, Nelson R-J, MacIntyre DE:
A role for the melanocortin 4 receptor in sexual function.
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (2002), 99: 11381-11386.

Vergoni AV, Bertolini A:

Role of melanocortins in the central control of feeding.

Eur J Pharmacol (2000), 405: 25-32.

Wessells H, Gralnek D, Dorr R, Hruby VJ, Hadley ME, Levine N:

Effect of an alpha-melanocyte stimulating hormone analog on penile erection and sexual desire in men with organic erectile dysfunction.

Urology (2000), 56: 641-646.

Wenzel H:

Definition, Klassifikation und Messung der Adipositas.

In: Wechsler G: Adipositas. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin (1998): 45-59.

Wisse BE, Frayo RS, Schwartz MW, Cummings DE:

Reversal of cancer anorexia by blockade of central melanocortin receptors in rats.

Endocrinology (2001), 142: 3292-3301.

Yang YK, Fong TM, Dickinson CJ, Mao C, Li JY, Tota MR, Mosley R, Van Der Ploeg LH, Gantz I:

Molecular determinants of ligand binding to the human melanocortin-4 receptor.

Biochemistry (2000), 39: 14900-14911.

Yaswen L, Diehl N, Brennan MB, Hochgeschwender U:

Obesity in the mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin.

Nat Med (1999), 5: 1066-1070.

Yeo GS, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, Stanhope RG, O'Rahilly S:

A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity.

Nat Genet (1998), 20: 111-112.

Zhu X, Wess J:

Truncated V2 vasopressin receptors as negative regulators of wild-type V2 receptor function.

Biochemistry (1998), 37: 15773-15784.

7 Anhang

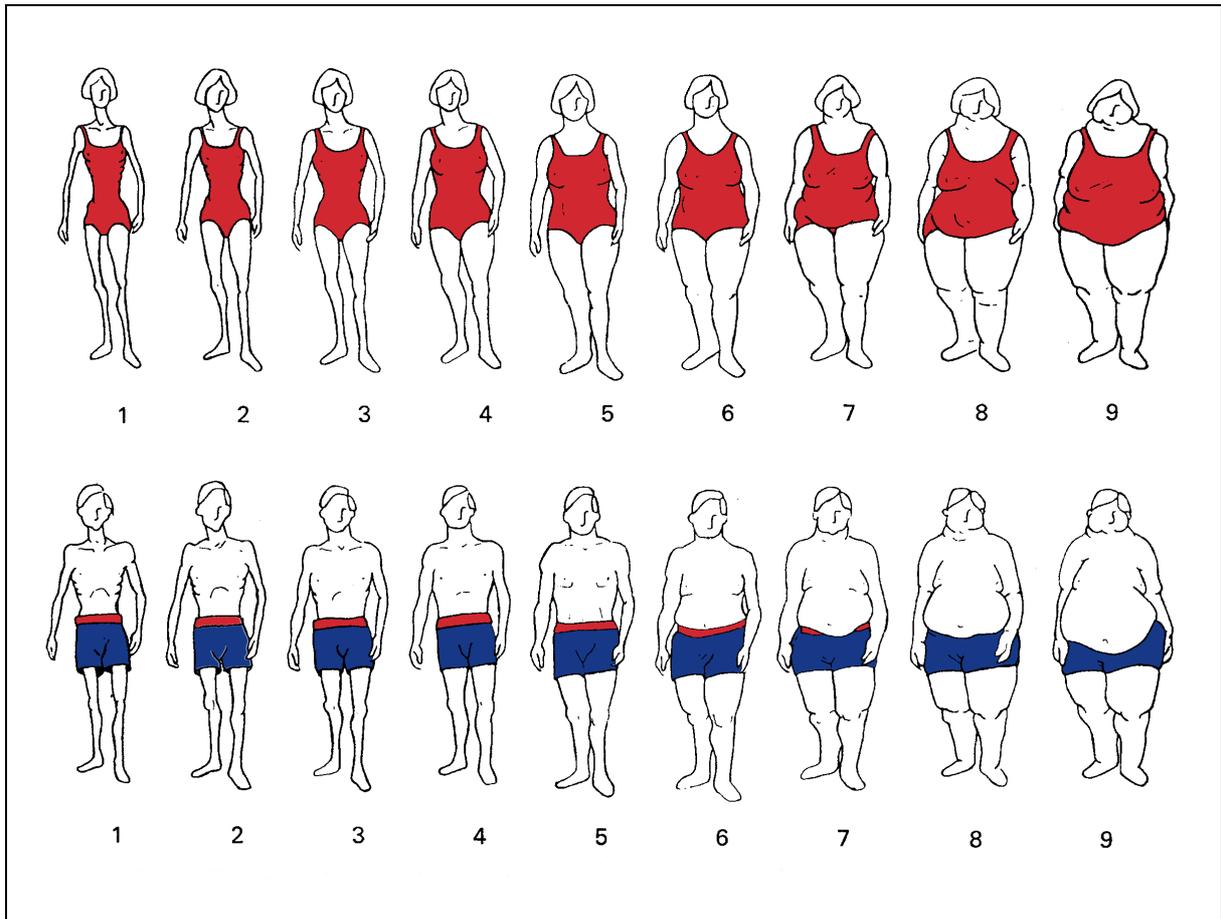


Abbildung 21: Silhouetten zur Abschätzung des BMI (Sorensen und Stunkard, 1993; Bulik et al., 2001). Diese Silhouette legten wir der Kernfamilie vor, um der Untersuchung nicht zugängliche Angehörige einzuschätzen. Urteile \geq Nummer 6 wurden, entsprechend einem BMI über dem 85. Perzentil in unseren Stammbäumen als betroffen eingestuft. Die Urteile sind mit S und der entsprechenden Nummer der Figur in den Stammbäumen dokumentiert.

Familienstammbäume / Legende

In diesem Abschnitt sind die Stammbäume aller 26 untersuchten Familien mit *MC4R*-Mutationen dargestellt.

Weitere Daten zu den Familienmitgliedern finden sich in der Tabelle im Anschluss.

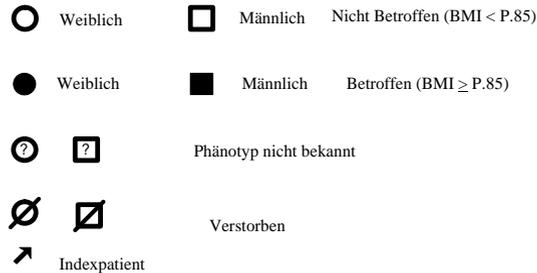
In den Familien 1 A bis 6 A segregieren Mutationen, die nach der *in vitro*-Untersuchung zu einem völligen Funktionsverlust des Rezeptors führen.

Die Mutationen in den Familien 7 A bis 11 A bedingen eine reduzierte Rezeptorfunktion.

Die Mutationen in den Familien 12 A bis 14 A bedingen Rezeptorvarianten, die zumindest *in vitro* wie der Wildtyp-Rezeptor funktionieren.

Die Index-Patienten in den Familien 15 A und 16 A sind compound-heterozygot, d.h. es wurde je eine Mutation vom Vater und eine Mutation von der Mutter ererbt.

Die Mutation in Familie 17 A ist derzeit funktionell noch nicht eindeutig charakterisiert.



SDS = standard deviation score: maximale Abweichung des BMI vom alters- und geschlechtsabhängigen Bevölkerungsdurchschnitt in Vielfachen der Standardabweichung.

Wir wählten in der Darstellung die SDS-Werte des BMI, da die Perzentile in den Extrembereichen nicht mehr differenzieren.

SDS 1 entspricht in etwa dem 85. Perzentil (Übergewicht);

SDS 1,6 entspricht etwa dem 95. Perzentile (extreme Adipositas).

S = score entsprechend den Silhouetten von Sorensen (Sorensen, 1993).

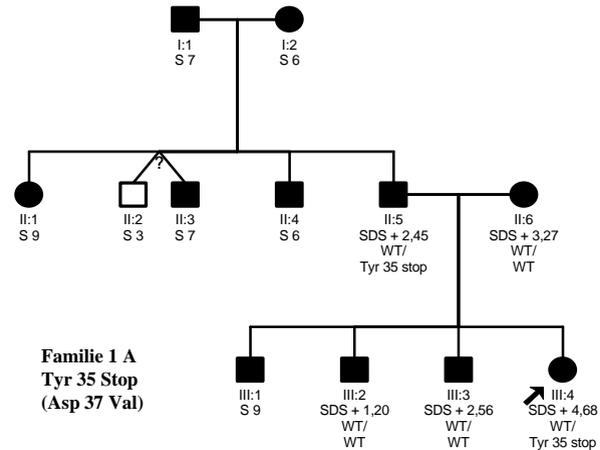
Urteile der Angehörigen ≥ 6 werteten wir als „betroffen“

WT = Wildtyp Allel

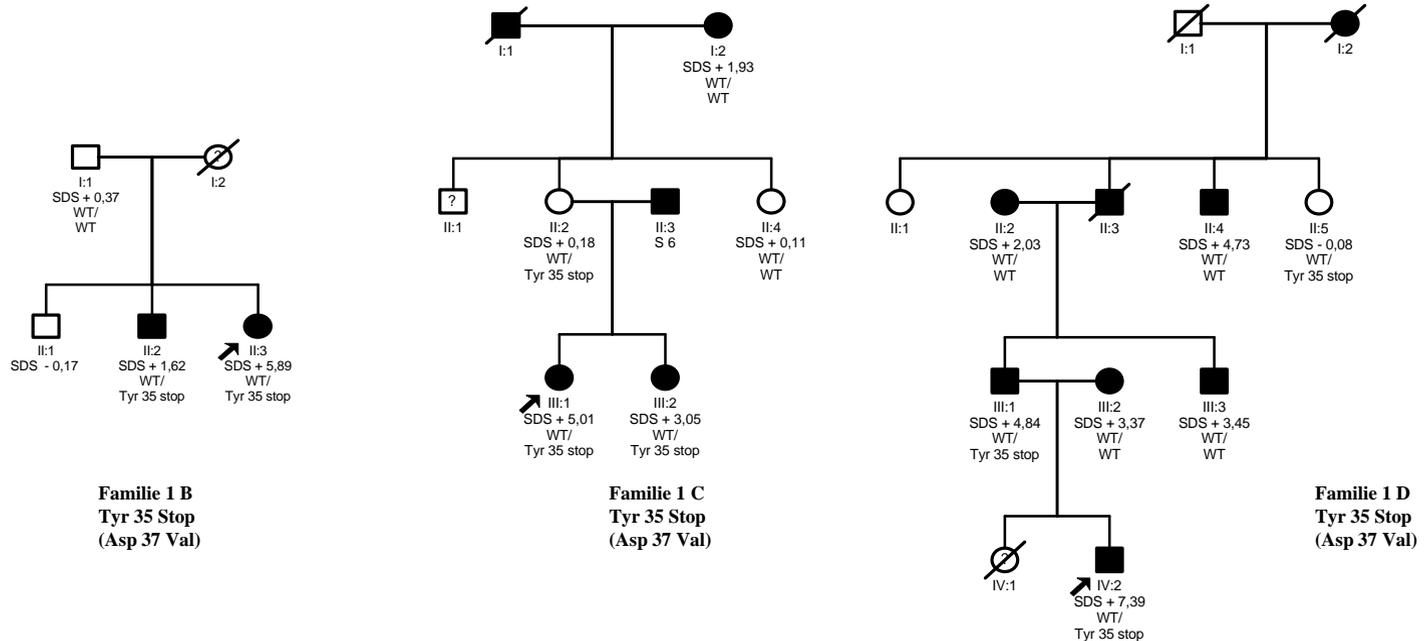
MC4R-Mutationen mit Funktionsverlust Familien 1 A - H

Stammbäume 1 A bis 1 H: 8 Familien, in denen sich die Nonsensemutation (Tyr 35 Stop) fand: Durch eine Punktmutation (Austausch des Nucleosids 106 Cytidin gegen Adenosin) entsteht in Position 35 ein Stopcodon, dementsprechend kommt es zum Abbruch der Synthese des Rezeptorproteins nach 35 Aminosäuren. Als Haplotyp kommt in allen Familien 1 A bis H der Basenaustausch in Position 110 vor. Es handelt sich hierbei um eine Mutation, die zum völligen Funktionsverlust des Rezeptors führt.

Die Familienstammbäume 1 G und 1 H wurden bereits zu einem früheren Zeitpunkt erhoben (Sina, 1999).



MC4R-Mutationen mit Funktionsverlust Familien 1 A - H



Familie 1 C: Die Mutter (II:2) der Indexpatientin ist eine von nur zwei Mutationsträgern, für die zu keinem Zeitpunkt ein BMI $\geq p 85$ nachgewiesen werden konnte. Jedoch gibt die Probandin an, im Alter zwischen 3 bis 10 Jahren eher schwerer als die gleichaltrigen Kinder gewesen zu sein. Obwohl sie niemals übergewichtig war, führt sie seit dem 14. Lebensjahr regelmäßig Diäten durch, darunter auch mehrere Nulldiäten.

