

AUS DEM INSTITUT FÜR KLINISCHE CHEMIE UND LABORATORIUMSMEDIZIN  
(LEITER PROF. DR. MED. M. NAUCK)  
DER UNIVERSITÄTSMEDIZIN DER ERNST-MORITZ-ARNDT-UNIVERSITÄT GREIFSWALD

---

# Serum Prolaktin-Konzentrationen als Risikofaktor des Metabolischen Syndroms oder Typ 2 Diabetes Mellitus?

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin  
(Dr. med.)

der

Universitätsmedizin

der

Ernst-Moritz-Arndt-Universität

Greifswald

2013

vorgelegt von

**Lisa Balbach**

geb. am 10.06.1988

in Berlin

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Max P. Bauer  
1. Gutachter: Prof. Dr. med. H. Wallaschowski  
2. Gutachter: Prof. Dr. med. M. Blüher

Ort, Raum: Greifswald, Universitätsklinikum, Raum 0.65  
Tag der Disputation: 03.06.2016

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Methoden</b>	<b>2</b>
2.1	Studienpopulation und -design . . . . .	2
2.2	Datenerhebung und Laboranalysen . . . . .	3
2.3	Statistische Methoden . . . . .	5
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>6</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>11</b>
4.1	Fazit . . . . .	14
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>15</b>
<b>6</b>	<b>Literatur</b>	<b>16</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	
7.1	Publikation	
7.2	Eidesstattliche Erklärung	

## Abbildungsverzeichnis

- 1 Boxplots für den Zusammenhang der baseline Prolaktin-Konzentrationen (25. und 75. Perzentil) und der Anzahl Metabolischer Syndrom Komponenten zum 5-Jahres-Follow-up; getrennt nach Männern und Frauen. . . . . 10

## Tabellenverzeichnis

- 1 Baseline Charakteristika der Studienpopulation; stratifiziert nach dem Geschlecht. . . . . 7
- 2 Assoziation zwischen der Serum Prolaktin-Konzentration und dem Metabolischen Syndrom sowie dem Typ 2 Diabetes Mellitus im Quer- und Längsschnitt. . . . . 9

# Abkürzungsverzeichnis

<b>ATC-Code</b>	Anatomical Therapeutic Chemical Code (Anatomisch-therapeutisch-chemisches Klassifikationssystem)
<b>BMI</b>	Body Mass Index
<b>CI</b>	Konfidenzintervall
<b>HDL</b>	high-density lipoprotein (Lipoprotein hoher Dichte)
<b>HOMA-IR</b>	Homeostasis Model Assessment Index
<b>LDL</b>	low-density lipoprotein (Lipoprotein niedriger Dichte)
<b>MetS</b>	Metablisches Syndrom
<b>PRL</b>	Prolaktin
<b>Q</b>	Quartil
<b>RR</b>	Relatives Risiko
<b>SD</b>	Standardabweichung
<b>SHIP</b>	Study of Health in Pomerania
<b>T2DM</b>	Typ 2 Diabetes Mellitus

# 1 Einleitung

Prolaktin (PRL), ein Hormon der Hypophyse, ist essenziell für verschiedene physiologische Funktionen im menschlichen Körper.<sup>1-3</sup> Es ist nicht nur bedeutsam für die Initiation und Aufrechterhaltung der Laktation, sondern ist darüber hinaus involviert in Reproduktion, Wachstum und Entwicklung, Osmoregulation, Gehirnfunktion, Verhalten und andere metabolische Vorgänge im menschlichen Organismus.<sup>1-3</sup> Der PRL-Rezeptor wird in verschiedenen Geweben und Zellen, wie lymphoiden Zellen, im Endometrium, in der Prostata und in den Adipozyten exprimiert.<sup>1-3</sup>

Das im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit bedeutsame Metablisches Syndrom (MetS) beschreibt das gehäufte Auftreten von kardiovaskulären Risikofaktoren, wie Übergewicht, Hypertriglyceridämie, Hypertonus und Insulinresistenz<sup>4,5</sup> und ist häufig mit der Entwicklung eines Typ 2 Diabetes Mellitus (T2DM) assoziiert.

Es existieren jedoch nur wenige Beobachtungsstudien hinsichtlich eines potentiellen Zusammenhangs zwischen PRL und einem T2DM beziehungsweise einem MetS. Dabei lassen experimentelle Studien durchaus einen Einfluss von PRL auf den T2DM mit metabolischen Effekten auf das Fettgewebe,<sup>2,3</sup> die Entwicklung und das Wachstum der  $\beta$ -Zellen des Pankreas,<sup>6,7</sup> eine Insulinresistenz<sup>3,8</sup> sowie den Lipidstoffwechsel<sup>3,9</sup> vermuten. Die Fähigkeit von PRL, die Insulinfreisetzung zu stimulieren sowie die Adiponektin- und Interleukin-6-Freisetzung zu unterdrücken, deutet auf eine potentielle Rolle von PRL hinsichtlich der Manifestation einer Insulinresistenz hin.<sup>2</sup> Während einige Studien zu dem Ergebnis kamen, dass PRL das Wachstum bzw. die Entwicklung von pankreatischen  $\beta$ -Zellen fördert und die Insulinsekretion unterstützt,<sup>6,7</sup> konnten andere Studien keinen Zusammenhang zwischen PRL und metabolischen Störungen feststellen.<sup>10</sup>

Eine Beobachtungsstudie unter Patienten mit erektiler Dysfunktion zeigte eine Assoziation zwischen niedrigen PRL-Konzentrationen und ungünstigen kardiovaskulären Risikoprofilen sowie anderen klinischen Ereignissen.<sup>11</sup> Allerdings stand in den meisten der früheren Studien<sup>10,11</sup> die Korrelation zwischen PRL und kardio-metabolischen Risikofaktoren, einschließlich des MetS oder des T2DM, nicht im

Hauptfokus. Zudem wurden die früheren Studien lediglich mit kleinen und stark selektierten Patientenpopulationen durchgeführt, wobei relevante Störfaktoren nicht ausreichend berücksichtigt wurden.

Aufgrund der schlechten Vergleichbarkeit und der nur beschränkten Aussagekraft der oben aufgeführten bisherigen Studien ist es deshalb das Ziel der vorliegenden Arbeit, auf Basis der populationsbasierten Kohortenstudie Study of Health in Pomerania (SHIP) mit einem großen, repräsentativen Kollektiv von 3.993 Probanden, die möglichen Assoziationen von PRL zu einem MetS beziehungsweise einem T2DM zu untersuchen.

## 2 Methoden

### 2.1 Studienpopulation und -design

Die SHIP-Studie ist eine populationsbasierte Kohortenstudie aus Vorpommern, einer Region im nord-östlichen Teil Deutschlands. Details bezüglich des Studiendesigns, der Rekrutierung und Datenerhebung wurden bereits veröffentlicht.<sup>12</sup> Dabei erfolgte im Jahr 1996 aus der Gesamtbevölkerung von Vorpommern mit 213.057 Einwohnern eine zweistufig geschichtete Stichprobe von Erwachsenen im Alter von 20-79 Jahren. Die Netto-Stichprobe (ohne migrierte oder verstorbene Personen) umfasste 6.265 teilnahmefähige Probanden. Es wurden nur Personen mit deutscher Staatsangehörigkeit und Wohnsitz in dem Hauptuntersuchungsgebiet eingeschlossen. Alle Probanden erhielten ein Maximum von drei schriftlichen Einladungen. In Fällen von Nichtbeantwortung folgten auf die Briefe wiederholte Telefonanrufe oder aber Hausbesuche, wenn der Kontakt per Telefon nicht möglich war.<sup>13</sup>

Nach Erteilung der schriftlichen Einwilligung wurden zwischen 1997 und 2001 4.308 Teilnehmer (davon 2.192 Frauen) der Basisstudie (SHIP-0) untersucht (Response 68,8%). Während des Fünf-Jahres-Follow-ups (SHIP-1) wurden zwischen 2002 und 2006 3.300 Teilnehmer (davon 1.711 Frauen) erneut untersucht (Response 83,6%). Die Studie entsprach den Prinzipien der Deklaration von Helsinki; die Ethikkommission der Universität Greifswald genehmigte das Protokoll. Von den

4.308 Teilnehmern der Baseline Studie wurden Individuen nach folgenden Kriterien ausgeschlossen: fehlende PRL-Daten ( $N = 169$ ), PRL-Konzentration  $> 100 \mu\text{g/l}$  ( $N = 16$ ), Schwangerschaft ( $N = 8$ ), Erkrankungen der Hypophyse ( $N = 1$ ) oder fehlende Daten für Kovarianten ( $N = 121$ ). Die endgültige Studiengröße umfasste somit 3.993 Personen (davon 2.027 Frauen).

## 2.2 Datenerhebung und Laboranalysen

Informationen über sozio-demographische Merkmale und den gesundheitsbezogenen Lebensstil einschließlich Rauchgewohnheiten (kategorisiert in Raucher, ehemalige-Raucher und Nicht-Raucher), Bildungsniveau ( $< 10$ ,  $= 10$  oder  $> 10$  Jahre Schulbildung), Parität (Anzahl leiblicher Kinder), körperliche Aktivität ( $> 1$  h/Woche körperliches Training im Sommer oder Winter) und Alkoholkonsum wurden durch persönliche Interviews erhoben. Der Taillenumfang wurde auf 0,1 cm genau mit einem unelastischen Band in der Mitte zwischen dem unteren Rippenbogen und dem Beckenkamm in der horizontalen Ebene, in stehender Haltung und mit gleichmäßiger Gewichtsverteilung auf beide Füße gemessen. Körpergröße und Gewicht wurden für die Berechnung des Body Mass Index (BMI) ( $\text{Körpergewicht [kg]} / (\text{Körpergröße [m]}^2)$ ) gemessen.

Nach einer Ruhezeit von mindestens fünf Minuten wurde der systolische und diastolische Blutdruck dreimal am rechten Arm des sitzenden Teilnehmers mit einem oszillometrischen digitalen Blutdruckmessgerät (HEM-705CP, Omron Corporation, Tokyo, Japan) gemessen. Das Intervall zwischen den Messungen betrug drei Minuten. Der mittlere systolische und diastolische Blutdruck wurde aus der zweiten und dritten Messung berechnet.<sup>14</sup>

Der menopausale Status (prä- und postmenopausal) wurde nach einer vorher festgelegten Definition bestimmt. Als prämenopausal wurden Frauen  $< 40$  Jahre oder zwischen 40 und 60 Jahren und bestehendem Menstruationszyklus eingestuft; als postmenopausal eingeordnet wurden Frauen  $\geq 60$  Jahre und alle Frauen zwischen 40 und 60 Jahren, die über keinen Menstruationszyklus berichteten.<sup>15</sup>

Die Messung der Serum HDL-(High-Density-Lipoprotein) Konzentrationen erfolgte zu Studienbeginn photometrisch (Hitachi 704, Roche, Mannheim, Deutschland), wohingegen die high-density lipoprotein (Lipoprotein hoher Dichte) (HDL)-



Konzentrationen beim Follow-up mit Hilfe einer Lipid-Elektrophorese (HELENA SAS-3-System, 7 Helena Bio Sciences Europe, Tyne & Wear, UK) ermittelt wurden.

Um die Vergleichbarkeit der HDL-Analysen im Längsschnitt zu gewährleisten, der Ausgangswert der SHIP-0-HDL-Konzentrationen als Referenz verwendet. Mithilfe einer zuvor veröffentlichten Umrechnungsformel konnten die korrigierten SHIP-1-HDL-Konzentrationen berechnet werden.<sup>16</sup> Dabei konnte festgestellt werden, dass die durchschnittlichen HDL-Konzentrationen beider Methoden praktisch identisch, und damit die Unterschiede im HDL nur von geringer Relevanz waren.<sup>17</sup> Die Serum Triglycerid- und Glukosekonzentrationen wurden enzymatisch unter Verwendung von Reagenzien von Roche Diagnostics ermittelt (Hitachi 717, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Die Bestimmung von glykiertem Hämoglobin (HbA1c) erfolgte durch eine Hochleistungs-Flüssigchromatographie (Bio-Rad, München, Deutschland).

