

Aus der Klinik für Endokrinologie und Stoffwechselmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Endotheliale Dysfunktion unter lipidinduzierter Insulinresistenz

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Jessica Kraatz

Datum der Promotion: 25.11.2022

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	2
Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	4
Abkürzungsverzeichnis	5
1. Zusammenfassung.....	7
Abstract	8
2. Einleitung	9
2.1. Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskuläre Erkrankungen	9
2.1.1. Definition und Diagnose des Diabetes mellitus Typ 2.....	9
2.1.2. Vaskuläres Risikoprofil des Diabetes mellitus.....	10
2.2. Endotheliale Dysfunktion.....	10
2.2.1. Endotheliale Dysfunktion und Diabetes mellitus Typ 2	10
2.2.2. Diagnostik der endothelialen Dysfunktion.....	11
2.2.2.1. Pulswellengeschwindigkeit	11
2.2.2.2. Pulswellenanalyse (Augmentation und Augmentation Index).....	12
2.2.2.3. Pulsdruck.....	13
2.2.2.4. Subendokardiale Viability Ratio (SEVR)	13
3. Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit.....	14
4. Probanden und Methoden.....	15
4.1. Studiendesign	15
4.2. Probanden.....	15
4.3. Studienablauf.....	16
4.3.1. Euglykämischer hyperinsulinämischer Clamp.....	16
4.3.2. Vaskuläre Parameter	17
4.3.2.1. Pulswellenanalyse	19
4.3.2.2. Pulswellengeschwindigkeit	21
4.3.3. HOMA-IR	22
4.4. Statistik.....	22
4.5. Methodenkritik	23
5. Ergebnisse	24
5.1. Insulinresistenz.....	24
5.2. vaskuläre Parameter	27
5.2.2. Augmentation Index (AiX@75).....	27
5.2.3. Subendokardiale Viability Ratio (SEVR)	29

5.2.4. Pulswellengeschwindigkeit (PWV).....	30
6. Diskussion	32
6.1. Insulinresistenz.....	32
6.2. Endotheliale Gefäßregulation.....	32
6.3. Pulswellengeschwindigkeit	34
6.4. Augmentationsindex (AiX)	35
6.5. Subendokardiale Viability Ratio (SEVR)	37
7. Zusammenfassung und Ausblick	38
8. Literaturverzeichnis.....	39
9. Anhang	45
9.1 Eidesstattliche Versicherung	45
9.2 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen	47
9.2. Lebenslauf	48
9.3. Publikationen.....	51
9.4. Danksagung.....	52

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis:

Tabelle 1. Klinische Parameter der Probanden (n=18)	16
Tabelle 2. Datenverteilung Glukoseinfusionsrate im hyperinsulinämischen euglykämischen	24
Tabelle 3. Datenverteilung HOMA-IR zum Zeitpunkt 0	26
Tabelle 4. Messwerte der Gefäßregulation nach Kochsalz- bzw. Lipidinfusion	27
Tabelle 5. Datenverteilung AiX@75 unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion.....	28
Tabelle 6. Datenverteilung SEVR@75 unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion	29
Tabelle 7. Datenverteilung PWV unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion (in m/s).....	31

Abbildungsverzeichnis:

Abbildung 1. SphygmoCor SCOR-Px System (43) 17	
Abbildung 2. Anwendung der stiftähnlichen Sonde des SphygmoCor Systems (43).....	18
Abbildung 3. Beispielbild einer Monitorarstellung der Pulswellenanalyse	20
Abbildung 4. Beispielbild einer Monitorarstellung der Messung der Pulswellengeschwindigkeit	21
Abbildung 5. Glukoseinfusionsrate im hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp.....	25
Abbildung 6. HOMA-IR zum Zeitpunkt 0.....	26
Abbildung 7. Vergleich AiX@75 unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion.....	28
Abbildung 8. Pulsfrequenzadjustierte Subendokardiale Viability Ratio (SEVR@75).....	30
Abbildung 9. Pulswellengeschwindigkeit (PWV)	31