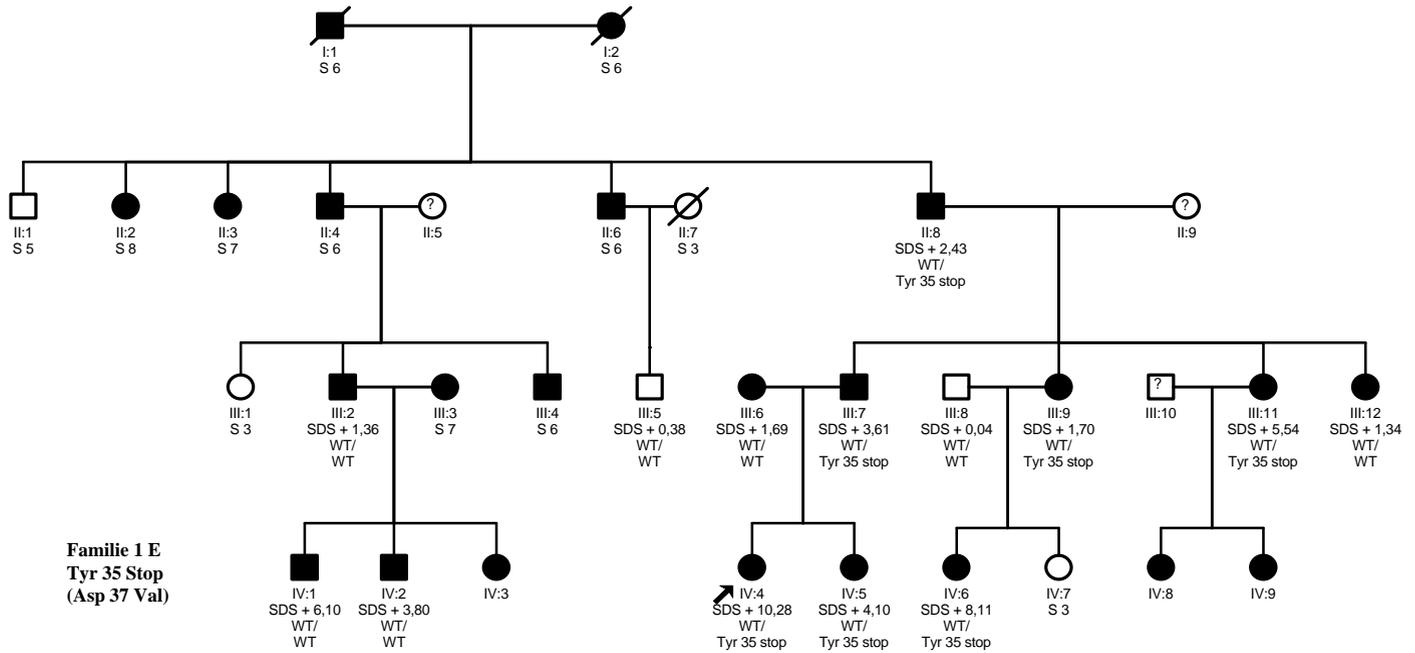
Familie 1 D: Das Geschwisterkind (IV:1) des Index (IV:2) verstarb am plötzlichen Kindstod.

Für die Großtante (II:5), die heterozygote Mutationsträgerin ist, konnte zu keinem Zeitpunkt ein BMI $\geq p 85$ gezeigt werden. Jedoch gibt sie an, in der Kindheit zwischen 6 und 10 Jahren eher schwerer als die Gleichaltrigen gewesen zu sein. Seither sei sie eher leichter als die Gleichaltrigen.

Seit dem 14. Lebensjahr sei sie ständig auf Diät, und auch heute fällt ihr restriktives Essverhalten auf: kognitive Kontrolle des Essverhaltens im FEV = 20, erlebte Hungergefühle im FEV = 1.

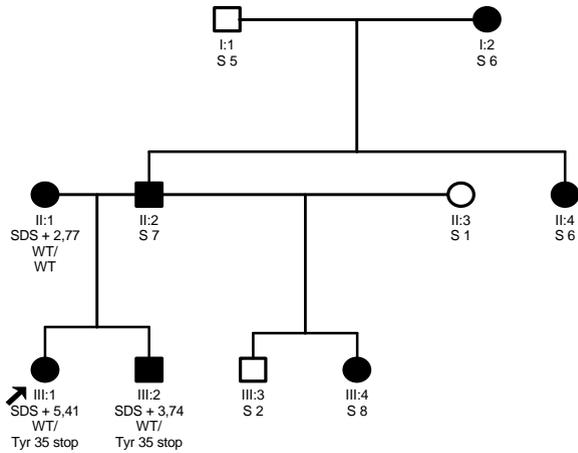
MC4R-Mutationen mit Funktionsverlust

Familien 1 A - H

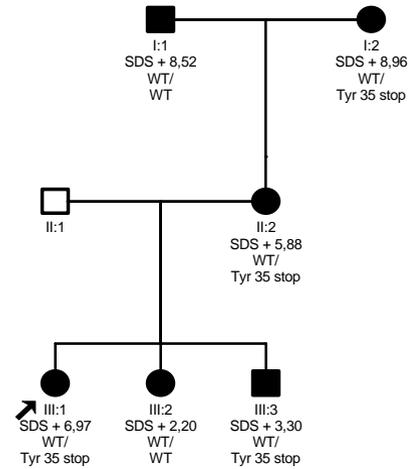


MC4R-Mutationen mit Funktionsverlust

Familien 1 A - H

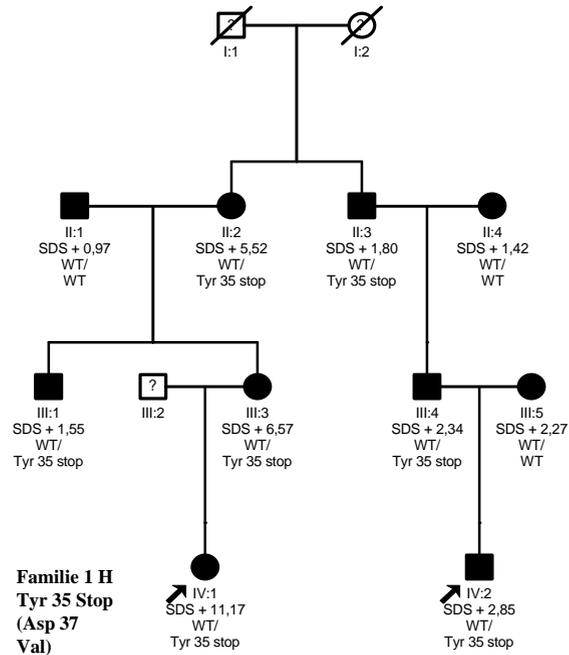


Familie 1 F
Tyr 35 Stop
(Asp 37 Val)

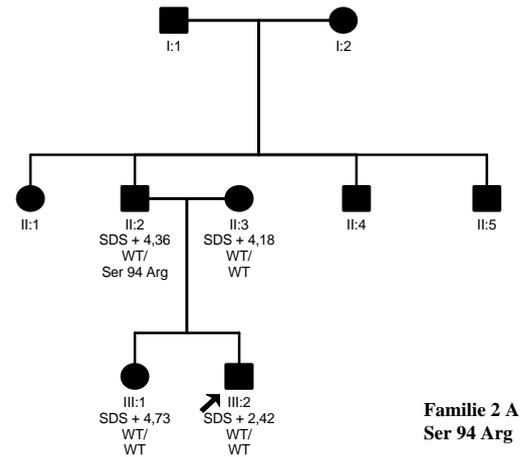


Familie 1 G
Tyr 35 Stop
(Asp 37 Val)

MC4R-Mutationen mit Funktionsverlust Familien 1 H und 2 A

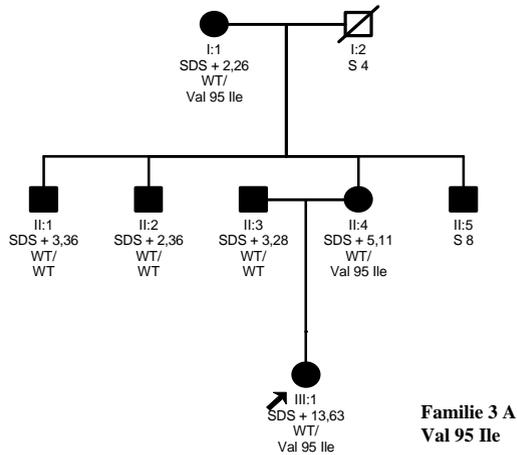


Die **Familie 1 H** setzt sich aus zwei unabhängig voneinander rekrutierten Familien zusammen. Im nachhinein stellte sich heraus, dass die beiden Indexpatienten Cousins zweiten Grades sind.

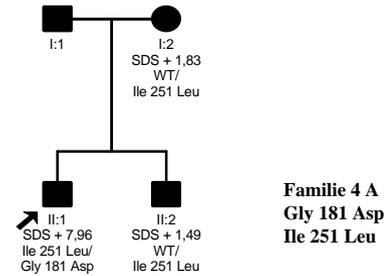


Stammbaum 2 A: Diese beim Vater (II:2) gefundene Missense-Mutation (Austausch der Aminosäure Serin gegen Arginin durch Austausch des Nucleosids Cytidin gegen Guanosin in Position 281) wurde nicht auf die ebenfalls übergewichtigen Kinder transmittiert.

MC4R-Mutationen mit Funktionsverlust **Familien 3 A und 4 A**



Stammbaum 3 A: Bei der Großmutter (I:1), bei der Mutter (II:4) und beim Index (III:1) findet sich ein Austausch der Aminosäure Valin gegen Isoleucin im Codon 95.

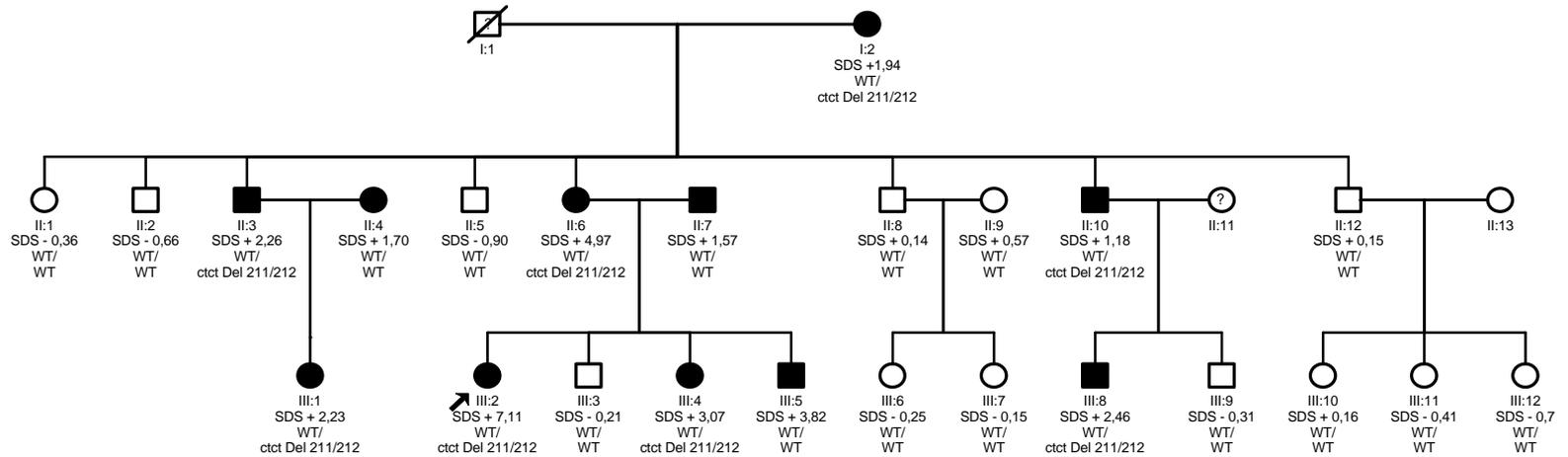


Stammbaum 4 A: Zusätzlich zu der Missense-Mutation (Austausch der Aminosäure Glycin gegen Asparaginsäure), findet sich in dieser Familie ein Polymorphismus (Austausch von Isoleucin gegen Leucin in Position 251).

MC4R-Mutationen mit Funktionsverlust

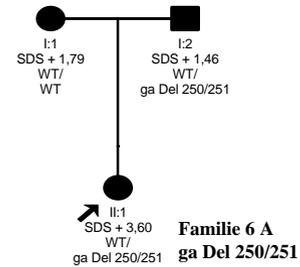
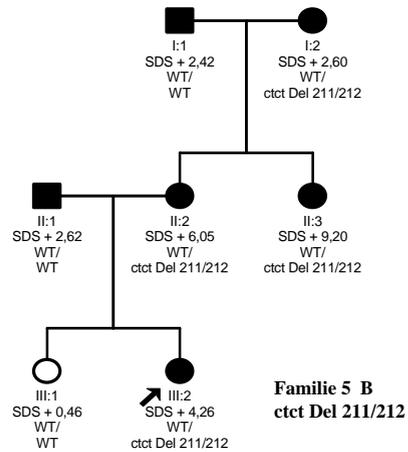
Familie 5 A

Stammbäume 5 A und B: Durch eine Deletion von vier Basen kommt es zu einem Rasterschub. Die Familie 5 A wurde bereits zu einem früheren Zeitpunkt rekrutiert (Sina, 1999).