Im Verlauf der Studie betrug der Variationskoeffizient zwischen den Analysen für HbA1c 2,76 % im niedrigen Pool und 1,38 % im hohen Pool. Alle Analysen wurden nach Empfehlungen der Hersteller von qualifiziertem Fachpersonal durchgeführt und täglichen internen Qualitätskontrollen unterzogen. Darüber hinaus beteiligte sich das Labor an den offiziellen deutschen, vierteljährlichen externen Eignungsprüfungsprogrammen.

Der T2DM wurde auf der Basis eigener Angaben, der ärztlichen Diagnose oder dem Einsatz von Antidiabetika (ATC-Code A10) in den letzten sieben Tagen oder durch HbA1c Konzentrationen  $> 6,5\%$  definiert. Die diagnostischen Kriterien für die Beurteilung der MetS Komponenten wurden gemäß der gemeinsamen wissenschaftlichen Erklärung zum MetS<sup>18</sup> definiert und wie bereits zuvor in der SHIP-Studie<sup>19-22</sup> und anderen großen Kohortenstudien<sup>23</sup> für die Verwendung der Blutproben wie folgt modifiziert:

1. erhöhter Taillenumfang: Männer  $> 94$  cm, Frauen  $> 80$  cm;
2. erhöhter Blutzucker:  $\geq 8,0$  mmol/l oder antidiabetische Behandlung (ATC-Codes A10A, A10B);
3. vermindertes HDL-Cholesterin: Männer  $< 1,0$  mmol/l, Frauen  $< 1,3$  mmol/l, oder lipidsenkende Medikation (ATC-Codes C10AB, A10AD);

4. erhöhte Nicht-Nüchtern-Triglyceride:  $\geq 2,3$  mmol/l oder lipidsenkende Medikation (ATC-Codes C10AB, A10AD);
5. erhöhter Blutdruck:  $\geq 130/85$  mmHg oder selbstberichtete medikamentöse antihypertensive Therapie.

Von einem MetS bei den Teilnehmern wurde dann ausgegangen, wenn mindestens drei von diesen fünf Komponenten vorhanden waren.

Die Analyse der PRL-Konzentrationen erfolgte aus eingefrorenen Seren ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) der Basis-Teilnehmer. Die Blutproben wurden aus der Kubitalvene in Rückenlage zwischen 7.00 und 19.00 Uhr abgenommen. Die Analyse erfolgte unter Verwendung eines chemiluminescentimmunometric Assay mittels eines Immulite 2500 Analysators (Ref. L5KPR, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland). Ein Aliquot von zwei alternierenden Niveaus von einem dritten kommerziellen Kontrollmaterial (Bio-Rad Lyphochek Immunoassay Plus-Control, Bio-Rad, München, Deutschland) war in jeder Serie beider einzelnen Bestimmungen enthalten. Im Verlauf der Studie lag der Variationskoeffizient zwischen den Analysen bei 5,6 % mit einer systematischen Abweichung von  $-4,3\%$  auf dem  $6,3\ \mu\text{g/l}$ -Niveau, und 4,3 % mit einer systematischen Abweichung von  $-6,4\%$  auf dem  $14,5\ \mu\text{g/l}$ -Niveau. Die analytische Sensitivität betrug  $0,5\ \mu\text{g/l}$  bei einem effektiven Messbereich von  $0,5$  bis  $150\ \mu\text{g/l}$ .

## 2.3 Statistische Methoden

Kategoriale Daten wurden in Prozent und kontinuierliche Daten als Median ( $p_{25}^{\text{th}}$ ,  $p_{75}^{\text{th}}$ ) ausgedrückt. Geschlechtsbezogene Unterschiede wurden mit dem  $\chi^2$ -Test (kategoriale Daten) und dem Mann-Whitney-U-Test (kontinuierliche Daten) untersucht. Die stark asymmetrisch verteilten PRL-Werte wurde log-transformiert, um eine Normalverteilung zu modellieren.

Zur Analyse von Quer- und Längsschnittassoziationen zwischen PRL, MetS und T2DM wurden alters-adjustierte und multivariable Poisson-Regressionsmodelle mit robusten Standardfehlern implementiert. Die Ergebnisse wurden präsentiert als Relatives Risiko (RR), inklusive 95 % Konfidenzintervalle (95 % CI), pro SD Anstieg der kontinuierlichen log-PRL-Variablen beziehungsweise für geschlechtsspe-

zifisch kategorisierte PRL-Quartile. Die longitudinalen Inzidenz-Analysen wurden nur bei Personen ohne MetS und T2DM zu SHIP-0 durchgeführt. In Trend-Tests wurden die PRL-Quartile als ordinale Variablen in den Regressionsmodellen berücksichtigt.

Multivariable Regressionsmodelle wurden für die Kovariablen Alter, BMI, Rauchen, körperliche Aktivität, Bildungsniveau und Alkoholkonsum adjustiert.

Alle Analysen wurden geschlechtsgetrennt durchgeführt. Die Validität der Ergebnisse wurde durch verschiedene Sensitivitätsanalysen überprüft. Bei Frauen wurden die multivariablen Regressionsmodelle zusätzlich für den menopausalen Status und die Parität adjustiert. Sämtliche Regressionsanalysen wurden nach dem Ausschluss von 184 Individuen, die PRL beeinflussende Medikamente wie Metoclopramid (A03FA01, A03FA03, N02CX59), Cimetidin (A02BA01), Reserpin (C02LA01), Methyldopa (C02AB) und Psychoanaleptika (ATC-Code N06) einnahmen, wiederholt.<sup>24</sup> Der mögliche Einfluss des Non-Response-Bias auf die untersuchten Zusammenhänge wurde durch eine Gewichtung der Teilnahmewahrscheinlichkeit abgeschätzt.<sup>25</sup>

Schließlich wurden die multivariablen Regressionsmodelle bezüglich des Blutentnahmezeitpunkts adjustiert, um die potenziellen Auswirkungen des zirkadianen Rhythmus der PRL-Sekretion auf die Ergebnisse zu bewerten. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0.05$  festgelegt. Alle statistischen Analysen wurden mit Hilfe des Statistiksoftwarepakets Stata 11.0 (Stata Corporation, College Station, TX, USA) durchgeführt.

### 3 Ergebnisse

Vergleicht man die Baseline Charakteristika der Studienstichprobe bezogen auf das Geschlecht, so wiesen männliche Probanden signifikant niedrigere PRL-Konzentrationen auf und hatten ein höheres Herz-Kreislauf-Risiko (unter Berücksichtigung von Rauchgewohnheiten, Alkoholkonsum, BMI, Blutdruck, Blutfettwerten und Blutzucker) als Frauen (Tabelle 1).

**Tabelle 1:** Baseline Charakteristika der Studienpopulation; stratifiziert nach dem Geschlecht.

	<b>Männer (N = 1,966)</b>	<b>Frauen (N = 2,027)</b>	<b>p-value*</b>
Alter, Jahre	52,1 (37,4; 65,3)	49,5 (36,0; 62,3)	< 0,001
Serum Prolaktin, µg/l	4,9 (3,6; 6,9)	6,5 (4,5; 9,4)	< 0,001
Aktuelle Raucher, %	33,5	26,9	< 0,001
Körperliche Aktivität, %	41,0	43,4	0,130
Alkoholkonsum, g/d	11,9 (1,5; 27,9)	2,5 (0,0; 7,2)	< 0,001
Bildungsniveau			
< 10 Jahre	42,7	37,8	< 0,001
= 10 Jahre	39,8	46,8	
> 10 Jahre	17,5	15,3	
Body Mass Index, kg/m <sup>2</sup>	27,3 (24,9; 29,9)	26,1 (22,8; 30,2)	< 0,001
Taillenumfang, cm	95,2 (87,5; 102,9)	81,5 (72,8; 92,1)	< 0,001
Systolischer Blutdruck, mmHg	140,5 (129,5; 153,0)	127,0 (114,5; 143,0)	< 0,001
Diastolischer Blutdruck, mmHg	85,0 (78,0; 93,0)	80,5 (73,5; 87,5)	< 0,001
Gesamt Serum Cholesterin, mmol/l	5,7 (4,9; 6,4)	5,7 (4,9; 6,5)	0,811
Serum Triglyceride, mmol/l	1,7 (1,2; 2,6)	1,3 (0,9; 1,9)	< 0,001
Serum LDL Cholesterin, mmol/l	3,6 (2,8; 4,3)	3,4 (2,7; 4,2)	0,002
Serum HDL Cholesterin, mmol/l	1,2 (1,0; 1,5)	1,5 (1,3; 1,8)	< 0,001
Serum Glukose, mmol/l	5,4 (5,0; 6,0)	5,2 (4,8; 5,7)	< 0,001
Glykiertes Hämoglobin A1c, %	5,4 (5,0; 5,9)	5,2 (4,8; 5,7)	< 0,001
Metabolisches Syndrom, %	34,0	22,2	< 0,001
Typ 2 Diabetes Mellitus, %	12,6	9,0	< 0,001

Die Daten wurden als Prozentsätze oder Median angegeben (p 25th; p 75th).

LDL-Cholesterin (low-density lipoprotein Cholesterin); HDL-Cholesterin (high-density lipoprotein Cholesterin)

\*Geschlechtsspezifische Unterschiede wurden mit  $\chi^2$ -Test (kategoriale Daten) und Whitney-Mann-U-Test (kontinuierliche Daten) getestet.

Auch die Prävalenz des MetS (34,0 % vs. 22,2 %) und des T2DM (12,6 % vs. 9,0 %) war bei Männern höher als bei Frauen.

Im Querschnitt zeigte sich im altersadjustierten Regressionsmodell eine inverse Assoziation zwischen PRL und dem MetS Risiko bei Frauen (Q1 vs. Q4: RR, 1,32, 95 % CI, 1,04-1,66), aber nicht bei Männern (Q1 vs. Q4: RR, 1,15, 95 % CI, 0,97-1,37). Diese geschlechtsspezifischen Zusammenhänge konnten jedoch nach multivariabler Adjustierung nicht aufrechterhalten werden (Tabelle 2).

Dagegen fand sich in alters- und multivariabel adjustierten Regressionsmodellen eine konsistente Assoziation zwischen niedrigen PRL-Konzentrationen und einem prävalenten T2DM (Männer: Q1 vs. Q4: RR, 1,55; 95 % CI, 1,13-2,14; Frauen: Q1 vs. Q4: RR, 1,70; 95 % CI, 1,10-2,62). Darüber hinaus zeigten die Trend-Analysen eine progressive inverse Beziehung über alle PRL-Quartile hinweg. Ebenso waren höhere PRL-Konzentrationen mit einem deutlich niedrigeren T2DM Risiko assoziiert (RR pro SD Anstieg des log-PRL: 0,83; 95 % CI, 0,72-0,95 bei Männern, und 0,84; 95 % CI, 0,71-0,98 bei Frauen).

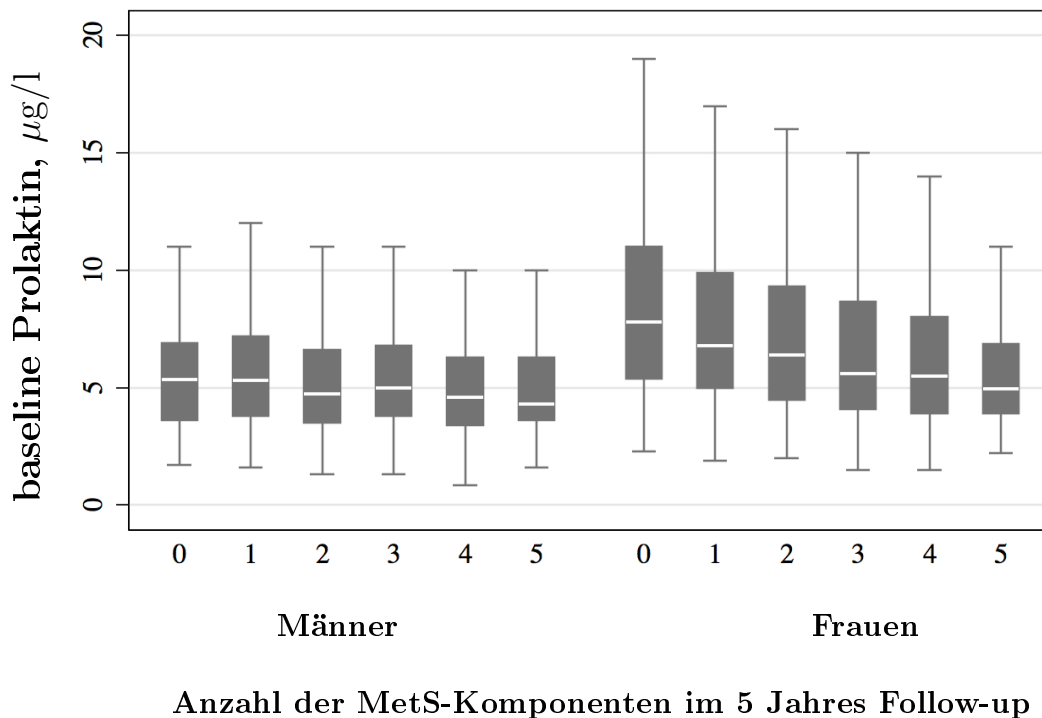
**Tabelle 2:** Assoziation zwischen der Serum Prolaktin-Konzentration und dem Metabolischen Syndrom sowie dem Typ 2 Diabetes Mellitus im Quer- und Längsschnitt.