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µmol	Mikromol
AG	Druckindex
AiX	Augmentationsindex
AiX@75	AiX auf eine Herzrate von 75 Schlägen/min adjustiert
BMI	Body Maß Index
bpm	Pulsrate
cm	Zentimeter
dl	Deziliter
DPTI	Zeitdruckindex
ED	Ejektionsdauer
EKG	Elektrokardiogramm
ET-1	Endothelin 1
ET _a	Endothelinrezeptor A
ET _b	Endothelinrezeptor B
FMD	flow mediated dilation, sonographische Bestimmung des arteriellen Blutflusses
h	Stunde
HbA1c	Glykiertes Hämoglobin A1c
HDL	High Density Lipoprotein
HOMA-IR	Homöostasemodell zwischen Insulin und Glukose
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
LBF	leg blood flow, invasive Messung des arteriellen Blutflusses
LDL	Low Density Lipoprotein
m	Meter
M	Mittelwert
m ²	Quadratmeter
mg	Milligramm
min	Minute

ml	Milliliter
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mmol	Millimol
ms	Millisekunden
mU	Mikroeinheiten
n	Anzahl
n.s.	nicht signifikant
NaCl	medizinische Kochsalzlösung
NO	Stickstoffmonoxid
OGTT	Oraler Glukosetoleranztest
p	Signifikanzniveau
PAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PP	Pulsdruck
PWV	Pulswellengeschwindigkeit
R	Insulinresistenz
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SEVR	Subendokardiale Viability Ratio
SEVR@75	SEVR auf eine Herzrate von 75 Schlägen/min adjustiert
t	t-Wert
TTI	Druckzeitindex
V	Geschwindigkeit
Δ	Differenz

1. Zusammenfassung

Hintergrund und Fragestellung: Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und prädiabetische Patienten mit verminderter Glukosetoleranz haben ein erhöhtes Risiko eines kardiovaskulären Ereignisses durch gemeinsame Risikofaktoren. Diese beeinflussen auch die Steifigkeit der großen arteriellen Gefäße. Eine vermehrte arterielle Steifigkeit wurde auch bei chronischer Insulinresistenz beschrieben. Ziel der Arbeit soll sein, Veränderungen der arteriellen Steifigkeit im Rahmen einer akuten, lipidinduzierten Insulinresistenz qualitativ und quantitativ zu erfassen.

Probanden und Methoden: Bei 18 gesunden männlichen Probanden wurde mittels intravenöser Lipidinfusion eine akute Insulinresistenz induziert, die mittels hyperinsulinämischem euglykämischem Clamp verifiziert wurde. Währenddessen erfolgte die Messung der Parameter der arteriellen Steifigkeit mittels Applanationstonometrie. Zum Vergleich wurde der gesamte Versuchsaufbau ebenfalls mit einer Kochsalzinfusion durchgeführt.

Ergebnisse: Nach lipidhaltiger intravenöser Infusion konnte bei allen Probanden eine Insulinresistenz im hyperglykämischen euglykämischen Clamp nachgewiesen werden ($p < 0,001$). Weder die Pulswellengeschwindigkeit (PWV), noch der Augmentation Index (AiX) zeigten eine statistisch signifikante Veränderung. Tendenziell zeigten die Parameter unter Lipidinfusion sogar eine Verbesserung bzw. Abnahme der Steifigkeit der Gefäße an. Die Subendokardiale Viability Ratio (SEVR) ergab unter Lipidinfusion eine signifikant verbesserte Perfusion des Myokards ($p < 0,05$).

Schlussfolgerung: Die vorbeschriebenen Veränderungen der arteriellen Steifigkeit im Rahmen einer chronischen Insulinresistenz ließen sich bei akuter lipidinduzierter Insulinresistenz nicht nachweisen. Eine im Gegenteil tendenzielle Verbesserung der arteriellen Durchblutung wird als dominante vegetative Regulation des gesunden Probanden gewertet.

Abstract

Introduction: Patients with diabetes mellitus type 2 and also pre-diabetic patients with impaired glucose tolerance have a high risk of cardiovascular diseases, because of common major risk factors. These risk factors also contribute to arterial stiffness. It has been previously described that chronic insulin resistance, positively correlates with arterial stiffness. This study aimed to investigate arterial stiffness as a consequence of acute lipid induced insulin resistance.

Subjects and Methods: 18 healthy men were enrolled in a two day study with either a venous lipid infusion or a saline infusion followed by a hyperinsulinemic euglycemic clamp. After the infusion vascular functions were measured using applanation tonometry.