Familie 5 A
ctct Del
211/212

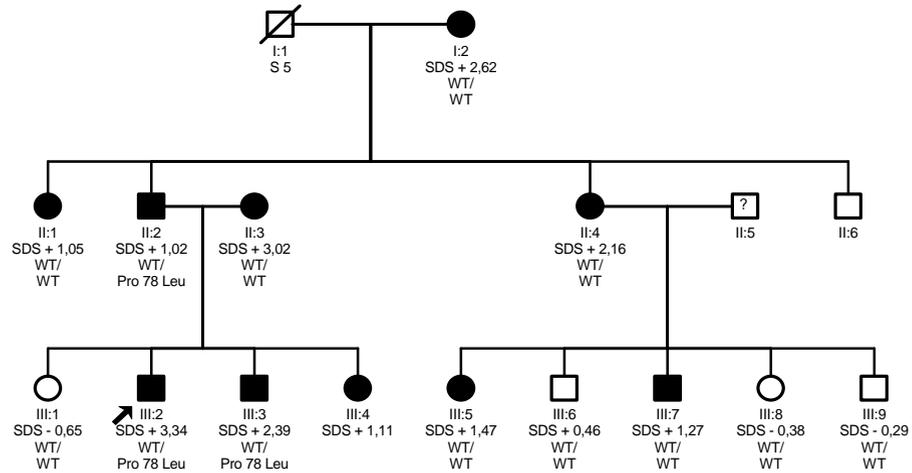
MC4R-Mutationen mit Funktionsverlust **Familien 5 B und 6 A**



Stammbaum 6 A: Durch eine Deletion von zwei Basen kommt es zu einem Rasterschub.

MC4R-Mutationen mit reduzierter Funktion

Familie 7 A

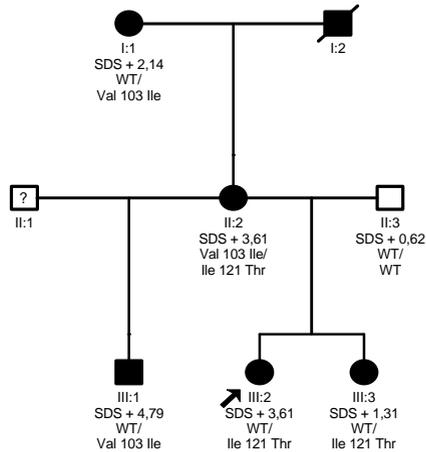


Familie 7 A
Pro 78 Leu

Stammbaum 7 A: Austausch der Aminosäure Prolin in Position 78 gegen Leucin bedingt eine reduzierte Rezeptorfunktion.

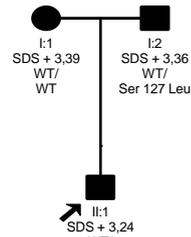
MC4R-Mutationen mit reduzierter Funktion

Familien 8 A - 9 B



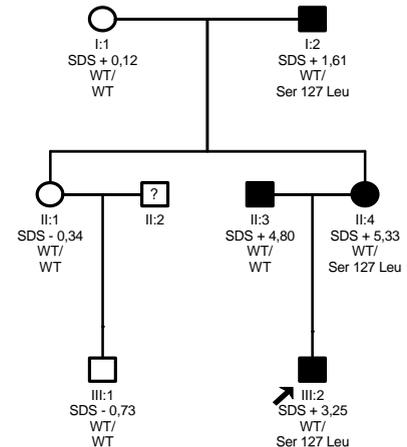
Familie 8 A
Ile 121 Thr
Val 103 Ile

Stammbaum 8 A: Neben einer Missense-Mutation (Austausch der Aminosäure Threonin gegen Isoleucin in Position 121) findet sich in dieser Familie zusätzlich ein Polymorphismus (Austausch der Aminosäure Isoleucin gegen Valin in Position 103).



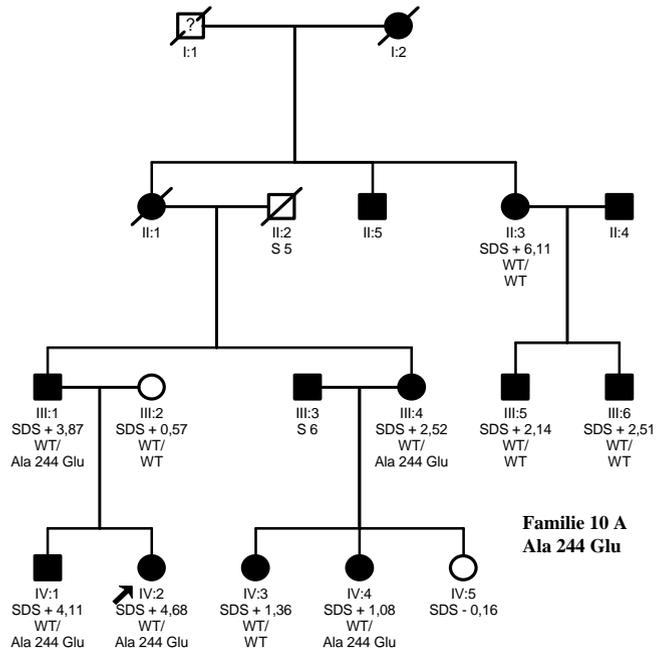
Familie 9 A
Ser 127 Leu

Stammbäume 9 A und 9 B: Die Missense-Mutation (Austausch der Aminosäure Serin gegen Leucin) wurde in Familie 9 A nicht auf den Index (II:1) transmittiert.

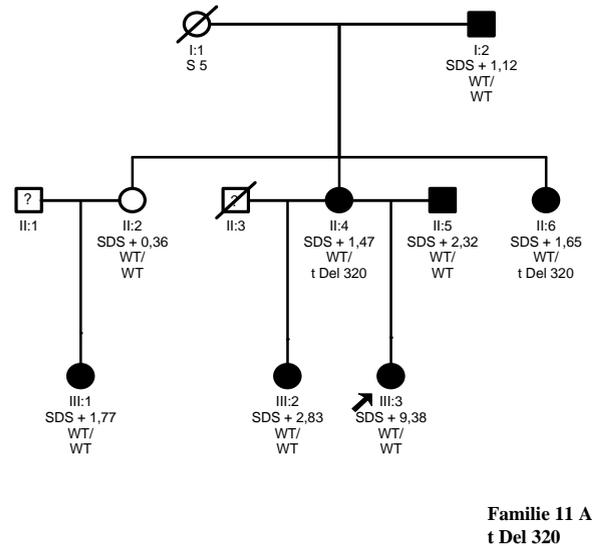


Familie 9 B
Ser 127 Leu

MC4R-Mutationen mit reduzierter Funktion Familien 10 A und 11 A

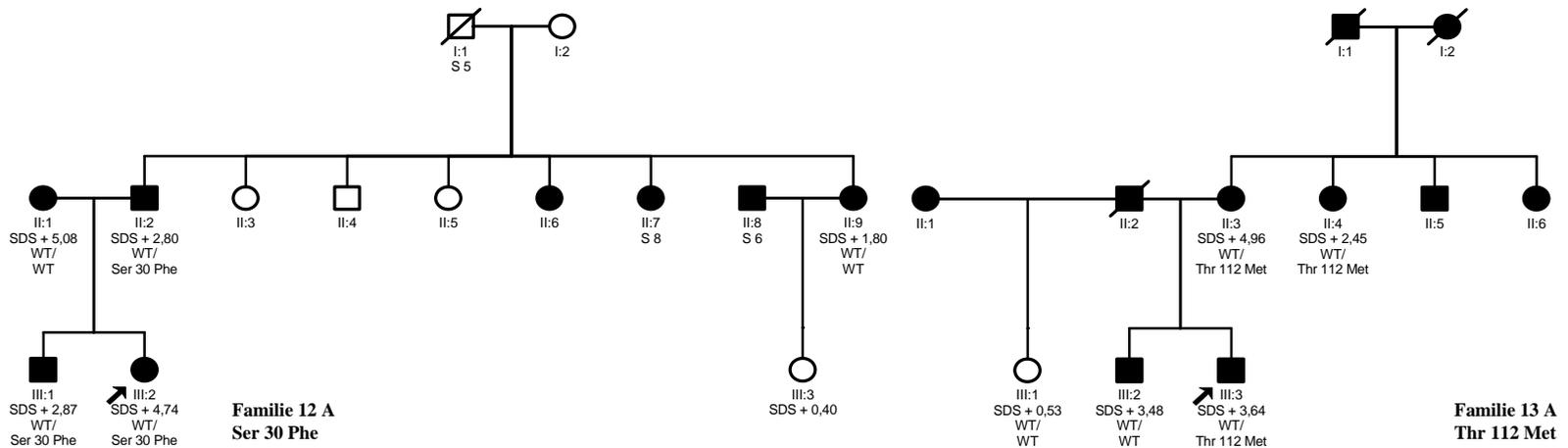


Stammbaum 10A : Missense-Mutation (Austausch der Aminosäure Alanin gegen Glutaminsäure in Position 244).



Stammbaum 11 A : Rasterschub-Mutation durch Deletion einer Base. Die Mutation wurde nicht auf nicht auf den Index (III:3) transmittiert.

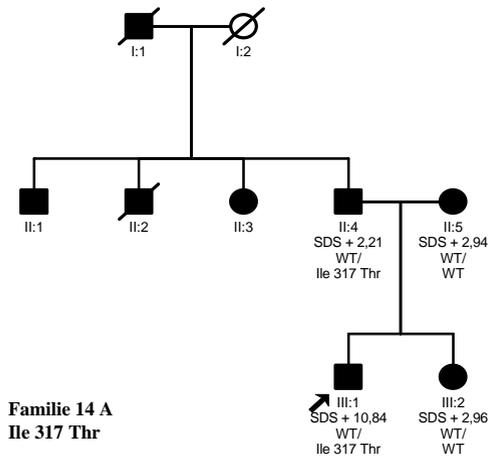
MC4R-Mutationen ohne Einfluss auf die Funktion Familien 12 A - 13 A



Stammbaum 12 A : Diese Missense-Mutation (Austausch der Aminosäure Serin gegen Phenylalanin in Position 30) bedingt einen Rezeptor, der wie der Wildtyp-Rezeptor funktioniert.

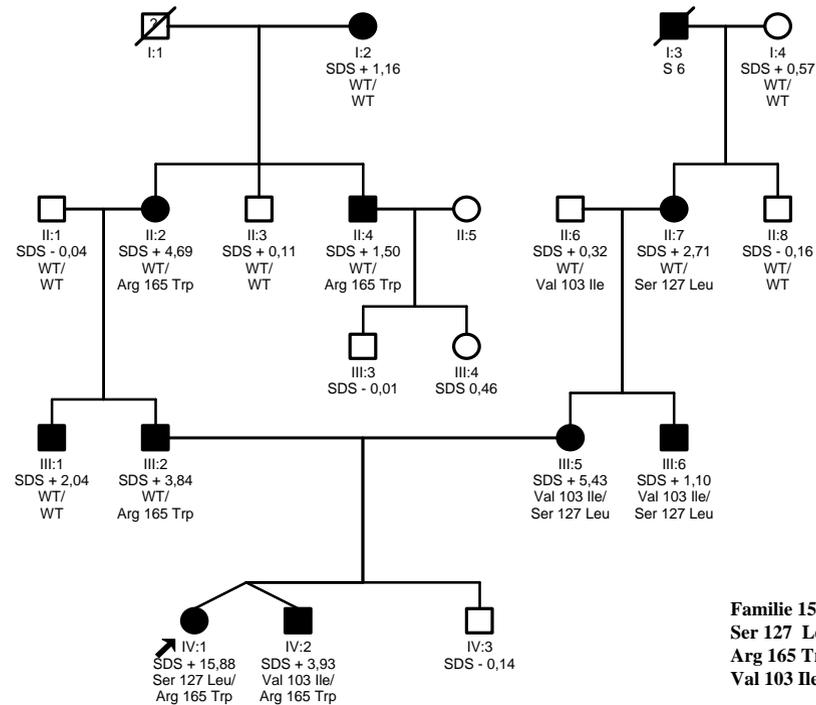
Stammbaum 13 A : Auch diese Missense-Mutation (Austausch der Aminosäure Threonin gegen Methionin in Position 112) bedingt einen Rezeptor, der wie der Wildtyp-Rezeptor funktioniert.

MC4R-Mutationen ohne Einfluss auf die Funktion Familie 14 A



Stammbaum 14 A : Diese Missense-Mutation (Austausch der Aminosäure Isoleucin gegen Threonin in Position 317) bedingt einen Rezeptor, der wie der Wildtyp-Rezeptor funktioniert.