	METABOLISCHES SYNDROM				DIABETES MELLITUS TYP 2			
	Querschnitt		Längsschnitt		Querschnitt		Längsschnitt	
	Alters adjustiertes Model	Multivariabel adjustiertes Model	Alters adjustiertes Model	Multivariabel adjustiertes Model	Alters adjustiertes Model	Multivariabel adjustiertes Model	Alters adjustiertes Model	Multivariabel adjustiertes Model
<b>Prolaktin</b>	<b>Männer</b>							
<b>pro SD</b>	0,95	0,95	1,05	1,04	0,84	0,83	1,20	1,19
<b>Anstieg</b>	(0,89; 1,02)	(0,89; 1,01)	(0,95; 1,15)	(0,95; 1,14)	(0,73; 0,96) <sup>†</sup>	(0,72; 0,95) <sup>†</sup>	(0,98; 1,47)	(0,96; 1,47)
<b>Quartile (Q4 Ref.)</b>								
<b>Q1</b>	1,15 (0,97; 1,37)	1,15 (0,98; 1,35)	0,83 (0,64; 1,06)	0,87 (0,68; 1,10)	1,55 (1,12; 2,13) <sup>†</sup>	1,55 (1,13; 2,14) <sup>†</sup>	0,71 (0,41; 1,23)	0,78 (0,45; 1,35)
<b>Q2</b>	1,06 (0,89; 1,28)	1,03 (0,87; 1,22)	0,94 (0,74; 1,19)	0,94 (0,75; 1,18)	1,14 (0,81; 1,61)	1,11 (0,79; 1,56)	0,73 (0,42; 1,26)	0,78 (0,45; 1,33)
<b>Q3</b>	1,04 (0,87; 1,25)	1,02 (0,85; 1,21)	0,91 (0,72; 1,16)	0,94 (0,75; 1,18)	0,92 (0,63; 1,33)	0,92 (0,64; 1,33)	0,76 (0,44; 1,32)	0,72 (0,41; 1,27)
<b>Trend-Test</b>	0,104	0,076	0,172	0,276	0,002	0,002	0,253	0,472
<b>Prolaktin</b>	<b>Frauen</b>							
<b>pro SD</b>	0,92	0,97	0,89	0,92	0,81	0,84	1,09	1,13
<b>Anstieg</b>	(0,85; 1,00)	(0,90; 1,05)	(0,79; 1,00)	(0,83; 1,02)	(0,68; 0,95) <sup>†</sup>	(0,71; 0,96) <sup>†</sup>	(0,82; 1,45)	(0,89; 1,44)
<b>Quartile (Q4 Ref.)</b>								
<b>Q1</b>	1,32 (1,04; 1,66) <sup>†</sup>	1,11 (0,89; 1,39)	1,26 (0,95; 1,68)	1,15 (0,86; 1,53)	1,89 (1,21; 2,96) <sup>†</sup>	1,70 (1,10; 2,62) <sup>†</sup>	0,88 (0,44; 1,78)	0,73 (0,37; 1,43)
<b>Q2</b>	1,13 (0,89; 1,44)	1,04 (0,83; 1,32)	1,22 (0,91; 1,63)	1,16 (0,87; 1,54)	1,82 (1,15; 2,86) <sup>†</sup>	1,69 (1,09; 2,63) <sup>†</sup>	0,81 (0,39; 1,68)	0,75 (0,37; 1,50)
<b>Q3</b>	1,11 (0,86; 1,44)	1,07 (0,83; 1,32)	0,73 (0,51; 1,04)	0,78 (0,55; 1,11)	1,29 (0,77; 2,16)	1,26 (0,76; 2,09)	1,00 (0,48; 2,06)	1,08 (0,53; 2,20)
<b>Trend-Test</b>	0,016	0,399	0,013	0,106	0,001	0,001	0,633	0,224

<sup>†</sup> $p < 0,05$ ; SD, Standardabweichung. Das multivariable Regressionsmodell wurde für Alter, Body Mass Index, Rauchgewohnheit (drei Kategorien), körperliche Aktivität, Bildungsniveau (drei Kategorien) und Alkoholkonsum adjustiert.

Nach einer mittleren Nachbeobachtungszeit von fünf Jahren (Zeitspanne: 4,4 bis 8,5 Jahren) wurden 3.078 Personen (davon 1.589 Frauen) wiederholt untersucht. Unter den zu Beginn der Studie gesunden Probanden entwickelten 27,7% ein inzidentes MetS und 5,3% einen inzidenten T2DM. Ein signifikanter Trend für Frauen zeigte sich bei den longitudinalen Analysen, wobei niedrige PRL-Konzentrationen mit einer zunehmenden Anzahl von MetS Komponenten assoziiert waren ( $p = 0,033$ ). Dies galt aber nicht für die männlichen Probanden ( $p = 0,331$ ) (Abbildung 1).

**Abbildung 1:** Boxplots für den Zusammenhang der baseline Prolaktin-Konzentrationen (25. und 75. Perzentil) und der Anzahl Metabolischer Syndrom Komponenten zum 5-Jahres-Follow-up; getrennt nach Männern und Frauen.



Eine Varianzanalyse zeigte einen signifikanten inversen Trend für die Prolaktin-Konzentrationen über die Anzahl der Komponenten des Metabolischen Syndroms im Follow-up bei Frauen ( $p = 0,033$ ), aber nicht bei Männern ( $p = 0,331$ ).

Multivariable Regressionsanalysen zeigten keinen Zusammenhang zwischen PRL und der Inzidenz eines MetS beziehungsweise T2DM (Tabelle 2).

Die durchgeführten Sensitivitätsanalysen mit zusätzlicher Berücksichtigung des menopausalen Status und der Parität, dem Ausschluss von Individuen mit Hinweis auf die Einnahme von PRL beeinflussenden Medikamenten, der zusätzlichen Aufnahme von Ausschlusskriterien sowie der Anpassung des Blutentnahmezeitpunktes zeigten keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

## 4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit ist die erste umfassende, populationsbasierte Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen PRL und dem MetS beziehungsweise dem T2DM. Auf der Basis einer großen Stichprobe von 3.993 Individuen der allgemeinen Bevölkerung Vorpommerns konnte in Querschnittsanalysen anhand alters-adjustierter und multivariabler Regressionsmodelle eine inverse Assoziation zwischen niedrigen PRL-Konzentrationen und einem erhöhten Risiko für einen prävalenten T2DM festgestellt werden.

Die Ergebnisse bezüglich der Beziehung zwischen PRL und T2DM stehen im Einklang mit früheren Beobachtungsstudien.<sup>11,26,27</sup> Darunter war eine groß angelegte Studie mit 2.351 männlichen Patienten mit erektiler Dysfunktion, in welcher niedrige PRL-Konzentrationen mit einer steigenden Anzahl von MetS Faktoren assoziiert waren.<sup>26</sup> Vergleichbar mit der vorliegenden Arbeit konnten diese<sup>26</sup> und die darauf folgende Anschlussstudie<sup>11</sup> eine inverse Assoziation zwischen PRL und einem prävalenten T2DM feststellen.

Allerdings basieren beide Studien auf Daten von ausschließlich männlichen Patienten, was die Vergleichbarkeit mit der von uns präsentierten populationsbasierten Studie limitiert. Des Weiteren konnte eine Querschnittsstudie mit 345 gesunden Probanden im Alter von 30-55 Jahren eine negative Assoziation zwischen PRL und einer Insulinresistenz sowie ein doppeltes Risiko für ein prävalentes MetS pro Standardabweichung (SD) bei niedrigen PRL-Konzentrationen feststellen.<sup>27</sup>



Hinweise aus patientenbasierten Querschnittsstudien mit medikamentennaiven schizophrenen Patienten deuten darauf hin, dass hohe Dopaminspiegel mit daraus folgenden niedrigen PRL-Konzentrationen<sup>28,29</sup> mit einem erhöhten T2DM Risiko, einschließlich Insulinresistenz und erhöhter Nüchtern glukose,<sup>30</sup> verbunden sind. So wird vermutet, dass die typischen Psychopharmaka, durch Erhöhung der PRL-Konzentrationen mittels Inhibierung der D2 Rezeptoren, möglicherweise vor dem Entstehen und dem Voranschreiten eines T2DM schützen könnten.<sup>31</sup> Da jedoch diese früheren Studien<sup>28-30</sup> ausschließlich Querschnittsstudien waren, sind Ursache und Wirkung in der Assoziation zwischen PRL und T2DM schwer zu bestimmen. So lassen die Ergebnisse einer Interventionsstudie beispielsweise vermuten, dass die Insulinsekretion eine wichtige Determinante für die PRL-Freisetzung darstellt.<sup>9</sup> Auf der Suche nach möglichen Erklärungen zeigen zwei frühere Studien, dass Veränderungen im serotonergen System und die dadurch bedingten niedrigen PRL-Konzentrationen die Pathogenese des MetS beeinflussen.<sup>27,32</sup> Darüber hinaus weisen PRL-Rezeptor-defiziente Mäuse eine Beeinträchtigung der Entwicklung der pankreatischen  $\beta$ -Zellen auf, die letztlich zu einer abgestumpften Insulinantwort und milden Glucose-Intoleranz führt.<sup>7</sup>

Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen konnten Studien, welche Patienten mit pathologischer Hyperprolaktinämie aufgrund PRL sezernierender Tumoren (Prolaktinom) betrachteten, zeigen, dass nach Behandlung mit Dopaminagonisten, die reduzierten PRL-Konzentrationen zu einer erhöhten Insulinempfindlichkeit führten.<sup>33,34</sup> Diese Ergebnisse wurden jedoch lediglich in kleinen Patiententstudien mit klinisch bestätigten Prolaktinomen erhoben. Somit lagen die Serum PRL-Konzentrationen oberhalb des Referenzbereiches, wodurch die Übertragbarkeit auf die allgemeine Bevölkerung begrenzt ist.

Im Gegensatz dazu ändert sich der HOMA-IR als Maß für die Insulinresistenz nach der Behandlung mit Dopaminagonisten nicht,<sup>33</sup> und es besteht keine Korrelation der PRL-Konzentration mit der HOMA-IR Änderung oder der Abnahme der Blutglukose.<sup>8,34</sup> Interessanterweise zeigte auch eine frühere Querschnittsstudie bei adipösen Nicht-Prolaktinom Patienten eine fehlende Korrelation der PRL-Konzentration mit Insulin, dem HOMA-IR und dem Glukosespiegel.<sup>10</sup>

Bereits veröffentlichte in-vitro Studien legen einen Einfluss von PRL auf die  $\beta$ -Zellsekretion sowohl durch eine erhöhte Glukokinaseaktivität,<sup>35</sup> als auch ein verbessertes spezifisches Überleben der  $\beta$ -Zellen<sup>36,37</sup> beziehungsweise durch die Hemmung der  $\beta$ -Zellapoptose<sup>38</sup> nahe. Um allerdings die einzelnen Details bezüglich der Wirkungsweise von PRL auf die verschiedenen Gewebe und deren Auswirkungen auf die kardiometabolischen Risikofaktoren zu verstehen, sind weitere in-vitro Studien nötig.