Results: The hyperinsulinemic euglycemic clamp showed a significant decrease in glucose uptake as a parameter of insulin resistance after lipid infusion ($p < 0,001$). Neither pulse wave velocity (PWV) nor the augmentation Index (AiX) showed a significant worsening of vascular function by lipid induced insulin resistance. In contrast, both point in trend towards slightly improved vascular function. The Subendocardial Viability Ratio (SEVR), a marker of myocardial perfusion was significantly improved ($p < 0,05$).

Discussion: The published impact on vascular function of chronic insulin resistance could not be seen in acute lipid induced insulin resistance in healthy men. In contrast, vascular function tended to improved parameters. This might be the consequence of a dominant regulatory effect of the autonomic nervous system in healthy subjects.

2. Einleitung

2.1. Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskuläre Erkrankungen

2.1.1. Definition und Diagnose des Diabetes mellitus Typ 2

Der Diabetes mellitus ist eine Stoffwechselerkrankung des Menschen, die aufgrund einer verminderten Insulinwirkung im Körper einen erhöhten Blutzuckerspiegel verursacht.

Der Begriff des Diabetes mellitus leitet sich aus dem altgriechischen Wort für „Durchfluss“ und dem lateinischen Wort für „Honig“ ab und bedeutet „honigsüßer Durchfluss“. Die bereits seit dem Altertum bekannte Erkrankung erhielt ihren Namen durch das führende Symptom, nämlich die vermehrte Ausscheidung von Zucker. Im deutschen Sprachraum wird auch der Begriff „Blutzuckerkrankheit“ oder „Zuckerkrankheit“ verwendet.

In Deutschland liegt die Prävalenz der Erkrankung bei etwa 9% (1), das Verhältnis Männer zu Frauen liegt dabei in etwa bei 1:1,5. Die Inzidenz zeigt seit Jahren eine globale Zunahme (2). Die Krankheit wird in allen Altersgruppen beobachtet, tritt jedoch bevorzugt im Alter auf. Definiert wird die Erkrankung durch einen dauerhaft erhöhten Blutzuckerspiegel. Dabei unterscheidet man zwischen dem Insulinmangel und der zellulären Insulinresistenz. Beim Insulinmangel handelt es sich in der Regel um den Diabetes mellitus Typ I mit einer verminderten oder fehlenden Insulinproduktion der Langerhans'schen Inseln des Pankreas. In den meisten Fällen liegt dabei eine autoimmune oder entzündliche Genese vor. Der Typ I Diabetes tritt vor allem bei Kindern und Jugendlichen auf. Im Gegensatz dazu kommt es beim Diabetes mellitus Typ 2 zunächst zu keinem Mangel an Insulin, sondern zu einem verminderten Ansprechen der Körperzellen auf Insulin (Insulinresistenz)(3). Die im Plasma verbliebene Glukose führt einerseits zu einer Erhöhung des Blutzuckerspiegels, andererseits bei Ausschöpfung der renalen Clearance zu einer vermehrten Zuckerausscheidung über den Urin. Das Symptom des „honigsüßen Urins“ diente in der vorindustriellen Medizin der Diagnosestellung des Diabetes mellitus. Heute wird der Glukosegehalt des venösen Plasmas mittels enzymatischer Testung bestimmt. Eine Nüchternglukosekonzentration im venösen Plasma ab 126 mg/dl definiert dabei den Diabetes mellitus. Daneben kann ein Diabetes mellitus auch über den oralen Glukosetoleranztest (OGTT) oder aber den HbA1c definiert werden. Beim OGTT trinkt der nüchterne Patient nach venöser Blutabnahme und Bestimmung der Nüchternglukose eine definierte Menge Zucker (75 g Glukose in wässriger Lösung). Anschließend erfolgt nach 120 Minuten eine erneute Kontrolle der venösen Plasmaglukose. Ein Wert von 200 mg/dl oder höher definiert so ebenfalls den Diabetes mellitus. Werte zwischen 140

und 200 mg/dl definieren die gestörte Glukosetoleranz. Eine normale Glukosetoleranz liegt vor bei einem Nüchternblutzucker von unter 100 mg/dl und einem Blutzucker von unter 140 mg/dl nach 120 Minuten. Der OGTT wird auch bei Verdacht auf Gestationsdiabetes durchgeführt. Die Grenzwerte sind hier jedoch anders definiert.