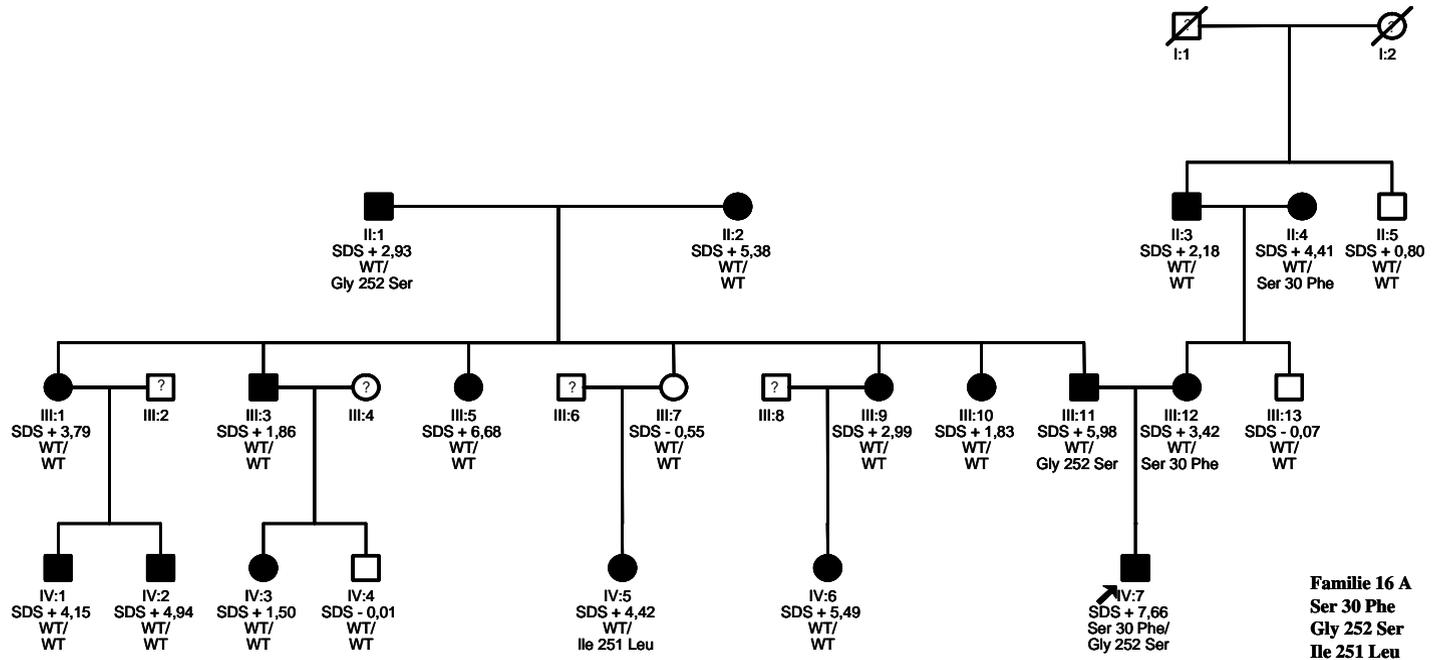
MC4R-Mutationen mit reduzierter Funktion Familie 15 A (Compound-heterozygoter Index)



Stammbaum 15 A : Die Index-Patientin (IV:1) ist 1,61 m groß und wiegt 170 Kg, entsprechend einem BMI von 65. Auch der Zwillingbruder (IV:2) ist extrem adipös.

Die Indexpatientin ist compound-heterozygot für die vom Vater (III:2) ererbte Missense-Mutation Arg 165 Trp und die von der Mutter (III:5) ererbte Mutation Ser 127 Leu. Beide Mutationen bedingen eine eingeschränkte Rezeptorfunktion. Der Zwillingbruder ist Träger der vom Vater ererbten Mutation Arg 265 Trp sowie des von der Mutter ererbten Polymorphismus Val 103 Ile.

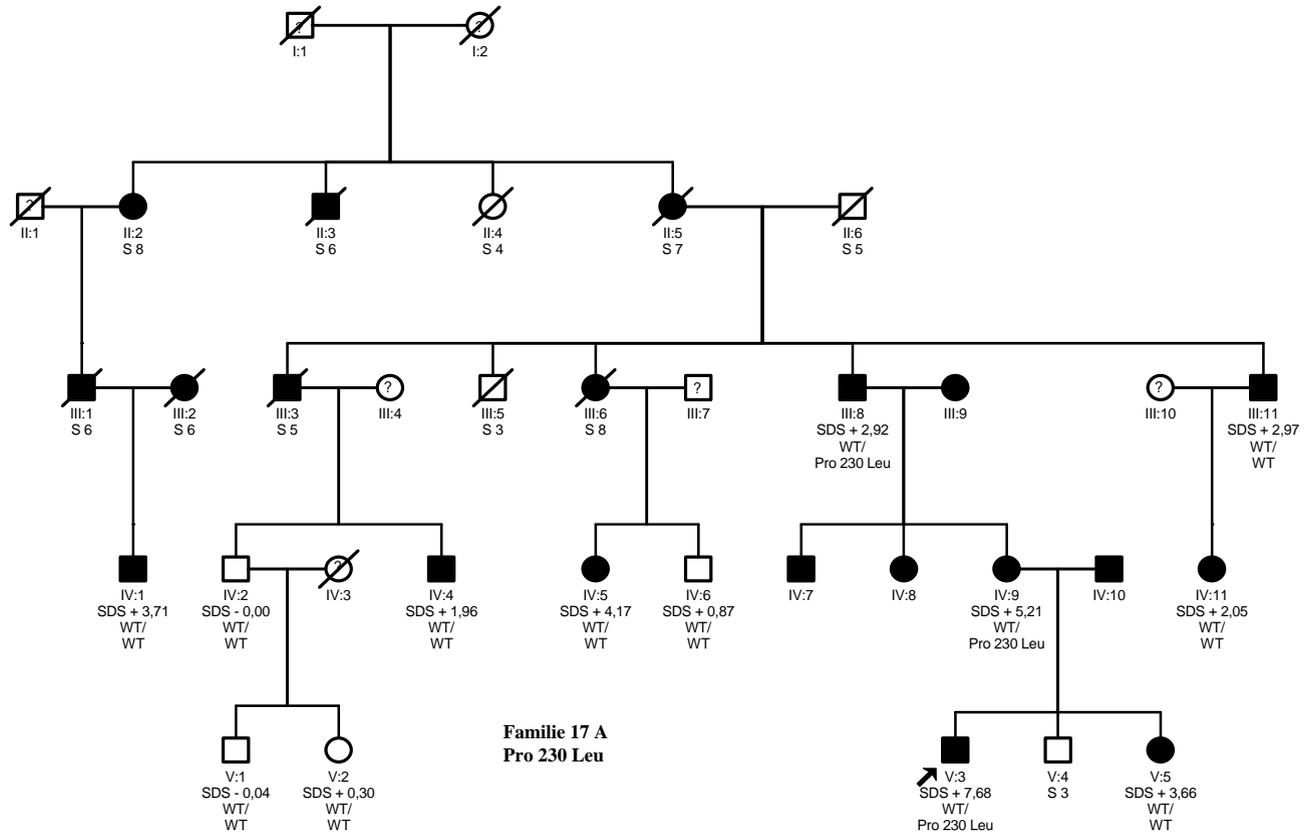
MC4R-Mutationen ohne Einfluss auf die Funktion Familie 16 A (Compound-heterozygoter Index)



Familie 16 A
Ser 30 Phe
Gly 252 Ser
Ile 251 Leu

Stammbaum 16 A : Der Index-Patient (IV:7) ist compound-heterozygot für die vom Vater (III:11) ererbte Missense-Mutation Gly 252 Ser und die von der Mutter (III:12) ererbte Mutation Ser 30 Phe. Beide Mutationen sind im *in-vitro* Assay ohne Einfluss auf die Rezeptorfunktion. Die Cousine (IV:5) ist Trägerin eines Polymorphismus.

MC4R-Mutation mit unklarer Funktion Familie 17 A



Genotyp und phänotypische Daten zu den untersuchten Familien

Familie	Person	Genotyp	Geschlecht	Alter (Jahre)	aktuelles Gewicht (kg)	aktuelle Größe (cm)	aktueller BMI	aktueller BMI-SDS	BMI bei maximalem SDS	maximaler BMI-SDS	Waist Hip Ratio	Körperfettanteil in Prozent	Leptin (ng/ml)	Nahrungsfettanteil in Prozent
Familie 1 A	II:5	WT/ Tyr 35 Stop	m	50	92	177	29,37	1,1	32,55	2,45	0,96	35,93	5,06	35
	II:6	WT/WT	w	45	86,8	163	32,67	2,36	36,13	3,27	0,88	43,3	11,8	35
	III:2	WT/WT	m	25	77	180	23,77	0,27	24,69	1,2	0,8	25,4	2,95	38
	III:3	WT/WT	m	20	101	185	29,51	2,56	29,51	2,56	0,96	30,8	2,18	48
	III:4	WT/ Tyr 35 Stop	w	13	78	162	29,72	3,48	33,2	4,68	0,89	37,8	/	36
Familie 1 B	I:1	WT/WT	m	45	92	186	26,67	0,37	26,67	0,37	/	/	/	/
	II:1	/	m	21	75	184	22,15	-0,17	22,15	-0,17	/	/	/	/
	II:2	WT/ Tyr 35 Stop	m	19	88	183	26,27	1,62	26,27	1,62	/	/	/	/
	II:3	WT/ Tyr 35 Stop	w	17	112,9	180	34,84	5,6	35,49	5,89	/	/	/	/
Familie 1 C	I:2	WT/WT	w	73	65	146	30	1,26	32,83	1,93	1,03	/	15,2	/
	II:2	WT/ Tyr 35 Stop	w	45	66	170	23,08	-0,15	24,22	0,18	0,82	30,95	3,84	34
	II:4	WT/WT	w	34	58,3	166	21,16	-0,47	23,22	0,11	0,8	27,16	5,83	32
	III:1	WT/ Tyr 35 Stop	w	17	77,6	181	23,69	1,24	38,46	5,01	0,81	28,55	/	9
	III:2	WT/ Tyr 35 Stop	w	14	88	177	28,09	2,76	28,95	3,05	0,79	37,47	18,2	38
Familie 1 D	II:2	WT/WT	w	66	78,3	161	30,21	1,2	32,79	2,03	0,85	39,42	54	43
	II:4	WT/WT	m	64	105,5	174	34,85	2,57	41,28	4,73	0,94	41,95	12,9	/
	II:5	WT/ Tyr 35 Stop	w	56	65,6	172	22,17	-0,8	22,17	-0,8	0,76	32,29	/	35
	III:1	WT/ Tyr 35 Stop	m	46	100,4	173	33,55	2,55	36,75	4,84	1,12	25,45	11	39
	III:2	WT/WT	w	40	98,1	165	36	3,02	38,56	3,37	0,91	42,22	12,3	41
	III:3	WT/WT	m	42	123,4	185	36,06	3,45	36,06	3,45	0,96	30,31	14,5	35
	IV:2	WT/ Tyr 35 Stop	m	13	126	170	43,74	7,39	43,74	7,39	1,05	31,5	46	44
Familie 1 E	II:8	WT/ Tyr 35 Stop	m	70	75	171	25,65	-0,075	29,41	2,43	1	39,99	2,51	/
	III:2	WT/WT	m	41	96,3	179	30,06	1,29	30,27	1,36	0,97	29,53	1,32	45
	III:5	WT/WT	m	43	74,1	180	22,87	-0,83	24,38	0,38	0,85	19,29	0,79	43
	III:6	WT/WT	w	38	70,2	155	29,22	1,69	29,22	1,69	0,88	39,16	/	40
	III:7	WT/ Tyr 35 Stop	m	44	117,9	180	36,39	3,61	36,39	3,61	0,98	36,19	7,5	45
	III:8	WT/WT	m	47	79,4	176	25,63	0,04	25,63	0,04	0,94	/	4,02	/
	III:9	WT/ Tyr 35 Stop	w	42	77	162	29,34	1,67	30,86	1,7	0,87	44,64	18,8	44
	III:11	WT/ Tyr 35 Stop	w	41	86	166	31,21	2,16	37,01	5,54	0,88	43,35	19,1	41
	III:12	WT/WT	w	31	69	171	23,6	0,21	27,35	1,34	0,87	30,71	/	40
	IV:1	WT/WT	m	15	102,4	161	39,5	6,09	39,54	6,1	0,97	34,99	13,5	45
	IV:2	WT/WT	m	10	64,7	151	28	3,8	28	3,8	0,92	27,43	/	41
	IV:4	WT/ Tyr 35 Stop	w	15	168	/	56,96	10,28	56,96	10,28	0,83	55,39	/	41
	IV:5	WT/ Tyr 35 Stop	w	13	75,2	158	30,12	4,1	30,12	4,1	0,7	/	/	47
	IV:6	WT/ Tyr 35 Stop	w	19	118	166	42,82	8,11	42,82	8,11	0,9	51,4	56,4	44
Familie 1 F	II:1	WT/WT	w	35	91,2	173	30,47	2,14	30,73	2,77	0,8	41,7	/	34
	III:1	WT/ Tyr 35 Stop	w	15	118,7	179	37,05	4,61	35,49	5,41	0,89	47,16	/	33
	III:2	WT/ Tyr 35 Stop	m	12	98,1	179	30,62	3,74	30,62	3,74	0,93	34,48	23,4	35
Familie 1 G	I:1	WT/WT	m	59	97	173	32,41	2,08	45,1	8,52	0,88	36,19	2,2	/
	I:2	WT/ Tyr 35 Stop	w	63	154	165	56,57	8,69	56,56	8,96	0,82	55,93	128	/
	II:2	WT/ Tyr 35 Stop	w	35	144	171	49,25	5,88	49,25	5,88	0,81	53,47	123	/
	III:1	WT/ Tyr 35 Stop	w	14	114	168	40,39	6,97	40,39	6,97	0,85	47,31	56,5	/
	III:2	WT/WT	w	12	59	154	24,88	2,2	24,88	2,2	0,84	32,28	16,8	/
III:3	WT/ Tyr 35 Stop	m	10	58	140	29,59	3,3	29,59	3,3	/	/	45,9	/	
Familie 1 H	II:1	WT/WT	m	68	88	173	29,4	0,97	29,4	0,97	1,07	33,5	1,9	/
	II:2	WT/ Tyr 35 Stop	w	64	106	153	45,28	5,52	45,52	5,52	0,77	53,21	91,9	/
	II:3	WT/ Tyr 35 Stop	m	60	82	171	28,04	0,36	32,14	1,8	0,79	33,87	39,9	/
	II:4	WT/WT	w	58	87	168	30,82	1,42	30,82	1,42	/	42,29	/	/
	III:1	WT/ Tyr 35 Stop	m	41	98	176	31,64	1,55	31,64	1,55	0,94	33,56	86,2	/
	III:3	WT/ Tyr 35 Stop	w	39	115	167	41,23	4,32	46,61	6,57	0,88	48,07	47,3	/
	III:4	WT/ Tyr 35 Stop	m	40	110	181	33,58	2,34	33,58	2,34	0,88	34,95	15	/
	III:5	WT/WT	w	32	90	168	31,89	2,27	31,89	2,27	/	/	41,6	/
	IV:1	WT/ Tyr 35 Stop	w	19	139	165	51,06	11,17	51,06	11,17	0,82	53,77	/	/
	IV:2	WT/ Tyr 35 Stop	m	8	53	143	25,92	2,85	25,02	2,85	0,96	41,73	88,9	/