Frühere, bereits publizierte Forschungsergebnisse deuten auf eine positive Assoziation zwischen PRL und Entzündungsmarkern<sup>39</sup> sowie der Mortalität (kardiovaskuläre und Gesamtmortalität)<sup>40</sup> als auch auf eine inverse Korrelation zwischen PRL und dem kardialen Umbau<sup>41</sup> hin. Allerdings liefern die empirischen Ergebnisse dieser und anderer Studien keine konsistenten Assoziationen. Infolgedessen ergibt sich die Notwendigkeit weiterer Studien, um die mögliche Rolle des PRL als Herz-Kreislauf-Risiko-Marker weiter zu untersuchen.

Für die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse sollten folgende Stärken und Schwächen berücksichtigt werden: Wesentliche Stärken bestehen in der großen Stichprobe, dem longitudinalen Studiendesign und in der breiten Altersspanne. Darüber hinaus wurden umfangreiche Sensitivitätsanalysen durchgeführt, um die Gültigkeit der aktuellen Ergebnisse zu bewerten.

Eine wichtige Limitation dagegen stellt die einmalige Serum PRL-Messung von Nicht-Nüchtern-Blutproben dar, welche nicht der pulsatilen Freisetzung von PRL angepasst wurde. Jedoch konnte gezeigt werden, dass die pulsatile Sekretion von PRL vor allem während der Nacht auftritt und in der Zeit von 9.00 bis 17.00 Uhr relativ konstant bleibt.<sup>42</sup> Weitere Einschränkungen ergeben sich aus der kaukasischen Studienpopulation, die die Generalisierbarkeit der vorliegenden Ergebnisse erschwert. Zudem blieben weitere endokrine Erkrankungen wie zum Beispiel eine Hyperthyreose,<sup>43,44</sup> eine Akromegalie oder das Cushing-Syndrom,<sup>45</sup> welche möglicherweise ebenfalls einen T2DM auslösen könnten, unberücksichtigt und führten nicht zum Ausschluss von der Studienpopulation.

Angesichts der inhärenten Limitationen empirischer Forschung,<sup>46</sup> kann die definitive Rolle von PRL als Risikofaktor oder Risikomarker nicht allein auf der Grund-

lage epidemiologischer Daten aufgeklärt werden. Assoziationen zwischen PRL und dem Erkrankungsrisiko, welche in früheren klinischen Studien beobachtet wurden, konnten in der vorliegenden Studie nicht oder nur teilweise in der allgemeinen Bevölkerung repliziert werden. Dies deutet darauf hin, dass PRL eher als ein spezifischer Krankheitsmarker angesehen werden kann und nicht als ein kausaler Risikofaktor für das MetS und/oder dem T2DM. Aktuell ist somit ihre Bedeutung in der klinischen Praxis sehr begrenzt.

## 4.1 Fazit

Zusammenfassend ist die vorliegende Arbeit die erste bevölkerungsbezogene Studie, welche zeigt, dass niedrige PRL-Konzentrationen mit einem höheren Risiko für einen T2DM bei beiden Geschlechtern assoziiert ist. Angesichts der vielfältigen Funktionen von PRL, dessen Rezeptoren in mehreren unterschiedlichen Geweben exprimiert werden, sowie der Beeinflussung von PRL durch die Wechselwirkung mit anderen Hormonen, Cytokinen als auch psychologischen Faktoren, kann vermutet werden, dass PRL als Marker für die komplexen mehrstufigen Änderungen angesehen werden kann, welche an der Entstehung und dem Verlauf des T2DM beteiligt sind. Aus diesem Grund sind weitere Forschungen notwendig, um die Rolle von PRL im Zusammenhang mit den komplexen Wechselwirkungen noch spezifischer aufklären zu können.

## 5 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit ist es, auf Basis einer großen populationsbasierten Kohorte im Rahmen der SHIP-Studie (Study of Health in Pomerania) die mögliche Assoziation zwischen der Serum PRL-Konzentration mit dem MetS und dem T2DM aufzuzeigen. Dieser Sachverhalt wurde bereits in früheren ausgewählten Studien mit kleineren Kohorten untersucht.

In der aktuellen Studie wurden dazu die Daten von 3.993 Individuen (davon 2.027 Frauen) in einem Alter von 20-79 Jahren aus der populationsbasierten SHIP-Studie verwendet. Die Assoziation zwischen PRL-Konzentrationen und einem MetS sowie dem T2DM wurden sowohl im Quer- als auch im Längsschnitt mittels alters- und multivariabel-adjustierten Poisson-Regressionsmodellen untersucht. PRL wurden log-transformiert und als kontinuierliche (per Anstieg der Standardabweichung (SD)) oder kategoriale (geschlechtsspezifisches Quartil) Einflussvariable, getrennt nach Männern und Frauen, dargestellt.

Die Querschnittsanalyse zeigte eine inverse Assoziation zwischen niedrigen PRL-Konzentrationen und einem prävalenten T2DM Risiko sowohl in Männern als auch in Frauen nach multivariabler Adjustierung (Männer: Q1 vs. Q4: Relatives Risiko (RR), 1,55; 95 % Konfidenzintervall (CI), 1,13 - 2,14; Frauen: Q1 vs. Q4: RR, 1,70; 95 % CI, 1,10 - 2,62). Gleichermaßen wurden höhere PRL Konzentrationen mit einem signifikant niedrigerem T2DM Risiko assoziiert (RR pro SD Anstieg in log-transformierten PRL: 0,83, 95 % CI, 0,72-0,95 bei Männern und 0,84, 95 % CI, 0,71 bis 0,98 bei Frauen).

Die inverse Assoziation zwischen PRL und dem MetS konnte nach der multivariablen Adjustierung nicht beibehalten werden. In der Längsschnittanalyse konnte die Assoziation zwischen PRL und inzidentem MetS oder T2DM nicht aufrechterhalten werden.

Zusammenfassend ist die vorliegende Arbeit die erste große populationsbasierte Studie, welche im Querschnitt eine inverse Assoziation zwischen PRL und prävalentem T2DM bei beiden Geschlechtern feststellen kann. Jedoch deutet die fehlende longitudinale Assoziation darauf hin, dass PRL keine kausale Rolle als Risikofaktor für einen inzidenten T2DM oder ein MetS darstellt.

## 6 Literatur

- [1] CEJKOVA, P.; FOJTIKOVA, M.; CERNA, M.: **Immunomodulatory role of prolactin in diabetes development.** *Autoimmunity reviews* 2009, **9**(1):23-27.
- [2] BRANDEBOURG, T.; HUGO, E.; BEN-JONATAHN, N.: **Adipocyte prolactin: regulation of release and putative functions.** *Diabetes Obes Metab* 2007, **9**(4):464-476.
- [3] BEN-JONATHAN, N.; HUGO, ER.; BRANDEBOURG, TD; LAPENSEE, CR: **Focus on prolactin as a metabolic hormone.** *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 2006, **17**(3):110-116.
- [4] PRASAD, H.; RYAN, DA.; CELZO, MF.; STAPLETON, D.: **Metabolic syndrome: definition and therapeutic implications.** *Postgraduate medicine* 2012, **124**(1):21-30.
- [5] ROSENZWEIG, JL.; FERRANNINI, E.; GRUNDY, SM.; HAFFNER, SM.; HEINE, R.J.; HORTON, ES.; KAWAMORI, R.: **Primary prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes in patients at metabolic risk: an endocrine society clinical practice guideline.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2008, **93**(10):3671-3689.
- [6] BRELJE, TC.; STOUT, LE.; BHAGROO, NV.; SORENSON, RL.: **Distinctive roles for prolactin and growth hormone in the activation of signal transducer and activator of transcription 5 in pancreatic islets of langerhans.** *Endocrinology* 2004, **145**(9):4162-4175.
- [7] FREEMARK, M.; AVRIL, I.; FLEENOR, D.; DRISCOLL, P.; PETRO, A.; OPARA, E.; KENDALL, W.; ODEN, J.; BRIDGES, S.; BINART, N. *et al*: **Targeted deletion of the PRL receptor: effects on islet development, insulin production, and glucose tolerance.** *Endocrinology* 2002, **143**(4):1378-1385
- [8] SERRI, O.; LI, L.; MAMPUTU, JC.; BEAUCHAMP, MC.; MAINGRETTE, F.; RENIER, G: **The influences of hyperprolactinemia and obesity on car-**

- diovascular risk markers: effects of cabergoline therapy.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006, **64**(4):366-370.
- [9] MINGRONE, G.; MANCO, M.; IACONELLI, A.; GNIULI, D.; BRACAGLIA, R.; LECCESI, L.; CALVANI, M.; NOLFE, G.; BASI, S.; BERRIA, R.: **Prolactin and insulin ultradian secretion and adipose tissue lipoprotein lipase expression in severely obese women after bariatric surgery.** *Obesity (Silver Spring)* 2008, **16**(8):1831-1837.
- [10] ERNST, B.; THURNHEER, M.; SCHULTES, B.: **Basal serum prolactin levels in obesity – unrelated to parameters of the metabolic syndrome and unchanged after massive weight loss.** *Obesity surgery* 2009, **19**(8):1159-1162.
- [11] CORONA, G.; RASTRELLI, G.; BODDI, V.; MONAMI, M.; MELANI, C.; BALZI, D.; SFORZA, A.; FORTI, G.; MANNUCCI, E.; MAGGI, M.: **Prolactin levels independently predict major cardiovascular events in patients with erectile dysfunction.** *International journal of andrology* 2011, **34**(3):217-224.
- [12] VÖLZKE, H.; ALTE, D.; SCHMIDT, CO.; RADKE, D.; LORBEER, R.; FRIEDRICH, N.; AUMANN, N.; LAU, K.; PIONTEK, M.; BORN, G. *et al*: **Cohort profile: the study of health in pomerania.** *International journal of epidemiology* 2011, **40**(2):294-307.
- [13] HARING, R.; ALTE, D.; VOLZKE, H.; SAUER, S.; WALLASCHOFSKI, H.; HOHN, U.; SCHMIDT, CO.: **Extended recruitment efforts minimize attrition but not necessarily bias.** *J Clin Epidemiol* 2009, **62**(3):252-260.
- [14] TORKLER, S.; WALLASCHOFSKI, H.; BAUMEISTER, SE.; VOLZKE, H.; DORR, M.; FELIX, S.; RETTIG, R.; NAUCK, M.; HARING, R.: **Inverse association between total testosterone concentrations, incident hypertension and blood pressure.** *Aging Male* 2011, **14**(3):176-182.
- [15] HARING, R.; HANNEMANN, A.; JOHN, U.; RADKE, D.; NAUCK, M.; WALLASCHOFSKI, H.; OWEN, L.; ADAWAY, J.; KEEVIL, BG.; BRABANT, G.: **Age-**

- specific reference ranges for serum testosterone and androstenedione concentrations in women measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2012, **97**(2):408-415.
- [16] NAUCK, M.; WINKLER, K.; MARZ, W.; WIELAND, H.: **Quantitative determination of high-, low-, and very-low-density lipoproteins and lipoprotein(a) by agarose gel electrophoresis and enzymatic cholesterol staining.** *Clinical chemistry* 1995, **41**(12 Pt 1):1761-1767.
- [17] HARING, R.; BAUMEISTER, SE.; VÖLZKE, H.; DORR, M.; FELIX, SB.; KROEMER, HK.; NAUCK, M.; WALLASCHOFSKI, H.: **Prospective Association of Low Total Testosterone Concentrations with an Adverse Lipid Profile and Increased Incident Dyslipidemia.** *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2011, **18**(1):86-96.
- [18] ALBERTI, KG.; ECKEL, RH.; GRUNDY, SM.; ZIMMET, PZ.; CLEEMAN, JI.; DONATO, KA.; FRUCHART, JC.; JAMES, WP.; LORIA, CM.; SMITH, SC., Jr.: **Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity.** *Circulation* 2009, **120**(16):1640-1645.
- [19] HANNEMANN, A.; MEISINGER, C.; BIDLINGMAIER, M.; DORING, A.; THORAND, B.; HEIER, M.; BELCREDI, P.; LADWIG, KH.; WALLASCHOFSKI, H.; FRIEDRICH, N. *et al*: **Association of plasma aldosterone with the metabolic syndrome in two German populations.** *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 2011, **164**(5):751-758.
- [20] SCHIPF, S.; ALTE, D.; VOELZKE, H.; FRIEDRICH, N.; HARING, R.; LOHMANN, T.; NAUCK, M.; FELIX, SB.; HOFFMANN, W.; JOHN, U. *et al*: **Prävalenz des Metabolischen Syndroms in Deutschland: Ergebnisse der**

- Study of Health in Pomerania (SHIP).** *Diabetologie & Stoffwechsel* 2010, **5** 161–168.
- [21] HARING, R.; VOLZKE, H.; FELIX, SB.; SCHIPF, S.; DORR, M.; ROSSKOPF, D.; NAUCK, M.; SCHOFEL, C.; WALLASCHOFSKI, H.: **Prediction of metabolic syndrome by low serum testosterone levels in men: results from the study of health in Pomerania.** *Diabetes* 2009, **58**(9):2027-2031.
- [22] HARING, R.; WALLASCHOFSKI, H.; NAUCK, M.; FELIX, SB.; SCHMIDT, CO.; DORR, M.; SAUER, S.; WILMKING, G.; VOLZKE, H.: **Total and cardiovascular disease mortality predicted by metabolic syndrome is inferior relative to its components.** *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2010, **118**(10):685-691.
- [23] LIDFELDT, J.; NYBERG, P.; NERBRAND, C.; SAMSIOE, G.; SCHERSTEN, B.; AGARDH, CD.: **Socio-demographic and psychosocial factors are associated with features of the metabolic syndrome. The Women's Health in the Lund Area (WHILA) study.** *Diabetes Obes Metab* 2003, **5**(2):106-112.
- [24] MOLITCH, ME.: **Drugs and prolactin.** *Pituitary* 2008, **11**(2):209-218.
- [25] AFIFI, AA.; KOTLERMAN, JB.; ETTNER, SL.; COWAN, M.: **Methods for improving regression analysis for skewed continuous or counted responses.** *Annual review of public health* 2007, **28**:95-111.
- [26] CORONA, G.; MANNUCCI, E.; JANNINI, EA.; LOTTI, F.; RICCA, V.; MONAMI, M.; BODDI, V.; BANDINI, E.; BALERCIA, G.; FORTI, G *et al*: **Hypoprolactinemia: a new clinical syndrome in patients with sexual dysfunction.** *J Sex Med* 2009, **6**(5):1457-1466.
- [27] MULDOON, MF.; MACKEY, RH.; KORYTKOWSKI, MT.; FLORY, JD.; POLLOCK, BG.; MANUCK, SB.: **The metabolic syndrome is associated with reduced central serotonergic responsivity in healthy community volunteers.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2006, **91**(2):718-721.



- [28] MEANEY, AM.; O'KEANE V.: **Prolactin and schizophrenia: clinical consequences of hyperprolactinaemia.** *Life sciences* 2002, **71**(9):979-992.
- [29] RAO, ML.; GROSS, G.; STREBEL, B.; HALARIS, A.; HUBER, G.; BRAUNIG, P.; MARLER, M.: **Circadian rhythm of tryptophan, serotonin, melatonin, and pituitary hormones in schizophrenia.** *Biol Psychiatry* 1994, **35**(3):151-163.
- [30] RYAN, MC.; COLLINS, P.; THAKORE JH.: **Impaired fasting glucose tolerance in first-episode, drug-naive patients with schizophrenia.** *The American journal of psychiatry* 2003, **160**(2):284-289.
- [31] OBERWEIS, B.; GRAGNOLI, C.: **Potential role of prolactin in antipsychotic-mediated association of schizophrenia and type 2 diabetes.** *Journal of cellular physiology* 2012, **227**(8):3001-3006.
- [32] MULDOON, MF.; MACKEY, RH.; WILLIAMS, KV.; KORYTKOWSKI, MT.; FLORY, JD.; MANUCK, SB.: **Low central nervous system serotonergic responsivity is associated with the metabolic syndrome and physical inactivity.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2004, **89**(1):266-271.
- [33] BERINDER, K.; NYSTROM, T.; HOYBYE, C.; HALL, K.; HULTING, AL.: **Insulin sensitivity and lipid profile in prolactinoma patients before and after normalization of prolactin by dopamine agonist therapy.** *Pituitary* 2011, **14**(3):199-207.
- [34] DOS SANTOS SILVA, CM.; BARBOSA, FR.; LIMA, GA.; WARSZAWSKI, L.; FONTES, R.; DOMINGUES, RC.; GADELHA, MR.: **BMI and metabolic profile in patients with prolactinoma before and after treatment with dopamine agonists.** *Obesity (Silver Spring)* 2011, **19**(4):800-805.
- [35] WEINHAUS, AJ.; STOUT, LE.; BHAGROO, NV.; BRELJE, TC.; SORENSON, RL.: **Regulation of glucokinase in pancreatic islets by prolactin: a mechanism for increasing glucose-stimulated insulin secretion during pregnancy.** *The Journal of endocrinology* 2007, **193**(3):367-381.

- [36] YAMAMOTO, T.; RICORDI, C.; MITA, A.; MIKI, A.; SAKUMA, Y.; MOLANO, RD.; FORNONI, A.; PILEGGI, A.; INVERARDI, L.; ICHII, H.: **beta-Cell specific cytoprotection by prolactin on human islets.** *Transplantation proceedings* 2008, **40**(2):382-383.
- [37] YAMAMOTO, T.; MITA, A.; RICORDI, C.; MESSINGER, S.; MIKI, A.; SAKUMA, Y.; TIMONERI, F.; BARKER, S.; FORNONI, A.; MOLANO, RD. *et al*: **Prolactin supplementation to culture medium improves beta-cell survival.** *Transplantation* 2010, **89**(11):1328-1335.
- [38] TERRA, LF.; GARAY-MALPARTIDA, MH.; WAILEMANN, RA.; SOGAYAR, MC.; LABRIOLA, L.: **Recombinant human prolactin promotes human beta cell survival via inhibition of extrinsic and intrinsic apoptosis pathways.** *Diabetologia* 2011, **54**(6):1388-1397.
- [39] FRIEDRICH, N.; SCHNEIDER, HJ.; SPIELHAGEN, C.; MARKUS, MR.; HARING, R.; GRABE, HJ.; BUCHFELDER, M.; WALLASCHOFSKI, H.; NAUCK, M.: **The association of serum prolactin concentration with inflammatory biomarkers - cross-sectional findings from the population-based Study of Health in Pomerania.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011, **75**(4):561-566.
- [40] HARING, R.; FRIEDRICH, N.; VOLZKE, H.; VASAN, RS.; FELIX, SB.; DORR, M.; MEYER ZU SCHWABEDISSEN, HE.; NAUCK, M.; WALLASCHOFSKI, H.: **Positive association of serum prolactin concentrations with all-cause and cardiovascular mortality.** *European heart journal* 2012.
- [41] HARING, R.; VOLZKE, H.; VASAN, RS.; FELIX, SB.; NAUCK, M.; DORR, M.; WALLASCHOFSKI, H.: **Sex-specific associations of serum prolactin concentrations with cardiac remodeling: longitudinal results from the Study of Health Pomerania (SHIP).** *Atherosclerosis* 2012, **221**(2):570-576.
- [42] KATZNELSON, L.; RISKIND, PN.; SAXE, VC.; KLIBANSKI, A.: **Prolactin pulsatile characteristics in postmenopausal women.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 1998, **83**(3):761-764.

- 
- [43] MARATOU, E.; HADJIDAKIS, DJ.; PEPPA, M.; ALEVIZAKI, M.; TSEGKA, K.; LAMBADIARI, V.; MITROU, P.; BOUTATI, E.; KOLLIAS, A.; ECONOMOPOULOS, T. *et al*: **Studies of insulin resistance in patients with clinical and subclinical hyperthyroidism.** *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 2010, **163**(4):625-630.
- [44] MITROU, P.; RAPTIS, SA.; DIMITRIADIS, G.: **Insulin action in hyperthyroidism: a focus on muscle and adipose tissue.** *Endocrine reviews* 2010, **31**(5):663-679.
- [45] RESMINI, E.; MINUTO, F.; COLAO, A.; FERONE, D.: **Secondary diabetes associated with principal endocrinopathies: the impact of new treatment modalities.** *Acta diabetologica* 2009, **46**(2):85-95.
- [46] ROTHMAN, KJ.; GREENLAND, S.: **Causation and causal inference in epidemiology.** *American journal of public health* 2005, **95** Suppl 1:S144-150.

## 7 Anhang

### 7.1 Publikation

RESEARCH ARTICLE

Open Access

# Serum prolactin concentrations as risk factor of metabolic syndrome or type 2 diabetes?

Lisa Balbach<sup>1†</sup>, Henri Wallaschofski<sup>1,2†</sup>, Henry Völzke<sup>2,3</sup>, Matthias Nauck<sup>1,2</sup>, Marcus Dörr<sup>2,4</sup> and Robin Haring<sup>1,2\*</sup>

## Abstract

**Background:** To investigate potential associations of serum prolactin concentration (PRL) with metabolic syndrome (MetS) and type 2 diabetes mellitus (T2DM), previously observed in small and selected study samples, in a large population-based cohort.

**Methods:** Data from 3,993 individuals (2,027 women) aged 20-79 years from the population-based Study of Health of Pomerania (SHIP) were used to analyse cross-sectional and longitudinal associations of PRL with MetS and T2DM risk in age- and multivariable-adjusted Poisson regression models. PRL were log-transformed and modelled as continuous (per standard deviation (SD) increase) and categorical predictor (sex-specific quartiles) variable, separately for men and woman.

**Results:** Cross-sectional analyses showed an inverse association between low PRL concentrations and prevalent T2DM risk in men and women after multivariable-adjustment (men: Q1 vs. Q4: relative risk (RR), 1.55; 95% confidence interval (CI), 1.13 – 2.14; women: Q1 vs. Q4: RR, 1.70; 95% CI, 1.10 – 2.62). Likewise, higher PRL concentrations were associated with significantly lower T2DM risk (RR per SD increase in log-PRL: 0.83; 95% CI, 0.72 – 0.95 in men, and 0.84; 95% CI, 0.71 – 0.98 in women, respectively). An inverse association between PRL and MetS risk was not retained after multivariable adjustment. Longitudinal analyses yielded no association of PRL with incident MetS or T2DM.

**Conclusion:** The present study is the first large population-based study reporting a cross-sectional inverse association between PRL and prevalent T2DM in both genders. But the absent longitudinal associations do not support a causal role of PRL as a risk factor of incident MetS or T2DM.

## Background

Prolactin (PRL) is a pituitary hormone essential for various physiological functions in the human body [1-3]. It is not only important for the initiation and maintenance of lactation, but seems to be also involved in reproduction, growth and development, osmoregulation, immune regulation, brain function, behaviour, and metabolism [1-3]. These different functions of PRL can only be fulfilled due to the fact that the PRL receptor is expressed in different tissues and cells such as lymphoid cells, endometrium, prostate, and adipocytes [1-3].

The metabolic syndrome (MetS), a cluster of cardiometabolic risk factors including obesity, hypertriglyceridemia, hypertension, and insulin resistance [4,5], is often associated with type 2 diabetes mellitus (T2DM) [1]. Although previous investigations about the potential effects of PRL in T2DM and its complications are scarce, existing experimental studies suggest an influence of PRL on T2DM via its metabolic effects on adipose tissue [2,3], development and growth of pancreatic  $\beta$ -cells [6,7], insulin resistance [3,8], and lipid metabolism [3,9]. The ability of PRL to stimulate insulin [6] and suppress adiponectin as well as interleukin-6 release further suggests a potential role in the manifestation of insulin resistance [2]. But although these studies support the view that PRL promotes the growth and survival of pancreatic  $\beta$ -cells and supports insulin secretion [6,7], other studies were not able to detect any correlation between PRL and metabolic disturbances [10].

\* Correspondence: robin.haring@uni-greifswald.de

<sup>†</sup>Equal contributors

<sup>1</sup>Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, Greifswald 17475, Germany

<sup>2</sup>DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), partner site Greifswald, Greifswald, Germany

Full list of author information is available at the end of the article

An observational study among erectile dysfunction patients showed an association between low PRL concentrations and adverse cardiovascular risk profiles and events [11]. However, in most of these previous studies [10,11] the correlation between PRL and cardiometabolic risk factors including MetS or T2DM were not the main focus. Furthermore, previous studies were conducted in comparably small and selected patient populations without consideration of major confounding factors. Therefore, we aimed to investigate potential associations of PRL with MetS and T2DM using a large, representative sample of 3,993 individuals from the population-based longitudinal cohort Study of Health in Pomerania (SHIP).