Familie	Person	Genotyp	Geschlecht	Alter (Jahre)	aktuelles Gewicht (kg)	aktuelle Größe (cm)	aktueller BMI	aktueller BMI-SDS	BMI bei maximalem SDS	maximaler BMI-SDS	Waist Hip Ratio	Körperfettanteil in Prozent	Leptin (ng/ml)	Nahrungsfettanteil in Prozent
Familie 2 A	II:2	WT/Ser 94 Arg	m	43	122,4	181	37,6	3,87	39,68	4,36	1,03	35,74	9,62	33
	II:3	WT/WT	w	37	96,2	174	31,77	2,4	37,98	4,18	0,85	41,34	/	47
	III:1	WT/WT	w	14	79,5	164	29,56	3,26	33,46	4,73	0,9	40,2	/	37
	III:2	WT/WT	m	11	68	163	25,59	2,42	25,59	2,42	0,89	28,09	/	38
Familie 3 A	I:2	Val 95 Ile	w	66	62,1	151	27,24	0,47	34,2	2,26	0,98	44,14	16,6	/
	II:1	WT/WT	m	46	121,5	186	35,12	3,36	35,12	3,36	1,07	39,44	17,8	44
	II:2	WT/WT	m	44	91,1	179	28,43	0,97	31,21	2,36	0,98	32,87	5,93	40
	II:3	WT/WT	m	52	104	170	35,99	3,28	35,99	3,28	1,02	36,92	/	/
	II:4	Val 95 Ile	w	40	81,6	164	30,34	1,61	34,94	5,11	0,88	44,03	18,4	/
III:1	Val 95 Ile	w	17	161,2	171	55,13	13,63	55,13	13,63	0,96	55,63	/	/	
Familie 4 A	I:2	WT/Ile 251Leu	w	45	58,7	160	22,93	-0,2	25,39	1,83	/	28,75	6,48	36
	II:1	Ile 251 Leu/ Gly 181 Asp	m	19	145	183	43,3	7,85	43,59	7,96	0,94	41,04	11,8	45
	II:2	WT/Ile 251Leu	m	15	67	173	22,39	0,43	24,39	1,49	0,86	28,17	/	48
Familie 5 A	I:2	WT/ctct Del 211/212	w	81	76	155	31,63	1,94	31,63	1,94	/	/	20,7	/
	II:1	WT/WT	w	61	63	167	22,59	-0,8	23,3	-0,36	0,93	32,33	14,9	46
	II:2	WT/WT	m	59	76	176	24,54	-0,66	24,54	-0,66	0,88	29,04	20,7	/
	II:3	WT/ctct Del 211/212	m	50	97	171	33,17	2,26	33,17	2,26	0,99	36,57	29,9	/
	II:4	WT/WT	w	39	75	164	27,89	1	29	1,7	0,77	37,77	16,8	/
	II:5	WT/WT	m	46	70	175	22,86	-0,9	22,86	-0,9	0,81	26,96	2,8	/
	II:6	WT/ctct Del 211/212	w	45	103	163	38,77	3,87	40,64	4,97	0,9	49,26	58,1	/
	II:7	WT/WT	m	49	93	175	30,37	1,57	30,3	1,57	0,91	33,51	4,1	/
	II:8	WT/WT	m	42	72	180	22,22	-1,04	22,53	0,14	0,81	17,79	/	48
	II:9	WT/WT	w	38	151	57,9	25,39	0,57	25,39	0,57	0,76	33,94	/	/
	II:10	WT/ctct Del 211/212	m	40	94	178	29,67	1,18	29,67	1,18	0,97	/	8,7	/
	II:12	WT/WT	m	39	79	177	25,22	-0,08	25,53	0,15	0,9	24,58	5,3	/
Familie 5 B	III:1	WT/ctct Del 211/212	w	21	78	168	27,64	2,23	27,64	2,23	0,75	39,06	65,8	/
	III:2	WT/ctct Del 211/212	w	22	117	171	40	7,11	40	7,11	0,89	49,17	63,1	/
	III:3	WT/WT	m	17	72	185	21,04	-0,21	21,04	-0,21	0,8	12,22	1,1	/
	III:4	WT/ctct Del 211/212	w	14	79	165	29,02	3,07	29,02	3,07	0,86	37,6	40,9	/
	III:5	WT/WT	m	12	81	162	30,86	3,82	30,86	3,82	1,02	38,1	94,1	/
	III:6	WT/WT	w	9	31	138	16,27	-0,25	16,27	-0,25	0,76	14,02	/	/
	III:7	WT/WT	w	7	22,6	120	15,69	-0,15	15,69	-0,15	0,83	14,4	/	/
	III:8	WT/ctct Del 211/212	m	20	110	194	29,23	2,46	29,23	2,46	/	/	24,9	/
	III:9	WT/WT	m	18	66	178	20,83	-0,37	20,98	-0,31	0,79	/	1,6	/
	III:10	WT/WT	w	17	57	164	21,19	0,16	21,19	0,16	0,81	25,5	/	/
	III:11	WT/WT	w	16	55	168	19,48	-0,41	19,48	-0,41	0,69	23,87	/	/
	III:12	WT/WT	w	12	33	140	16,83	-0,7	16,83	-0,7	0,75	17,25	/	/
Familie 5 C	I:1	WT/WT	m	60	87,2	173	29,14	0,66	31,74	2,42	0,91	37,38	7,29	/
	I:2	WT/ctct Del 211/212	w	55	83	159	32,83	1,94	35,59	2,6	1,07	44,7	28,5	37
	II:1	WT/WT	m	39	83,5	176	26,96	0,45	30,66	2,62	0,92	26,84	4,38	45
	II:2	WT/ctct Del 211/212	w	35	128,2	170	44,36	6,05	44,36	6,05	0,93	50,62	/	42
	II:3	WT/ctct Del 211/212	w	25	119,6	159	47,31	7,19	47,46	9,2	0,87	51,1	41,2	35
	III:1	WT/WT	w	13	54	164	20,08	0,46	20,07	0,46	0,77	26,98	11,6	37
	III:2	WT/ctct Del 211/212	w	7	59	135	32,37	3,75	34,56	4,26	1,02	38,84	/	34
Familie 6 A	I:1	WT/ga Del 250/251	w	43	83	168	29,41	1,62	27,76	1,79	0,81	41,7	9,23	/
	I:2	WT/WT	m	43	94	180	29,01	1,41	29,93	1,46	0,92	29,94	3,53	/
	II:1	WT/ga Del 250/251	w	13	72,3	161	27,89	2,87	30,09	3,6	0,96	37,2	6,2	/

Familie	Person	Genotyp	Geschlecht	Alter (Jahre)	aktuelles Gewicht (kg)	aktuelle Größe (cm)	aktueller BMI	aktueller BMI-SDS	BMI bei maximalem SDS	maximaler BMI-SDS	Waist Hip Ratio	Körperfettanteil in Prozent	Leptin (ng/ml)	Nahrungsfettanteil in Prozent
Familie 7 A	I:2	WT/WT	w	81	83,5	156	34,31	2,62	34,31	2,62	0,88	/	27,2	
	II:1	WT/WT	w	56	79,1	162	30,14	1,05	30,14	1,05	0,83	41,63	18,4	46
	II:2	WT/Pro 78 Leu	m	54	93	178	29,35	0,98	29,98	1,02	0,92	24,71	3,58	46
	II:3	WT/WT	w	40	77,6	158	31,08	2,12	32,04	3,02	0,85	39,56	17,7	41
	II:4	WT/WT	w	51	86	164	31,98	1,72	32,71	2,16	0,85	42,44	14,2	40
	III:1	WT/WT	w	16	46,9	159	18,55	-0,65	18,55	-0,65	0,75	11,3	2,87	40
	III:2	WT/Pro 78 Leu	m	14	70,2	155	29,22	2,844	30,4	3,34	0,65	12,06	/	29
	III:3	WT/Pro 78 Leu	m	11	51,5	146	24,16	1,74	26,4	2,39	0,88	16,64	13	35
	III:4	/	w	4	21,9	104	20,25	1,11	20,25	1,11	0,95	/	/	/
	III:5	WT/WT	w	27	84,2	177	26,88	1,47	26,88	1,47	0,77	35,68	18,6	43
	III:6	WT/WT	m	24	78,5	180	24,23	0,46	24,23	0,46	0,81	20,46	3,25	45
III:7	WT/WT	m	21	79,3	176	25,6	1,25	26,14	1,27	0,82	25,02	4,62	43	
III:8	WT/WT	w	19	58,9	172	19,91	-0,39	19,94	-0,38	0,81	25,11	6,54	51	
III:9	WT/WT	m	16	63	178	19,88	-0,29	19,88	-0,29	0,81	12,17	1,49	39	
Familie 8 A	I:1	WT/Val 103 Ile	w	77	79	159	31,25	1,84	33,62	2,14	0,89	/	22,1	42
	II:2	Val 103 Ile/ Ile 121 Thr	w	51	76	162	28,96	1,04	32	3,61	0,84	40,14		16
	II:3	WT/WT	m	41	80,3	170	27,79	0,62	27,79	0,62	0,9	33,14	4,2	/
	III:1	WT/Val 103 Ile	m	21	108,9	193	29,24	2,76	34,9	4,79	0,96	28,26	/	46
	III:2	WT/Ile 121 Thr	w	11	73	158	29,24	3,58	28,44	3,61	1	39,06	51,3	32
	III:3	WT/Ile 121 Thr	w	10	45,8	146	21,49	1,31	21,49	1,31	0,88	29	/	20
Familie 9 A	I:1	WT/WT	w	33	79,9	161	31,02	2,29	34,93	3,39	0,8	/	/	/
	I:2	WT/Ser 127 Leu	m	39	109	183	32,73	2,2	34,22	3,36	1,08	/	/	/
	II:1	WT/Ser 127 Leu	m	14	78,2	171	26,74	2,22	30,1	3,24	0,93	/	/	/
Familie 9 B	I:1	WT/WT	w	66	81	176	26,14	0,12	26,14	0,12	0,84	38,18	24,3	29
	I:2	WT/Ser 127 Leu	m	67	96	176	30,99	1,61	30,99	1,61	1,03	42,52	2,36	28
	II:1	WT/WT	w	37	61,7	168	21,86	-0,34	21,8	-0,34	0,8	30,71	5,58	50
	II:3	WT/WT	m	32	103	184	30,42	1,8	40,17	4,8	0,95	29,88	/	50
	II:4	WT/Ser 127 Leu	w	34	113,7	172	38,43	4,38	42,59	5,33	0,86	47,01	/	38
	III:1	WT/WT	m	13	42	157	17,03	-0,73	17,03	-0,73	0,83	13,34	0,92	47
III:2	WT/Ser 127 Leu	m	9	57	146	26,74	3,25	26,74	3,25	0,94	34,59	/	34	
Familie 10 A	II:3	WT/WT	w	59	121	156	49,72	6,11	49,72	6,11	0,83	53,99	48,4	47
	III:1	WT/ Ala 244 Glu	m	40	100,7	173	33,65	2,36	35,75	3,87	0,97	32,85	8,5	50
	III:2	WT/WT	w	42	46,5	155	19,35	-1,23	24,55	0,57	0,86	26,01	/	35
	III:4	WT/ Ala 244 Glu	w	39	84,9	158	34,01	2,52	34,01	2,52	0,81	41,96	28,3	43
	III:5	WT/WT	m	28	89,9	179	28,06	1,64	30,69	2,14	0,85	27,28	5,06	33
	III:6	WT/WT	m	33	93,2	175	30,43	2,05	26,33	2,51	0,91	31,88	6,39	40
	IV:1	WT/ Ala 244 Glu	m	17	104	180	32,1	3,99	32,4	4,11	0,91	29,96	/	42
	IV:2	WT/ Ala 244 Glu	w	11	67,1	147	31,26	4,54	31,68	4,68	0,87	40,37	/	27
	IV:3	WT/WT	w	19	61,7	160	24,1	1,36	24,1	1,36	0,81	31,01	12,7	41
	IV:4	WT/ Ala 244 Glu	w	11	43,7	145	20,78	1,08	20,78	1,08	0,88	24,94	10,7	38
IV:5	/	w	5	21,7	119	15,32	-0,16	15,32	-0,16	0,83	8,23	/	/	
Familie 11 A	I:2	WT/WT	m	94	75,1	171	25,68	0	29,41	1,12	1,07	34,83	5,79	/
	II:2	WT/WT	w	65	78,1	170	27,02	0,36	27,02	0,36	0,92	/	14,3	45
	II:4	WT/t Del 320	w	63	89,6	167	32,13	1,47	32,13	1,47	0,84	44,2	19,5	42
	II:5	WT/WT	m	73	83,4	162	31,78	2,32	31,78	2,32	1,01	39,23	/	45
	II:6	WT/t Del 320	w	59	77,3	166	28,05	0,81	30,12	1,65	1,09	38,8	13,2	44
	III:1	WT/WT	w	37	64,4	174	21,27	-0,5	25,76	1,77	0,82	29,61	11,5	44
	III:2	WT/WT	w	39	108,2	179	33,77	2,83	33,77	2,83	0,92	43,68	23,5	/
III:3	WT/WT	w	18	114	163	42,91	9,38	42,91	9,38	0,98	49,63	/	57	
Familie 12 A	II:1	WT/WT	w	42	109	163	41,03	5,08	41,02	5,08	1,05	46,31	31,8	48
	II:2	WT/Ser 30 Phe	m	48	73	172	24,68	-0,28	31,43	2,8	0,88	25,62	1,74	52
	II:9	WT/WT	w	46	72,3	163	27,21	0,81	31,61	1,8	0,86	36,51	3,2	36
	III:1	WT/Ser 30 Phe	m	14	87,7	173	29,3	2,87	29,3	2,87	0,9	16,52	6,24	/
	III:2	WT/Ser 30 Phe	w	9	64	149	28,83	3,64	32,37	4,74	1,01	35,65	26	/
	III:3	/	w	23	65	170	22,62	0,4	22,62	0,4	0,81	29,22	/	28

Familie	Person	Genotyp	Geschlecht	Alter (Jahre)	aktuelles Gewicht (kg)	aktuelle Größe (cm)	aktueller BMI	aktueller BMI-SDS	BMI bei maximalem SDS	maximaler BMI-SDS	Waist Hip Ratio	Körperfettanteil in Prozent	Leptin (ng/ml)	Nahrungsfettanteil in Prozent
Familie 13 A	II:3	WT/Thr 112 Met	w	47	91,7	172	31	1,73	38,53	4,96	0,88	40,02	10,1	50
	II:4	WT/Thr 112 Met	w	58	102,3	171	34,99	2,45	34,99	2,45	0,95	25,87	/	40
	III:1	WT/WT	w	35	56	161	21,6	-0,4	23,53	0,53	0,79	26,14	/	45
	III:2	WT/WT	m	20	100,3	186	31,88	3,48	31,88	3,48	0,95	25,87	7,95	/
	III:3	WT/Thr 112 Met	m	18	82,4	178	26,01	1,52	30,29	3,64	0,9	19,73	0,95	44
Familie 14 A	II:4	WT/Ile 317 Thr	m	49	75,9	172	25,66	0,01	33,12	2,21	1	16,89	1,63	50
	II:5	WT/WT	w	52	81	161	31,25	1,52	33,94	2,94	0,86	40,57	6,48	/
	III:1	WT/Ile 317 Thr	m	22	149	179	46,5	8,48	53,05	10,84	0,99	36,7	11,8	31
	III:2	WT/WT	w	20	74	163	27,85	2,55	28,22	2,96	0,88	/	25,4	42
Familie 15 A	I:2	WT/WT	w	81	65	151	28,51	1,16	28,51	1,16	/	/	19,8	/
	I:4	WT/WT	w	88	67	160	26,17	0,57	26,17	0,57	0,81	/	/	43
	II:1	WT/WT	m	69	78,8	177	25,15	-0,17	25,53	-0,04	0,95	33,41	3,04	31
	II:2	WT/Arg 165 Trp	w	64	94,1	159	37,22	3,27	41,53	4,69	1,08	49,45	15,1	29
	II:3	WT/WT	m	54	82	180	25,31	-0,19	25,92	0,11	/	/	7,85	32
	II:4	WT/Arg 165 Trp	m	44	104,3	187	29,83	1,43	30,02	1,5	1,01	31,73	10,8	40
	II:5	WT/Val 103 Ile	m	71	77,4	172	26,16	0,11	27,04	0,32	0,91	35,97	3,98	33
	II:6	WT/Ser 127 Leu	w	66	104	170	35,99	2,62	36,33	2,71	1	48,57	/	35
	II:7	WT/WT	m	61	76	171	25,99	-0,16	25,99	-0,16	0,9	32,68	/	/
	III:1	WT/WT	m	31	96,7	180	29,85	1,98	30,24	2,04	0,98	28,78	5,28	/
	III:2	WT/Arg 165 Trp	m	45	89,5	172	30,25	4,56	32,11	3,84	1,05	29,92	5,05	45
	III:3	/	m	13	58	173	19,38	-0,01	19,38	-0,01	0,92	15,66	/	/
	III:4	/	w	11	49,2	159	19,46	0,46	19,46	0,46	0,92	26,12	/	/
	III:5	Val 103 Ile/Ser 127 Leu	w	40	129,3	174	42,7	5,43	42,7	5,43	1,2	49,34	74,2	40
III:6	Val 103 Ile/Ser 127 Leu	m	39	73,6	168	26,08	0,16	28,34	1,1	0,85	29,65	4,16	/	
IV:1	Ser 127 Leu/Arg 165 Trp	w	15	170	161	65,58	15,88	65,58	15,88	1,17	57,08	279	39	
IV:2	Val 103 Ile/Arg 165 Trp	m	15	102,3	181	31,23	3,54	31,23	3,93	0,98	28,31	/	46	
IV:3	/	m	6	21,9	117	16	-0,15	16,7	-0,14	0,88	/	/	/	
Familie 16 A	II:1	WT/Gly 252 Ser	m	69	103,4	170	35,78	2,82	36,15	2,93	1	38,5	8,12	36
	II:2	WT/WT	w	71	109	156	44,79	5,38	44,78	5,38	0,99	/	28,1	/
	II:3	WT/WT	m	73	93,9	173	31,37	2,18	31,37	2,18	0,96	40,91	7,81	/
	II:4	WT/Ser 30 Phe	w	67	109,3	159	43,23	4,41	43,23	4,41	0,89	54,01	31,5	/
	II:5	WT/WT	m	70	91,8	179	28,65	0,78	28,71	38,66	0,97	39,84	6,52	34
	III:1	WT/WT	m	51	96,2	164	35,77	2,64	38,66	31,2	0,83	46,68	/	34
	III:3	WT/WT	m	49	92,3	172	31,2	1,86	31,2	1,86	0,93	33,92	5,01	38
	III:5	WT/WT	w	40	82,6	162	31,47	2,23	38,86	6,68	0,74	42,67	25,4	/
	III:7	WT/WT	w	39	55,7	167	19,97	-0,96	20,43	-0,55	0,73	24,12	2,51	/
	III:9	WT/WT	w	36	76,7	163	28,87	1,24	30,48	2,29	0,8	39,86	/	44
	III:10	WT/WT	w	34	62,3	162	23,74	0,24	24,74	1,83	0,78	35,93	6,36	28
	III:11	WT/Gly 252 Ser	m	42	133,8	178	42,23	5,45	43,87	5,98	1,05	33,15	7,4	37
	III:12	WT/Ser 30 Phe	w	42	98,4	165	36,14	3,27	36,72	3,42	0,87	43,6	25,4	41
	III:13	WT/WT	m	39	80,9	179	25,25	-0,07	25,25	-0,07	/	/	1,53	/
	IV:1	WT/WT	m	31	99,4	183	29,68	1,92	33,44	4,15	0,94	32,51	16,6	36
	IV:2	WT/WT	m	28	105,3	180	32,5	3,3	36,11	4,94	1,03	33,55	14,1	48
	IV:3	WT/WT	w	22	77,8	176	25,12	1,5	25,12	1,5	0,77	34,24	14,7	27
	IV:4	WT/WT	m	19	70	178	22,09	-0,01	22,09	-0,01	0,84	19,44	15,7	34
	IV:5	WT/Ile 251 Leu	w	16	91,8	170	31,76	4,42	35,64	4,42	0,83	41,43	26	/
IV:6	WT/WT	w	12	87	160	33,98	5,49	33,98	5,49	0,91	/	36,2	/	
IV:7	Ser 30 Phe/ Gly 252 Ser	m	20	133,4	179	42,75	7,66	42,75	7,66	0,98	34,34	16,7	48	

Familie	Person	Genotyp	Geschlecht	Alter (Jahre)	aktuelles Gewicht (kg)	aktuelle Größe (cm)	aktueller BMI	aktueller BMI-SDS	BMI bei maximalem SDS	maximaler BMI-SDS	Waist Hip Ratio	Körperfettanteil in Prozent	Leptin (ng/ml)	Nahrungsfettanteil in Prozent
Familie 17 A	III:8	WT/Pro 230 Leu	m	70	96	169	33,1	2,2	35,01	2,92	99	38,05	6,69	/
	III:11	WT/WT	m	66	92	162	35,05	2,97	35,05	2,97	1,03	46,87	12,5	35
	IV:1	WT/WT	m	56	105,1	170	36,37	3,71	36,37	3,71	1,06	/	10,9	45
	IV:2	WT/WT	m	53	100,2	195	26,35	0	26,35	0	0,91	28,73	3,49	41
	IV:4	WT/WT	m	50	94,5	180	29,17	1,04	31,48	1,96	1,01	37,41	8,69	35
	IV:5	WT/WT	w	49	73,4	160	28,67	1,06	32,22	4,17	0,88	41,58	8,34	44
	IV:6	WT/WT	m	46	86,6	183	25,86	0,06	28,36	0,87	0,89	25,72	11,3	50
	IV:9	WT/Pro 230 Leu	w	42	113,6	171	38,85	4,44	43,43	5,21	0,86	47,51	/	36
	IV:11	WT/WT	w	34	75,3	158	30,16	2,05	30,16	2,05	0,8	38,14	17,6	36
	V:1	WT/WT	m	23	90,3	199	22,8	-0,04	22,8	-0,04	0,92	/	4,35	46
	V:2	WT/WT	w	19	67,5	176	21,79	0,3	21,79	0,3	0,81	28,45	18,3	35
	V:3	WT/Pro 230 Leu	m	18	154,8	194	41,13	7,06	42,51	7,68	1	38	17,9	42
	V:5	WT/WT	w	16	88,3	172	29,85	3,66	29,85	3,66	0,75	/	16,9	/

Gewichtsverlauf in der Kindheit und in der Jugend: Im <i>MC4R</i> wildtypische Buben mit Übergewicht						
Alter (Jahre)	1	3	6	10	15	18
weitere Verwandte						
	*	*	*	*		
	*					
	*					
		*				
	*					
Väter						
Geschwister						
Index						

Gewichtsverlauf in der Kindheit und in der Jugend: Im <i>MC4R</i> wildtypische Buben die niemals übergewichtig waren						
Alter (Jahre)	1	3	6	10	15	18
weitere Verwandte						
	*	*				
	*					
	*					
Väter						
Geschwister						

Gewichtsverlauf in der Kindheit und in der Jugend: Mädchen mit <i>MC4R</i>-Mutationen, die zu einem Funktionsverlust führen						
Alter (Jahre)	1	3	6	10	15	18
weitere Verwandte						
		*				
		*				
Mütter						
	*					
Geschwister						
Index						
						*
						*

Gewichtsverlauf in der Kindheit und in der Jugend: Mädchen mit <i>MC4R</i>-Mutationen, die zu einer reduzierten Rezeptorfunktion führen						
Alter (Jahre)	1	3	6	10	15	18
weitere Verwandte						*
	*					
	*					
Mütter						
Geschwister						
Index						

Gewichtsverlauf in der Kindheit und in der Jugend: Im <i>MC4R</i> wildtypische Mädchen mit Übergewicht						
Alter (Jahre)	1	3	6	10	15	18

weitere Verwandte						
	*					
	*					
	*					
Mütter	*	*				
	*					
Geschwister						*
						*
	*					*
					*	*
	*					
Index						