## Methods

### Study population

The SHIP is a population-based cohort study in West Pomerania, a region in north-eastern Germany. Details regarding the design, recruitment, and procedures of the SHIP study have been published previously [12]. In brief, from the total population of West Pomerania comprising 213,057 inhabitants, a two-stage stratified cluster sample of adults aged 20-79 years was drawn in 1996. The net sample (without migrated or deceased persons) comprised 6,265 eligible subjects. Only individuals with German citizenship and main residency in the study area were included. All subjects received a maximum of three written invitations. In cases of non-response, letters were followed by repeated phone calls or by home visits if contact by phone was not possible [13]. After written informed consent was obtained, 4,308 (2,192 women) participants were examined (response 68.8%) between 1997 and 2001. During the five-year follow-up, 3,300 (1,711 women) participants were re-examined (response 83.6%) between 2002 and 2006. The study conformed to the principles of the Declaration of Helsinki and the Ethics Committee of the University of Greifswald approved the protocol. Out of 4,308 baseline participants, we excluded individuals with missing PRL data ( $N = 169$ ), measured PRL  $>100.0 \mu\text{g/l}$  ( $N = 16$ ), pregnancy ( $N = 8$ ), pituitary disease ( $N = 1$ ), and missing covariate data ( $N = 121$ ), yielding a final study sample of 3,993 individuals (2,027 women).

### Measures

Information about socio-demographic characteristics and health-related lifestyle including smoking habits (categorized into current, former, and never-smokers), educational level ( $< 10$ ,  $= 10$ , or  $> 10$  years at school), parity (number of children), physical activity ( $< 1$  h/week physical training during summer or winter) and alcohol consumption were collected by personal interviews. Waist circumference was measured to the nearest

0.1 cm using an inelastic tape midway between the lower rib margin and the iliac crest in the horizontal plane, with the subject standing comfortably with weight distributed evenly on both feet. Height and weight were measured for the calculation of body mass index (BMI) ( $\text{weight [kg]}/\text{height [m]}^2$ ). After a resting period of at least five minutes, systolic and diastolic blood pressure was measured three times on the right arm of seated participants with an oscillometric digital blood pressure monitor (HEM-705CP, Omron Corporation, Tokyo, Japan). The interval between the readings was three minutes. The mean systolic and diastolic blood pressure was calculated from the second and third measurement [14]. Menopausal status (pre- and post-menopausal) was defined according to a previously established definition from our cohort: pre-menopausal: all women  $< 40$  years of age and between 40 – 60 years who reported menstrual cycle; post-menopausal: all women  $\geq 60$  years of age and all women between 40 – 60 years who reported no menstrual cycle [15].

Serum high-density lipoprotein (HDL) cholesterol concentrations were measured photometrically at baseline (Hitachi 704, Roche, Mannheim, Germany), whereas follow-up HDL concentrations were quantified by lipid electrophoresis (HELENA SAS-3 system, Helena 7 Bio-Sciences Europe, Tyne & Wear, UK). To ensure comparability in the longitudinal HDL analyses, we used baseline HDL concentrations as the reference and calculated corrected follow-up HDL concentrations based on a previously published conversion formula [16]. Doing so, we found that the average HDL concentrations produced by the two methods were virtually identical, suggesting that the differences in HDL will be small within the range of practical relevance [17]. Serum triglycerides and glucose concentrations were determined enzymatically using reagents from Roche Diagnostics (Hitachi 717, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Glycated hemoglobin (HbA1c) was determined by high-performance liquid chromatography (Bio-Rad, Munich, Germany). During the course of the study, the inter-assay coefficient of variation for HbA1c was 2.76% in the low pool and 1.38% in the high pool. All assays were performed according to the manufacturers' recommendations by skilled technical personnel and internal quality controls were analyzed daily. In addition, the laboratory participates in official quarterly German external proficiency testing programs.

T2DM was defined based on self-reported physician's diagnosis or use of antidiabetic medication (ATC code A10) in the last seven days, or HbA1c concentrations  $\geq 6.5\%$ . Diagnostic criteria for the assessment of MetS components were defined according the Joint Scientific Statement to harmonize MetS [18] and modified for the use of non-fasting blood samples, as previously established in SHIP [19-22] and other large cohort studies [23]:

1. Elevated WC: men  $\geq 94$  cm; women  $\geq 80$  cm;
  2. Elevated non-fasting glucose:  $\geq 8.0$  mmol/l or antidiabetic treatment (ATC codes A10A, A10B);
  3. Decreased HDL cholesterol: men  $< 1.0$  mmol/l, women  $< 1.3$  mmol/l, or lipid-lowering treatment (ATC C10AB, A10AD);
  4. Elevated non-fasting triglycerides:  $\geq 2.3$  mmol/l or lipid-lowering treatment (ATC C10AB, A10AD);
  5. Elevated blood pressure:  $\geq 130/85$  mmHg or self-reported antihypertensive drug treatment.
- Participants fulfilling at least three out of these five components were assigned to MetS.

Serum PRL concentrations were measured from frozen sera of baseline participants. Non-fasting blood samples were drawn from the cubital vein in the supine position between 7.00 a.m. and 7.00 p.m. Samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis using a chemiluminescent immunometric assay on an Immulite 2500 analyzer (Ref. L5KPR, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Germany). An aliquot of two alternating levels of a third party commercial control material (Bio-Rad Lyphochek Immunoassay Plus Control, lot 40151 and lot 40152; Bio-Rad, Munich, Germany) was included in each series in single determination. During the course of the study the inter-assay coefficient of variation was 5.6% with a systematic deviation of -4.3% at the 6.3  $\mu\text{g/l}$  level, and 4.3% with a systematic deviation of -6.4% at the 14.5  $\mu\text{g/l}$  level. The analytical sensitivity was 0.5  $\mu\text{g/l}$  by an effective measurement range of 0.5 – 150  $\mu\text{g/l}$ .

### Statistical analysis

Categorical data are expressed as percentage and continuous data as median ( $p_{25}^{\text{th}}$ ,  $p_{75}^{\text{th}}$ ). Sex-related differences were tested using the  $\chi^2$  test (categorical data) and Mann-Whitney-U test (continuous data). We log-transformed the highly skewed PRL variable to achieve normality. To analyse cross-sectional and longitudinal associations of PRL with MetS and T2DM, we implemented age- and multivariable-adjusted Poisson regression models with robust standard errors and report the relative risks (RR) and their 95% confidence intervals (95% CI) per SD increase in log-PRL and for sex-specific PRL quartiles (reference: quartile four). Longitudinal incidence analyses were performed only in individuals without MetS and T2DM at baseline, respectively. P for trend test was conducted by including PRL quartiles as an ordinal score into the regression models. Covariates adjusted for in multivariable regression models included age, BMI, smoking status, physical activity, educational level, and alcohol consumption. All analyses were performed separately in men and women.

Several sensitivity analyses were performed. In women, we additionally adjust multivariable regression

models for menopausal status and parity. On the basis of ATC codes for metoclopramide (A03FA01, A03FA03, N02CX59), cimetidine (A02BA01), reserpine (C02LA01), methyl dopa (C02AB), and psychoanaleptics (ATC-code N06), we excluded 184 individuals indicative of these PRL influencing medications [24] and repeated the multivariable regression models accordingly. Furthermore, we used inverse probability weights to adjusted our longitudinal analyses for possible non-response bias from drop-out between the baseline and follow-up examination [25]. Finally, we additionally adjusted the multivariable models for blood sampling time to evaluate the potential impact of the diurnal cycle in PRL secretion on the revealed estimates. Two-sided probability values  $< 0.05$  were considered statistically significant. All the statistical analyses were performed using Stata 11.0 (Stata Corporation, College Station, TX, USA).

### Results

Comparing the baseline characteristics of the study sample by sex, men showed significantly lower PRL concentrations and a higher cardiometabolic risk factor level (with regard to smoking, alcohol consumption, BMI, blood pressure, lipid levels and parameters of glycemic control) than women (Table 1). Also the prevalence of MetS (34.0% vs. 22.2%) and T2DM (12.6% vs. 9.0%) was higher in men compared to women.

Cross-sectional age-adjusted regression models showed an inverse association between PRL and MetS risk in women (Q1 vs. Q4: RR, 1.32; 95% CI, 1.04 – 1.66), but not in men (Q1 vs. Q4: RR, 1.15; 95% CI, 0.97 – 1.37). This sex-specific association was not retained after multivariable adjustment (Table 2). Low PRL concentrations were consistently associated with T2DM in age- and multivariable-adjusted regression models (men: Q1 vs. Q4: RR, 1.55; 95% CI, 1.13 – 2.14; women: Q1 vs. Q4: RR, 1.70; 95% CI, 1.10 – 2.62). Furthermore, p for trend analyses showed a progressive inverse relationship across PRL quartiles. Likewise, higher PRL concentrations were associated with a significantly lower T2DM risk (RR per SD increase in log-PRL: 0.83; 95% CI, 0.72 – 0.95 in men, and 0.84; 95% CI, 0.71 – 0.98 in women, respectively).

After a median follow-up time of 5.0 years (range 4.4 – 8.5 years) 3,078 individuals (1,589 women) were repeatedly examined. Among the individuals without the respective condition at baseline, 27.7% developed incident MetS and 5.3% incident T2DM. Longitudinal analyses revealed a significant trend of lower PRL concentrations with increasing number of MetS components in women ( $p = 0.033$ ), but not in men ( $p = 0.331$ ) (Figure 1). Multivariable regression models showed no association of PRL with incident MetS and T2DM (Table 2). The conducted sensitivity analyses with 1) additional adjustment for menopausal status and parity, 2) exclusion of individuals

**Table 1 Baseline characteristics of the study population stratified by sex**

	Men (N = 1,966)	Women (N = 2,027)	p-value*
Age, years	52.1 (37.4; 65.3)	49.5 (36.0; 62.3)	<0.001
Serum prolactin, µg/l	4.9 (3.6; 6.9)	6.5 (4.5; 9.4)	<0.001
Current smoker,%	33.5	26.9	<0.001
Physical activity,%	41.0	43.4	0.130
Alcohol consumption, g/d	11.9 (1.5; 27.9)	2.5 (0.0; 7.2)	<0.001
Educational level			
< 10 years	42.7	37.8	<0.001
= 10 years	39.8	46.8	
> 10 years	17.5	15.3	
Parity, N	NA	2 (1, 3)	NA
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	27.3 (24.9; 29.9)	26.1 (22.8; 30.2)	<0.001
Waist circumference, cm	95.2 (87.5; 102.9)	81.5 (72.8; 92.1)	<0.001
Systolic blood pressure, mmHg	140.5 (129.5; 153.0)	127.0 (114.5; 143.0)	<0.001
Diastolic blood pressure, mmHg	85.0 (78.0; 93.0)	80.5 (73.5; 87.5)	<0.001
Serum total cholesterol, mmol/l	5.7 (4.9; 6.4)	5.7 (4.9; 6.5)	0.811
Serum triglycerides, mmol/l	1.7 (1.2; 2.6)	1.3 (0.9; 1.9)	<0.001
Serum LDL cholesterol, mmol/l	3.6 (2.8; 4.3)	3.4 (2.7; 4.2)	0.002
Serum HDL cholesterol, mmol/l	1.2 (1.0; 1.5)	1.5 (1.3; 1.8)	<0.001
Serum glucose, mmol/l	5.4 (5.0; 6.0)	5.2 (4.8; 5.7)	<0.001
Glycated hemoglobin A1c,%	5.4 (5.0; 5.9)	5.2 (4.8; 5.7)	<0.001
Metabolic syndrome,%	34.0	22.2	<0.001
Type 2 diabetes mellitus,%	12.6	9.0	<0.001

Data are given as percentages or median (p25<sup>th</sup>; p75<sup>th</sup>). NA, not applicable; LDL cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol; HDL cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol.