Gewichtsverlauf in der Kindheit und in der Jugend: Im <i>MC4R</i> wildtypische Mädchen, die niemals übergewichtig waren						
Mutter						
Geschwister						

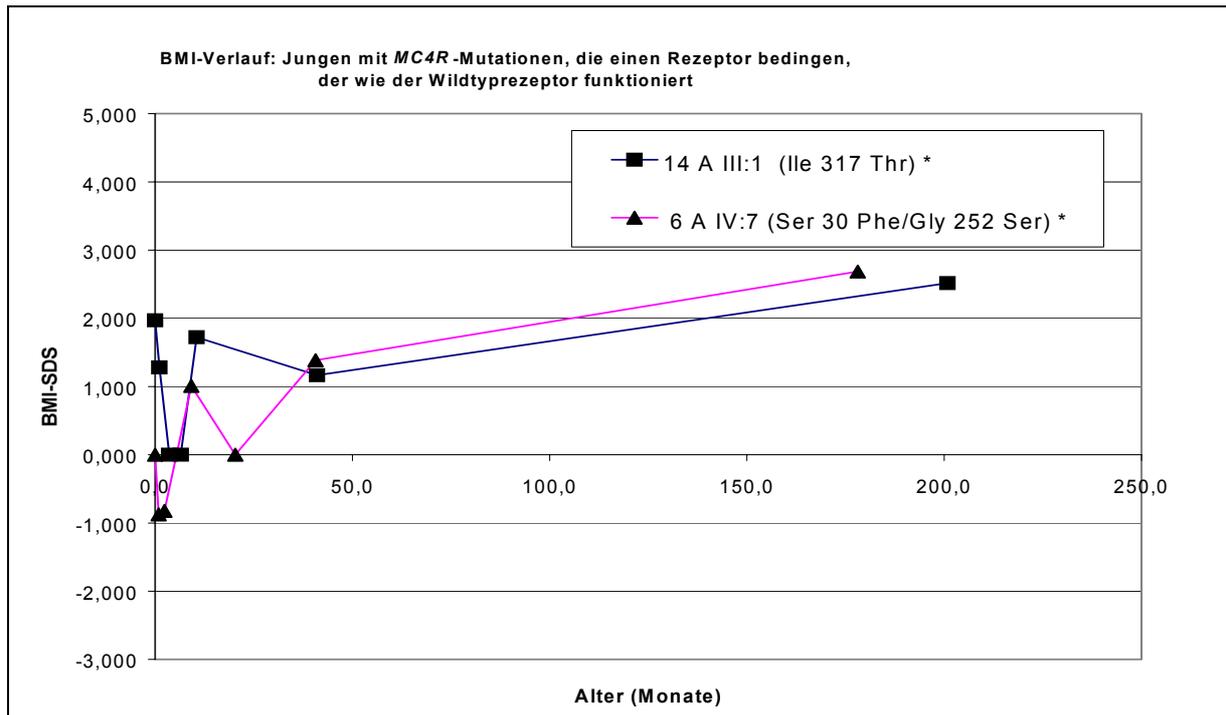


Abbildung 51: Gewichtsverläufe von *MC4R*-Mutationsträgern, die funktionell nicht relevante Mutationen tragen. 6 A IV:7 ist compound-heterozygot für die beiden nicht relevanten Mutationen Ser 30 Phe und Gly 252 Ser.

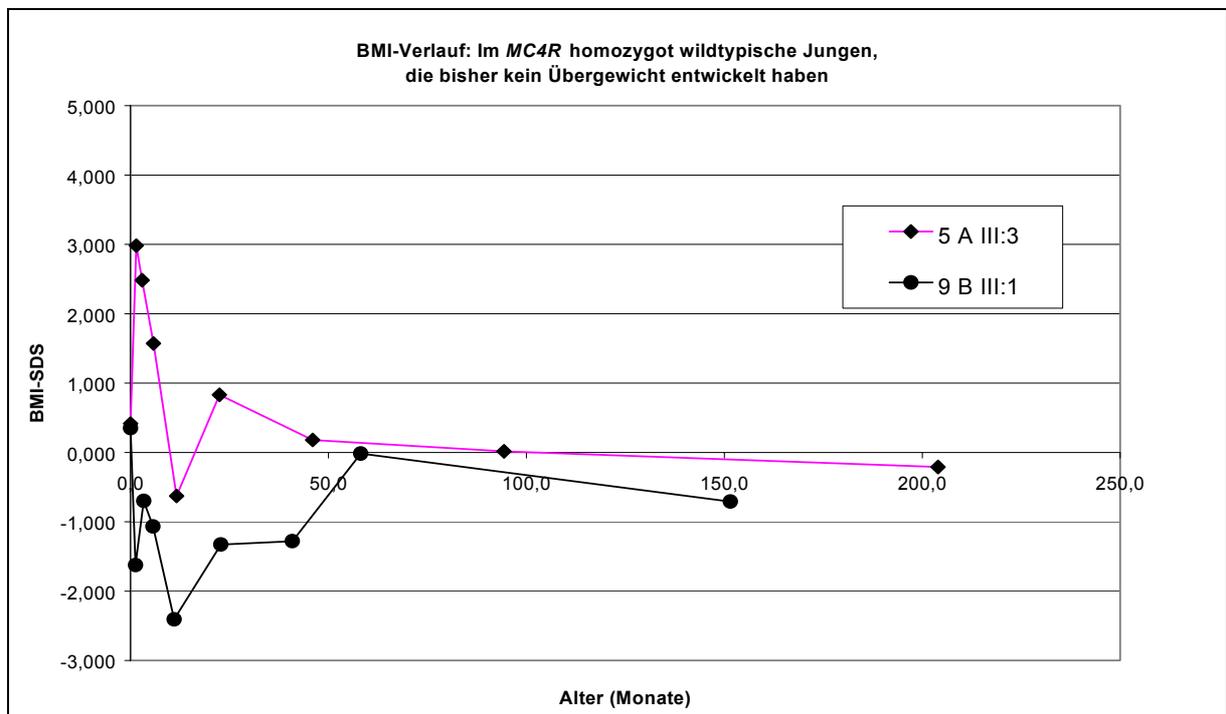


Abbildung 52: Gewichtsverläufe von Brüdern von Mutationsträgern, die im *MC4R* homozygote Wildtyp-Träger sind und nach dem Vorschulalter nicht übergewichtig waren.

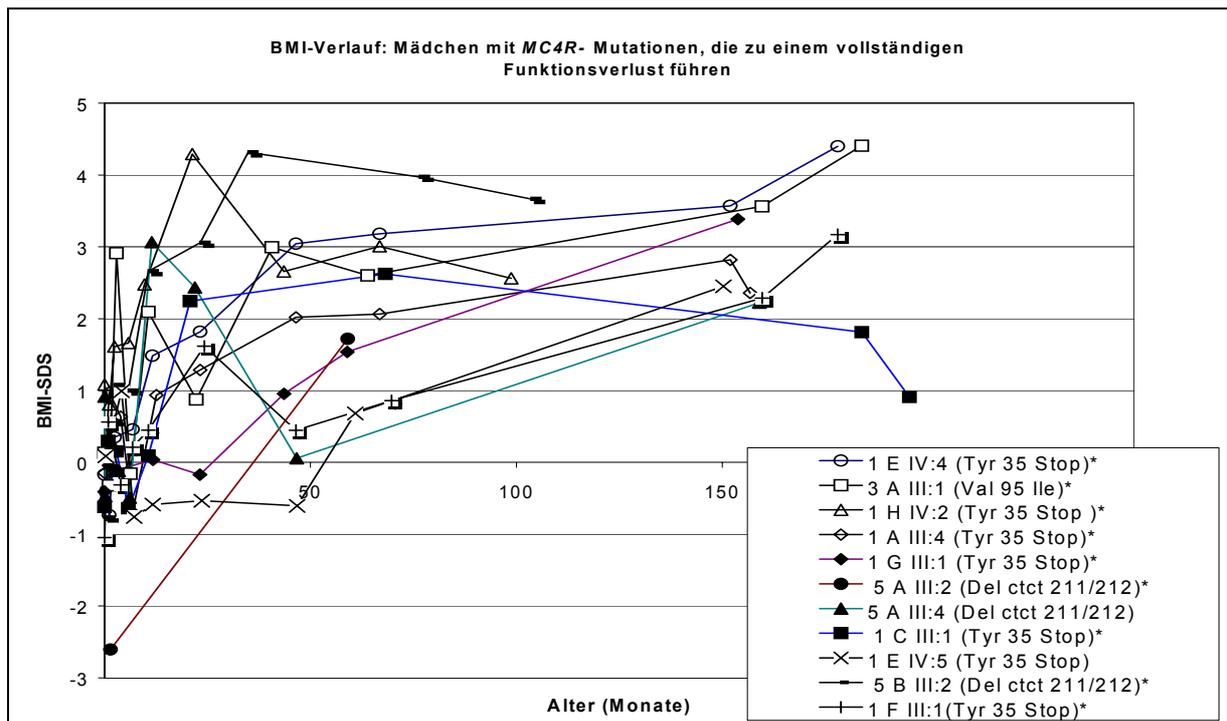


Abbildung 53: Gewichtsverläufe von 11 Mädchen, die eine *MC4R*-Mutation tragen, welche zu einem totalen Funktionsverlust des Rezeptors führt. Im Alter von ca. 5 Jahren hat lediglich eine Person die 1. SDS noch nicht nachweislich überschritten. Im Alter von ca. 12 Jahren überschreiten alle die 2. SDS. 7 von 11 Mädchen erreichen im dargestellten Zeitraum die 3. SDS.

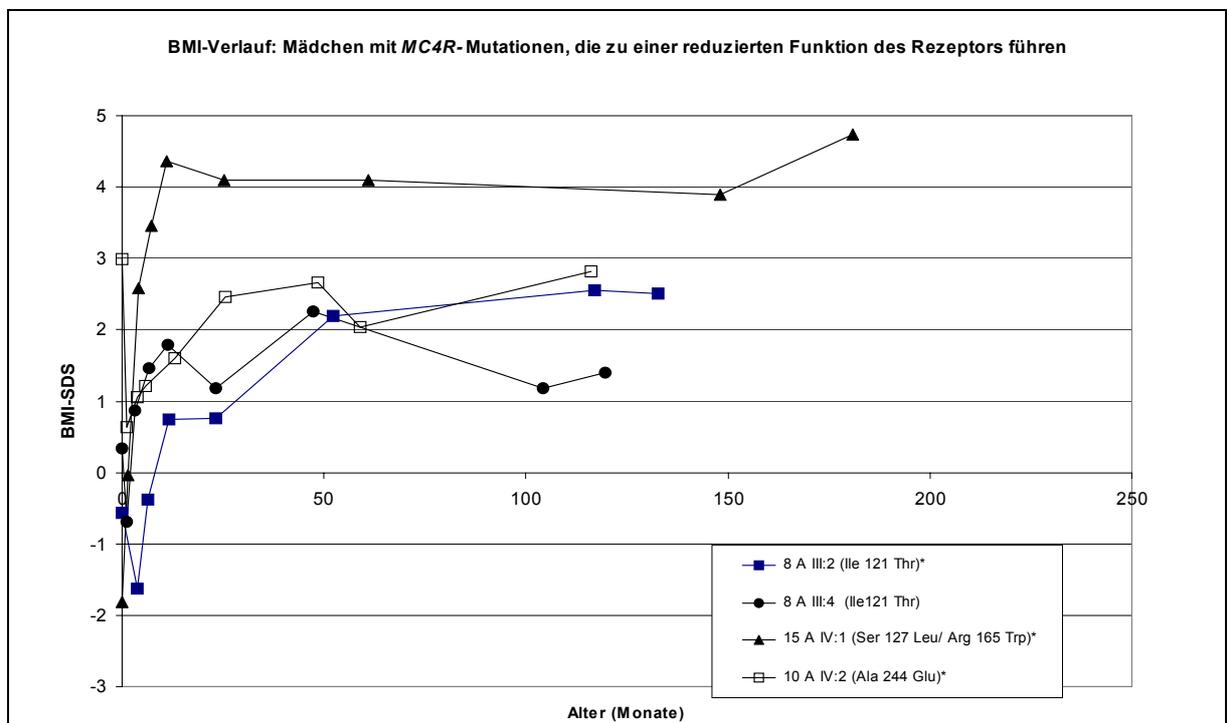


Abbildung 54: Gewichtsverläufe von Mädchen mit einer *MC4R*-Mutation, die zu einer reduzierten Funktion des Rezeptors führt. Im Alter von ca. 4 Jahren haben alle vier Mädchen die 1. und 2. SDS des BMI überschritten.