\* Differences between men and women were tested using  $\chi^2$  test (categorical data) and Whitney-Mann-U Test (continuous data).

indicative of PRL influencing medications, 3) additional inclusion of 'drop-out' weights and 4) additional adjustment for blood sampling time showed no impact on the overall estimates (data not shown).

## Discussion

To our knowledge, this is the first population-based study to show a cross-sectional inverse association between PRL and T2DM risk in both men and women. Using a large sample of 3,993 individuals from the general population, age- and multivariable-adjusted regression models detected an inverse association between low PRL concentrations and increased risk for prevalent T2DM.

These findings are in line with previous observational studies [11,26,27] of the relationship between PRL and T2DM. Among those, the only large-scaled study was conducted in 2,351 male patients with sexual dysfunction, in whom low PRL concentrations were associated with an increased number of MetS factors [26]. Similarly to ours, that study [26] and its subsequent follow-up

[11] showed an inverse association between serum PRL concentrations and prevalent T2DM. However, since both studies based on male patient data, the comparability with the present population-based findings is quite limited. Furthermore, a cross-sectional study in 345 healthy volunteers aged 30-55 years showed a negative association of PRL with insulin resistance and a doubled risk of prevalent MetS per SD decrease in PRL [27].

Evidence from cross-sectional patient-based studies in drug naive schizophrenia patients suggests that high dopamine and subsequently low PRL concentrations [28,29] are related to an increased T2DM risk, including insulin resistance and impaired fasting glucose [30]. Thus, one may speculate if common anti-psychotics could probably protect from T2DM onset and progression by increasing PRL concentrations through the inhibition of the D2 receptor [31]. However, since previous studies [28-30] were exclusively cross-sectional, cause and effect in the association of PRL with T2DM are difficult to determine. For example, a small interventional study in turn suggests insulin secretion as the major determinant of PRL release [9].



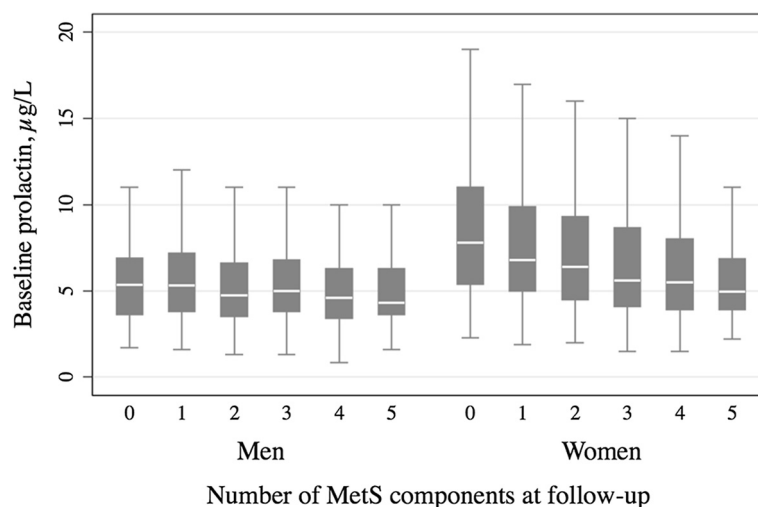
**Table 2 Cross-sectional and longitudinal associations of serum prolactin with metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus**

	Metabolic syndrome				Type 2 diabetes mellitus			
	Cross-sectional		Longitudinal		Cross-sectional		Longitudinal	
	Age-adjusted model	Multivariable model	Age-adjusted model	Multivariable model	Age-adjusted model	Multivariable model	Age-adjusted model	Multivariable model
<b>Men</b>								
<b>Prolactin per SD increase</b>	0.95 (0.89; 1.02)	0.95 (0.89; 1.01)	1.05 (0.95; 1.15)	1.04 (0.95; 1.14)	0.84 (0.73; 0.96)*	0.83 (0.72; 0.95)*	1.20 (0.98; 1.47)	1.19 (0.96; 1.47)
<b>Quartiles (Q4 Ref.)</b>								
<b>Q1</b>	1.15 (0.97; 1.37)	1.15 (0.98; 1.35)	0.83 (0.64; 1.06)	0.87 (0.68; 1.10)	1.55 (1.12; 2.13)*	1.55 (1.13; 2.14)*	0.71 (0.41; 1.23)	0.78 (0.45; 1.35)
<b>Q2</b>	1.06 (0.89; 1.28)	1.03 (0.87; 1.22)	0.94 (0.74; 1.19)	0.94 (0.75; 1.18)	1.14 (0.81; 1.61)	1.11 (0.79; 1.56)	0.73 (0.42; 1.26)	0.78 (0.45; 1.33)
<b>Q3</b>	1.04 (0.87; 1.25)	1.02 (0.85; 1.21)	0.91 (0.72; 1.16)	0.94 (0.75; 1.18)	0.92 (0.63; 1.33)	0.92 (0.64; 1.33)	0.76 (0.44; 1.32)	0.72 (0.41; 1.27)
<b>P for Trend</b>	0.104	0.076	0.172	0.276	0.002	0.002	0.253	0.472
<b>Women</b>								
<b>Prolactin per SD increase</b>	0.92 (0.85; 1.00)	0.97 (0.90; 1.05)	0.89 (0.79; 1.00)	0.92 (0.83; 1.02)	0.81 (0.68; 0.95)*	0.84 (0.71; 0.98)*	1.09 (0.82; 1.45)	1.13 (0.89; 1.44)
<b>Quartiles (Q4 Ref.)</b>								
<b>Q1</b>	1.32 (1.04; 1.66)*	1.11 (0.89; 1.39)	1.26 (0.95; 1.68)	1.15 (0.86; 1.53)	1.89 (1.21; 2.96)*	1.70 (1.10; 2.62)*	0.88 (0.44; 1.78)	0.73 (0.37; 1.43)
<b>Q2</b>	1.13 (0.89; 1.44)	1.04 (0.83; 1.32)	1.22 (0.91; 1.63)	1.16 (0.87; 1.54)	1.82 (1.15; 2.86)*	1.69 (1.09; 2.63)*	0.81 (0.39; 1.68)	0.75 (0.37; 1.50)
<b>Q3</b>	1.11 (0.86; 1.44)	1.07 (0.83; 1.32)	0.73 (0.51; 1.04)	0.78 (0.55; 1.11)	1.29 (0.77; 2.16)	1.26 (0.76; 2.09)	1.00 (0.48; 2.06)	1.08 (0.53; 2.20)
<b>P for Trend</b>	0.016	0.399	0.013	0.106	0.001	0.007	0.633	0.224

\* p < 0.05; SD, standard deviation. The multivariable model was adjusted for age, body mass index, smoking status (three categories), physical activity, educational level (three categories), and alcohol consumption.

In the search of potential explanations, two previous studies related alterations of serotonergic pathways caused by low PRL concentrations to the pathogenesis of MetS [27,32]. Furthermore, PRL-receptor deficient mice show an impaired development of pancreatic  $\beta$ -

cells, finally leading to a blunted insulin response and mild glucose intolerance [7]. In contrast to our findings, studies including pathological hyperprolactinemia caused by PRL-secreting tumors (prolactinomas) showed that, after treatment with dopamine agonists,



**Figure 1** Boxplots for median baseline prolactin concentrations (25<sup>th</sup> and 75<sup>th</sup> percentile) according to the follow-up number of metabolic syndrome (MetS) components, separately for men and women. One-way analysis of variance showed a significant inverse trend for prolactin concentrations across number of MetS components at follow-up in women (p = 0.033), but not in men (p = 0.331).

reduced PRL concentrations led to increased insulin sensitivity [33,34].

These results, however, were collected in small patient-based samples with clinically confirmed prolactinoma and serum PRL concentrations outside the reference range, thus limiting its transferability to the general population. On contrary, HOMA-IR, as a measure of insulin resistance, did not change after treatment with dopamine agonists [33], and PRL concentrations did not correlate with HOMA-IR change or decrease in glucose, respectively [8,34]. Interestingly, a previous cross-sectional study in obese non-prolactinoma patients showed similar absent correlations of PRL with insulin, HOMA-IR, and glucose levels [10]. Available in-vitro studies rather suggest an influence of prolactin on  $\beta$ -cell secretion via increased glucokinase activity [35], improved  $\beta$ -cell specific survival [36,37], or inhibition of intrinsic  $\beta$ -cell apoptosis [38]. However, to provide the necessary level of detail to elucidate the exact mechanisms of PRL on different tissues and its impact on cardiometabolic risk factors further experimental in-vitro research is needed.

We previously published findings from our study suggesting a positive association of PRL with biomarkers of inflammation [39] and mortality (cardiovascular and all-cause mortality) [40], as well as an inverse association of PRL with cardiac remodelling [41]. However, these observational findings from our and other studies do not provide consistent risk associations, suggesting the need for further investigations into the potential role of PRL as cardiometabolic risk marker.

For the interpretation of the present study, the following strengths and limitations need to be considered. Major strengths include the large sample, the longitudinal study design, and a broad age range. Furthermore, comprehensive sensitivity analyses were conducted to assess the validity of our findings. An important limitation of this study includes the reliance on single serum PRL measurements based on non-fasting blood samples, which is not adapted to the pulsatile release of PRL. But it was shown that the pulsatile secretion occurs mostly during the night and is relatively constant between 9.00 a.m. and 5.00 p.m. [42]. Further limitations arise from the Caucasian study sample, which restricts the generalizability of our results. Finally, we did not exclude other endocrine diseases, which possibly trigger T2DM including hyperthyroidism [43,44], acromegaly and the Cushing Syndrome [45].

However, given the inherent limitations of observational research [46], the definite role of serum PRL concentrations as a risk factor or risk marker can not be elucidated based on epidemiological data alone. Previous associations between serum PRL concentrations and disease risk observed in clinical study samples, but not in the general population, suggest PRL rather as specific disease marker

than as causal risk factor for MetS and T2DM. Thus, its application and significance in daily clinical practice is very limited to date.

## Conclusions

In summary, this is the first population-based study to show low PRL concentrations related to a higher T2DM risk in both genders. But given the variable associations between PRL and T2DM, but not with MetS, together with the absent longitudinal associations with both outcomes, the present study does not support PRL as a causal cardiometabolic risk factor. Therefore, we hypothesize PRL rather as a marker of the complex multi-level alterations involved in the onset and progression of T2DM. However, to further elucidate the potential role of PRL in the context of this complex interplay, further observational as well as interventional research is needed.

## Competing interest

There is no conflict of interest that could be perceived as prejudicing the impartiality of the research reported.

## Authors' contributions

RH, LB, and HW contributed to the study design and ideas for the data analysis. HV, MD, MN, and HW organized the sample collection and data preparation. Statistical analyses were performed by RH. LB, RH, and HW contributed to the interpretation of the results and the discussion. LH drafted the manuscript and wrote the final version together with all other co-authors. All authors read, critically revised, and finally gave approval of the version to be published.

## Acknowledgements

The contributions to data collection made by field workers, study physicians, ultrasound technicians, interviewers, and computer assistants are gratefully acknowledged.

## Funding

SHIP is part of the Community Medicine Research net of the University of Greifswald, Germany, which is funded by the Federal Ministry of Education and Research (grants no. 01ZZ9603, 01ZZ0103, and 01ZZ0403), the Ministry of Cultural Affairs as well as the Social Ministry of the Federal State of Mecklenburg-West Pomerania. This work is also part of the research project Greifswald Approach to Individualized Medicine (GANI\_MED), funded by the Federal Ministry of Education and Research and the Ministry of Cultural Affairs of the Federal State of Mecklenburg – West Pomerania (03IS2061A). This study was also supported by the DZHK (German Centre for Cardiovascular Research) and by the BMBF (German Ministry of Education and Research). The used prolactin reagents were sponsored by Novo Nordisk Pharma GmbH, Mainz, Germany.

## Author details

<sup>1</sup>Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, Greifswald 17475, Germany. <sup>2</sup>DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), partner site Greifswald, Greifswald, Germany. <sup>3</sup>Institute for Community Medicine, University Medicine Greifswald, Walther-Rathenau-Straße 48, Greifswald 17475, Germany. <sup>4</sup>Department of Cardiology, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, Greifswald 17475, Germany.