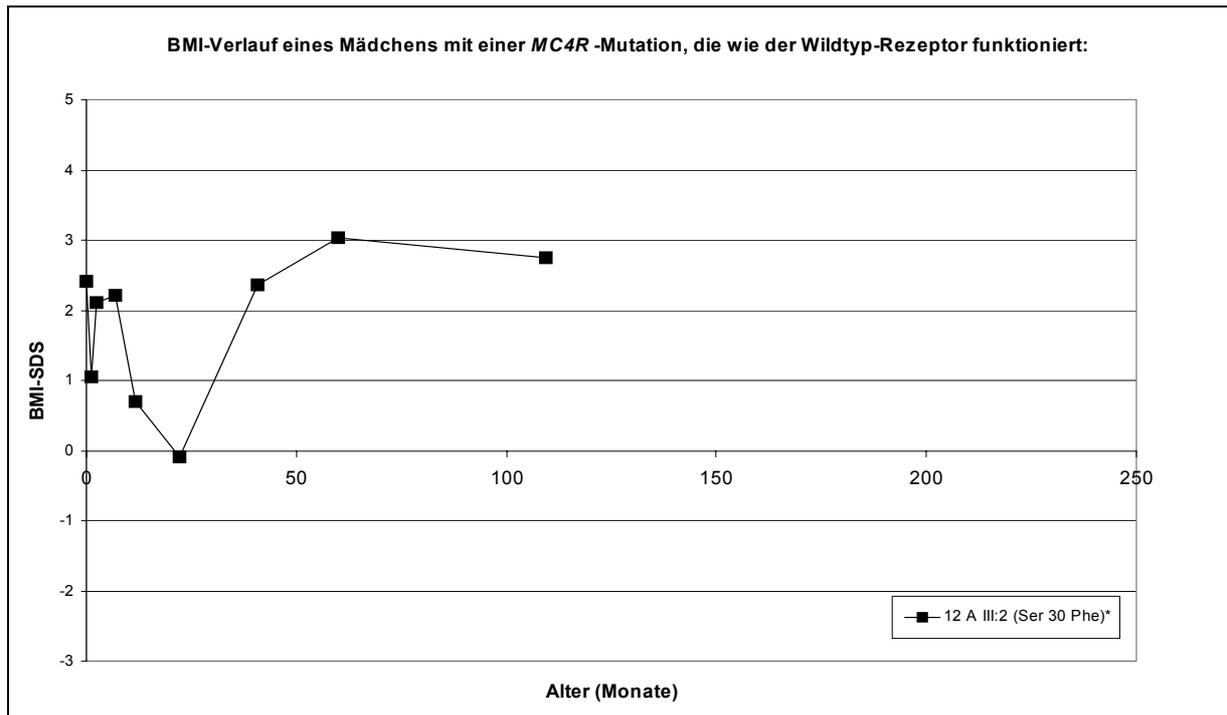


Abbildung 55: Gewichtsverlauf eines Mädchens, das eine funktionell nicht relevante *MC4R*-Mutation trägt.

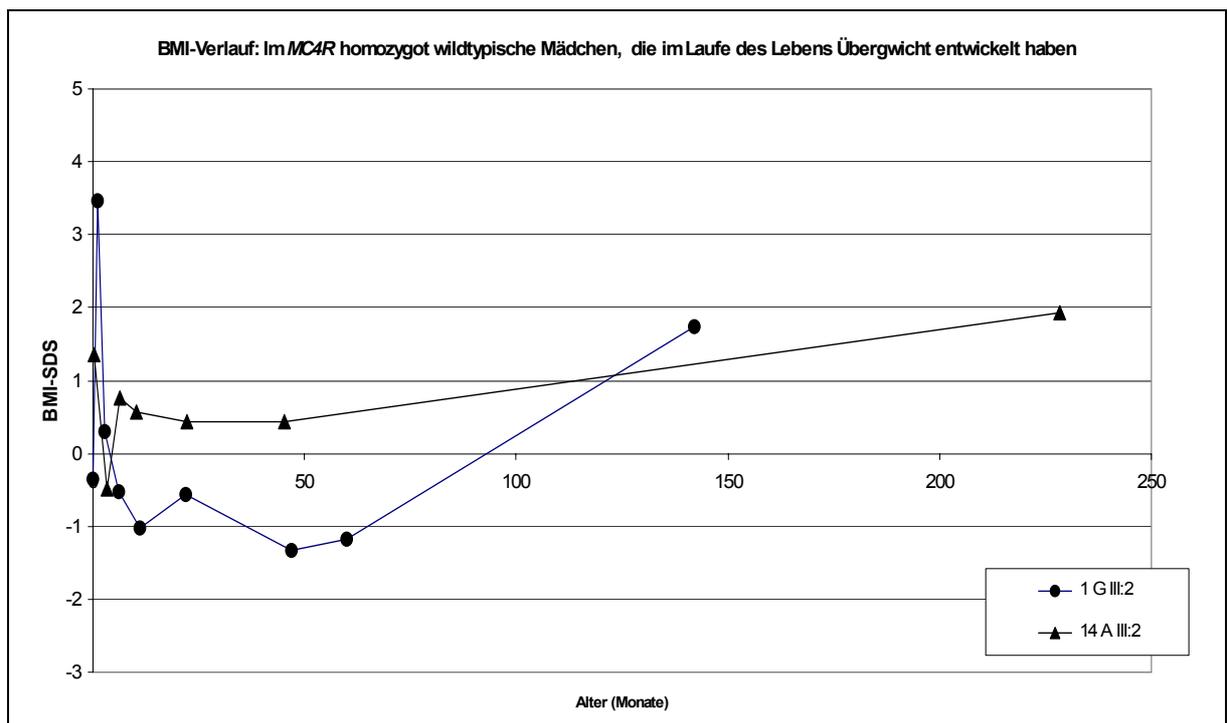


Abbildung 56: Gewichtsverläufe von 2 Mädchen - Geschwister von Indexpatienten - die im *MC4R* Wildtypen sind, jedoch im Laufe des Lebens Übergewicht entwickelten.

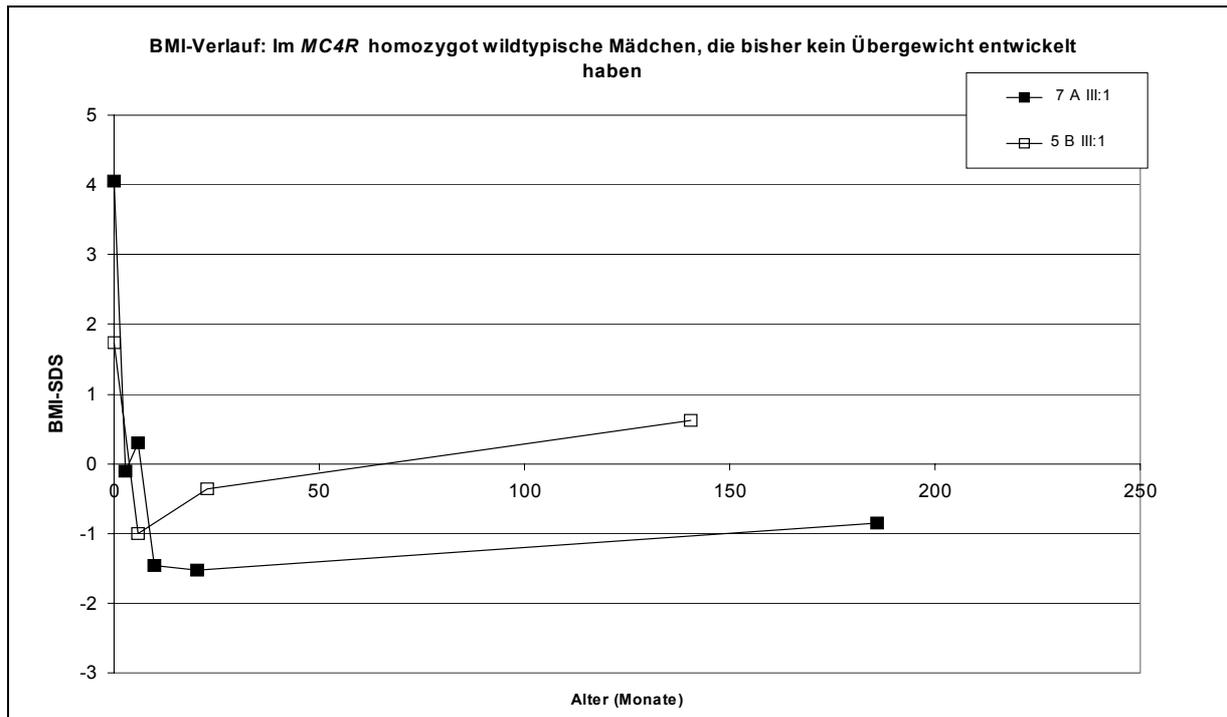


Abbildung 57: Gewichtsverläufe von 2 Mädchen, die im *MC4R* Wildtypen sind und bisher kein Übergewicht entwickelten.

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die folgenden Damen und Herren, denen ich herzlich danke:

An der Philipps-Universität in Marburg:

Professor Hebebrand, Dr. Hinney und Professor Remschmidt

An der Kinderklinik St. Hedwig in Regensburg:

Frau Gschrey, Herr Schindler, Dr. Kändler und Professor Segerer

An der Johann Wolfgang von Goethe-Universität in Frankfurt:

Dr. Allers, Dr. Bickeböller, Professor Böhles, Professor Braag, Professor Caspary, Professor Dräger, Professor Encke, Professor Enzensberger, Professor Hofstätter, Professor Jonas, Dr. Jordan, Professor Kaltwasser, Professor Kornhuber, Dr. Kramer, Professor v. Löwenich, Dr. Markus, Professor Mitrou, Dr. Paolucci, Professor Pannicke, Dr. Rabenau, Dr. Richter, Professor Scharrer, Dr. Sachs, Dr. Schäfer, Professor Scheuermann, Dr. Schmidt-Matthiesen, Professor Schneider, Dr. Stein, Dr. Oremek, Dr. Valentin und Professor Zanella

Ferner:

Dr. Kranicke, Dr. Meyer, Dr. Perchermeyer, Dr. Sarikaya und Dr. Schopotti.

Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich bei Herrn Professor Johannes Hebebrand für die Vergabe des Themas, für die engagierte persönliche Betreuung und die ständige Diskussionsbereitschaft während der gesamten Arbeit.

Ich danke Frau Dr. Anke Hinney für den molekulargenetischen Teil der Arbeit sowie für die Unterstützung, die ich während meiner Zeit in der Klinischen Forschergruppe erfahren habe.

Bei Frau Dr. Monika Heinzl-Gutenbrunner und Frau Dipl. Math. Astrid Dempfle bedanke ich mich herzlich für die gute Zusammenarbeit und die Unterstützung hinsichtlich des statistischen Teils meiner Arbeit.

Bei allen Mitgliedern der Klinischen Forschergruppe, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben, bedanke ich mich. Besonders erwähne ich Herrn Wolfgang Grassl und Herrn Francisco Fontenla Horro. Beide waren kompetente und jederzeit hilfsbereite Ratgeber vor allem in Fragen bezüglich der EDV.

Besonderer Dank gilt auch den Probanden, die bereitwillig an unserer Untersuchung teilgenommen haben, und so die Studie erst möglich machten.

Teile der vorliegenden Arbeit sind unter folgenden Titeln veröffentlicht:

Artikel in Zeitschriften:

Übersichtsartikel für die Deutsche Medizinische Wochenschrift, 2003, 128, S. 447-452.

Bedeutung des melanocortineren Systems für die Gewichtsregulation

M. Raab, A. Hinney, W. Grassl, H. Remschmidt, J. Hebebrand.

Monatsschrift Kinderheilkunde, 2002, 150, S. 1275.

Genetics of obesity

M. Raab, A. Hinney, F. Fontenla Horro, J. Hebebrand.

Kongressbeiträge:

28. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie, Berlin, April 2002:

Autosomal dominant erbliche Adipositas durch Mutationen im Melanocortin-4-Rezeptorgen: Familienstudien

M. Raab, W. Grassl, A. Hinney, H. Schäfer, H. Remschmidt, J. Hebebrand.

98. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Leipzig, September 2002:

Autosomal dominant erbliche Adipositas durch Mutationen im Melanocortin-4-Rezeptorgen

M. Raab, A. Hinney, W. Grassl, J. Hebebrand.

13. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik, Leipzig, Oktober 2002:

Autosomal dominantly inherited obesity: mutations in the melanocortin-4 receptor gene

M. Raab, A. Hinney, M. Heinzl-Gutenbrunner, A. Dempfle, F. Fontenla Horro, H. Remschmidt, J. Hebebrand.

18. Jahrestagung der Deutschen Adipositas Gesellschaft, Dresden, Oktober 2002:

Im Kindesalter beginnende autosomal dominant erbliche Adipositas durch Mutationen im Melanocortin-4-Rezeptorgen

M. Raab, A. Hinney, M. Heinzl-Gutenbrunner, A. Dempfle, F. Fontenla Horro, H. Remschmidt, J. Hebebrand.

Glücksburger Auxologie-Tage, Schloss Glücksburg, 15. November 2002:

Genetische Aspekte der Adipositas

M. Raab und J. Hebebrand.

The genetic and molecular basis of human disease: A symposium of the German National Genome Research Network (NGFN), Berlin, 17-19.11.02.

Different approaches to estimate the effect of autosomal dominantly inherited mutations in the melanocortin-4 receptor gene on obesity

A. Dempfle, **M. Raab**, M. Heinzel-Gutenbrunner, J. Hebebrand.