Received: 1 October 2012 Accepted: 15 March 2013

Published: 21 March 2013

## References

1. Cejkova P, Fojtikova M, Cerna M: Immunomodulatory role of prolactin in diabetes development. *Autoimmun Rev* 2009, **9**(1):23–27.

2. Brandebourg T, Hugo E, Ben-Jonathan N: **Adipocyte prolactin: regulation of release and putative functions.** *Diabetes Obes Metab* 2007, **9**(4):464–476.
3. Ben-Jonathan N, Hugo ER, Brandebourg TD, LaPensee CR: **Focus on prolactin as a metabolic hormone. Trends in endocrinology and metabolism.** *TEM* 2006, **17**(3):110–116.
4. Prasad H, Ryan DA, Celzo MF, Stapleton D: **Metabolic syndrome: definition and therapeutic implications.** *Postgrad Med* 2012, **124**(1):21–30.
5. Rosenzweig JL, Ferrannini E, Grundy SM, Haffner SM, Heine RJ, Horton ES, Kawamori R: **Primary prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes in patients at metabolic risk: an endocrine society clinical practice guideline.** *J Clin Endocrinol Metab* 2008, **93**(10):3671–3689.
6. Brelje TC, Stout LE, Bhagroo NV, Sorenson RL: **Distinctive roles for prolactin and growth hormone in the activation of signal transducer and activator of transcription 5 in pancreatic islets of langerhans.** *Endocrinology* 2004, **145**(9):4162–4175.
7. Freemark M, Avril I, Fleenor D, Driscoll P, Petro A, Opara E, Kendall W, Oden J, Bridges S, Binart N, et al: **Targeted deletion of the PRL receptor: effects on islet development, insulin production, and glucose tolerance.** *Endocrinology* 2002, **143**(4):1378–1385.
8. Serri O, Li L, Mamputu JC, Beauchamp MC, Maingrette F, Renier G: **The influences of hyperprolactinemia and obesity on cardiovascular risk markers: effects of cabergoline therapy.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006, **64**(4):366–370.
9. Mingrone G, Manco M, Iaconelli A, Gniuli D, Bracaglia R, Leccesi L, Calvani M, Nolfi G, Basu S, Berria R: **Prolactin and insulin ultradian secretion and adipose tissue lipoprotein lipase expression in severely obese women after bariatric surgery.** *Obesity (Silver Spring)* 2008, **16**(8):1831–1837.
10. Ernst B, Thurnheer M, Schultes B: **Basal serum prolactin levels in obesity—unrelated to parameters of the metabolic syndrome and unchanged after massive weight loss.** *Obes Surg* 2009, **19**(8):1159–1162.
11. Corona G, Rastrelli G, Boddi V, Monami M, Melani C, Balzi D, Sforza A, Forti G, Mannucci E, Maggi M: **Prolactin levels independently predict major cardiovascular events in patients with erectile dysfunction.** *Int J Androl* 2011, **34**(3):217–224.
12. Völzke H, Alte D, Schmidt CO, Radke D, Lorbeer R, Friedrich N, Aumann N, Lau K, Piontek M, Born G, et al: **Cohort profile: the study of health in pomerania.** *Int J Epidemiol* 2011, **40**(2):294–307.
13. Haring R, Alte D, Volzke H, Sauer S, Wallaschofski H, John U, Schmidt CO: **Extended recruitment efforts minimize attrition but not necessarily bias.** *J Clin Epidemiol* 2009, **62**(3):252–260.
14. Torkler S, Wallaschofski H, Baumeister SE, Volzke H, Dorr M, Felix S, Rettig R, Nauck M, Haring R: **Inverse association between total testosterone concentrations, incident hypertension and blood pressure.** *Aging Male* 2011, **14**(3):176–182.
15. Haring R, Hannemann A, John U, Radke D, Nauck M, Wallaschofski H, Owen L, Adaway J, Keevil BG, Brabant G: **Age-specific reference ranges for serum testosterone and androstenedione concentrations in women measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.** *J Clin Endocrinol Metab* 2012, **97**(2):408–415.
16. Nauck M, Winkler K, Marz W, Wieland H: **Quantitative determination of high-, low-, and very-low-density lipoproteins and lipoprotein(a) by agarose gel electrophoresis and enzymatic cholesterol staining.** *Clin Chem* 1995, **41**(12 Pt 1):1761–1767.
17. Haring R, Baumeister SE, Völzke H, Dorr M, Felix SB, Kroemer HK, Nauck M, Wallaschofski H: **Prospective Association of Low Total Testosterone Concentrations with an Adverse Lipid Profile and Increased Incident Dyslipidemia.** *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2011, **18**(1):86–96.
18. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr: **Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity.** *Circulation* 2009, **120**(16):1640–1645.
19. Hannemann A, Meisinger C, Bidlingmaier M, Doring A, Thorand B, Heier M, Belcredi P, Ladwig KH, Wallaschofski H, Friedrich N, et al: **Association of plasma aldosterone with the metabolic syndrome in two German populations.** *Eur J Endocrinol* 2011, **164**(5):751–758.
20. Schipf S, Alte D, Voelzke H, Friedrich N, Haring R, Lohmann T, Nauck M, Felix SB, Hoffmann W, John U, et al: **Prävalenz des Metabolischen Syndroms in Deutschland: Ergebnisse der Study of Health in Pomerania (SHIP).** *Diabetologie Stoffwechsel* 2010, **5**:161–168.
21. Haring R, Volzke H, Felix SB, Schipf S, Dorr M, Roskopf D, Nauck M, Schoff C, Wallaschofski H: **Prediction of metabolic syndrome by low serum testosterone levels in men: results from the study of health in Pomerania.** *Diabetes* 2009, **58**(9):2027–2031.
22. Haring R, Wallaschofski H, Nauck M, Felix SB, Schmidt CO, Dorr M, Sauer S, Wilkming G, Volzke H: **Total and cardiovascular disease mortality predicted by metabolic syndrome is inferior relative to its components.** *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2010, **118**(10):685–691.
23. Lidfeldt J, Nyberg P, Nerbrand C, Samsioe G, Schersten B, Agardh CD: **Socio-demographic and psychosocial factors are associated with features of the metabolic syndrome. The Women's Health in the Lund Area (WHILA) study.** *Diabetes Obes Metab* 2003, **5**(2):106–112.
24. Molitch ME: **Drugs and prolactin.** *Pituitary* 2008, **11**(2):209–218.
25. Afifi AA, Kotlerman JB, Ettner SL, Cowan M: **Methods for improving regression analysis for skewed continuous or counted responses.** *Annu Rev Public Health* 2007, **28**:95–111.
26. Corona G, Mannucci E, Jannini EA, Lotti F, Ricca V, Monami M, Boddi V, Bandini E, Balercia G, Forti G, et al: **Hypoprolactinemia: a new clinical syndrome in patients with sexual dysfunction.** *J Sex Med* 2009, **6**(5):1457–1466.
27. Muldoon MF, Mackey RH, Korytkowski MT, Flory JD, Pollock BG, Manuck SB: **The metabolic syndrome is associated with reduced central serotonergic responsivity in healthy community volunteers.** *J Clin Endocrinol Metab* 2006, **91**(2):718–721.
28. Meaney AM, O'Keane V: **Prolactin and schizophrenia: clinical consequences of hyperprolactinaemia.** *Life Sci* 2002, **71**(9):979–992.
29. Rao ML, Gross G, Strebel B, Halaris A, Huber G, Braunig P, Marler M: **Circadian rhythm of tryptophan, serotonin, melatonin, and pituitary hormones in schizophrenia.** *Biol Psychiatry* 1994, **35**(3):151–163.
30. Ryan MC, Collins P, Thakore JH: **Impaired fasting glucose tolerance in first-episode, drug-naive patients with schizophrenia.** *Am J Psychiatry* 2003, **160**(2):284–289.
31. Oberweis B, Gragnoli C: **Potential role of prolactin in antipsychotic-mediated association of schizophrenia and type 2 diabetes.** *J Cell Physiol* 2012, **227**(8):3001–3006.
32. Muldoon MF, Mackey RH, Williams KV, Korytkowski MT, Flory JD, Manuck SB: **Low central nervous system serotonergic responsivity is associated with the metabolic syndrome and physical inactivity.** *J Clin Endocrinol Metab* 2004, **89**(1):266–271.
33. Berinder K, Nystrom T, Hoybye C, Hall K, Hulting AL: **Insulin sensitivity and lipid profile in prolactinoma patients before and after normalization of prolactin by dopamine agonist therapy.** *Pituitary* 2011, **14**(3):199–207.
34. dos Santos Silva CM, Barbosa FR, Lima GA, Warszawski L, Fontes R, Domingues RC, Gadelha MR: **BMI and metabolic profile in patients with prolactinoma before and after treatment with dopamine agonists.** *Obesity (Silver Spring)* 2011, **19**(4):800–805.
35. Weinhaus AJ, Stout LE, Bhagroo NV, Brelje TC, Sorenson RL: **Regulation of glucokinase in pancreatic islets by prolactin: a mechanism for increasing glucose-stimulated insulin secretion during pregnancy.** *J Endocrinol* 2007, **193**(3):367–381.
36. Yamamoto T, Ricordi C, Mita A, Miki A, Sakuma Y, Molano RD, Fornoni A, Pileggi A, Inverardi L, Ichii H: **beta-Cell specific cytoprotection by prolactin on human islets.** *Transplant Proc* 2008, **40**(2):382–383.
37. Yamamoto T, Mita A, Ricordi C, Messinger S, Miki A, Sakuma Y, Timoneri F, Barker S, Fornoni A, Molano RD, et al: **Prolactin supplementation to culture medium improves beta-cell survival.** *Transplantation* 2010, **89**(11):1328–1335.
38. Terra LF, Garay-Malpartida MH, Wailemann RA, Sogayar MC, Labriola L: **Recombinant human prolactin promotes human beta cell survival via inhibition of extrinsic and intrinsic apoptosis pathways.** *Diabetologia* 2011, **54**(6):1388–1397.
39. Friedrich N, Schneider HJ, Spielhagen C, Markus MR, Haring R, Grabe HJ, Buchfelder M, Wallaschofski H, Nauck M: **The association of serum prolactin concentration with inflammatory biomarkers - cross-sectional findings from the population-based Study of Health in Pomerania.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011, **75**(4):561–566.
40. Haring R, Friedrich N, Volzke H, Vasani RS, Felix SB, Dorr M, Meyer Zu Schwabedissen HE, Nauck M, Wallaschofski H: **Positive association of serum prolactin concentrations with all-cause and cardiovascular mortality.** *Eur Heart J* 2012.

41. Haring R, Volzke H, Vasan RS, Felix SB, Nauck M, Dorr M, Wallaschofski H: **Sex-specific associations of serum prolactin concentrations with cardiac remodeling: longitudinal results from the Study of Health Pomerania (SHIP).** *Atherosclerosis* 2012, **221**(2):570–576.
42. Katznelson L, Riskind PN, Saxe VC, Klibanski A: **Prolactin pulsatile characteristics in postmenopausal women.** *J Clin Endocrinol Metabol* 1998, **83**(3):761–764.
43. Maratou E, Hadjidakis DJ, Peppas M, Alevizaki M, Tsegka K, Lambadiari V, Mitrou P, Boutati E, Kollias A, Economopoulos T, *et al*: **Studies of insulin resistance in patients with clinical and subclinical hyperthyroidism.** *Eur J Endocrinol* 2010, **163**(4):625–630.
44. Mitrou P, Raptis SA, Dimitriadis G: **Insulin action in hyperthyroidism: a focus on muscle and adipose tissue.** *Endocr Rev* 2010, **31**(5):663–679.
45. Resmini E, Minuto F, Colao A, Ferone D: **Secondary diabetes associated with principal endocrinopathies: the impact of new treatment modalities.** *Acta Diabetol* 2009, **46**(2):85–95.
46. Rothman KJ, Greenland S: **Causation and causal inference in epidemiology.** *Am J Public Health* 2005, **95**(Suppl 1):S144–150.

doi:10.1186/1472-6823-13-12

**Cite this article as:** Balbach *et al.*: Serum prolactin concentrations as risk factor of metabolic syndrome or type 2 diabetes?. *BMC Endocrine Disorders* 2013 **13**:12.

**Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:**

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)



## 7.2 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorgelegte Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät, keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Greifswald, den

---

Lisa Balbach