Ein erhöhter Anteil von glykiertem Hämoglobin (HbA1c) von 48 mmol/ml bzw. 6,5 % oder mehr definiert heute ebenfalls den Diabetes mellitus.

2.1.2. Vaskuläres Risikoprofil des Diabetes mellitus

Während beim Typ I Diabetes die akuten Symptome (Polyurie, Polydipsie, Gewichtsverlust) meist rasch auftreten, bleibt der Diabetes mellitus Typ 2 meist lange klinisch stumm und macht sich häufig erst durch Sekundärkomplikationen bei lang andauernder Erhöhung des Blutzuckerspiegels bemerkbar. Zu den Sekundärkomplikationen zählen Beeinträchtigungen des Nervensystems (Sehstörungen, Polyneuropathie), des Immunsystems (erhöhte Infektanfälligkeit), der Niere (diabetische Nephropathie), der Haut (Dermatitis, Wundheilungsstörungen) und vor allem ein erhöhtes Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen (4). Patienten mit einem erhöhten HbA1c als Langzeitparameter haben ein erhöhtes Risiko für eine koronare Herzerkrankung, einen Herzinfarkt und eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK)(5). Tatsächlich versterben die meisten Patienten mit Typ 2 Diabetes an kardiovaskulären Erkrankungen (6). Dabei ist bekannt, dass der Diabetes mellitus Typ 2 sowohl eine Erkrankung der großen Gefäße (große Arterien und die Aorta), als auch der kleinen Gefäße (kleine Arterien und Arteriolen) darstellt (7).

2.2. Endotheliale Dysfunktion

2.2.1. Endotheliale Dysfunktion und Diabetes mellitus Typ 2

Ein wichtiges Kriterium bzw. die Vorstufe des Diabetes mellitus Typ 2 ist die Insulinresistenz. Neben den Skelettmuskelzellen, den Fettzellen und den Blutzellen gibt es auch eine direkte insulinvermittelte Interaktion mit den Endothelzellen der Gefäße (8). Diese kleiden die arteriellen Gefäße aus und üben eine regulatorische Funktion aus bzw. bilden das Bindeglied zwischen Blutplasma und Gefäßmuskelzellen. Hier stimuliert Insulin die Synthese von Stickstoffmonoxid (NO) der Zellen (9). NO gilt als stärkster endogener Vasodilatator im menschlichen Körper. Zusammen mit der Vasodilatation kommt es zu gesteigertem Blutfluss und verbesserter Aufnahme von Glukose in die Skelettmuskelzellen. Bei reduziertem Ansprechen der Endothelzellen auf Insulin im Rahmen einer Insulinresistenz wird die NO-Synthese reduziert, bzw. die Verfügbarkeit verringert (10). Darüber hinaus kommt es bei

Insulinresistenz zu erhöhtem oxidativem Stress der Endothelzellen (8,11) sowie vermehrter Inflammation (12). Alle diese Faktoren führen zu einer gestörten endothelialen Funktion (endotheliale Dysfunktion) mit einer gesteigerten Vasokonstriktion als Vorstufe des Hypertonus (8). Der arterielle Hypertonus ist wiederum ein Risikofaktor für eine kardiovaskuläre Erkrankung. Begünstigt wird auch die Entstehung einer Arteriosklerose mit einem Verlust der Elastizität der Gefäßwand. Dieser Elastizitätsverlust ist als vermehrte Steifigkeit der Gefäßwand (arterial stiffness) messbar und quantifizierbar (13).

2.2.2. Diagnostik der endothelialen Dysfunktion

2.2.2.1. Pulswellengeschwindigkeit

Die Pulswellengeschwindigkeit (PWV) ist die Geschwindigkeit, mit der sich die Pulswelle über das Gefäßsystem des Körpers ausbreitet.

Sie wird maßgeblich durch die Dämpfungsfunktion der Gefäßwandelastizität, insbesondere der Aorta ascendens sowie der großen Arterien bestimmt (Windkesselfunktion). Dabei gilt, je elastischer die Gefäßwand, desto größer die Dämpfungsfunktion bzw. geringer die Geschwindigkeit der Pulswelle. Liegt jedoch eine erhöhte Steifigkeit des arteriellen Gefäßsystems vor, reduziert sich die Windkesselfunktion der Aorta, die Pulswelle breitet sich wie in einem Rohrsystem mit einer höheren Geschwindigkeit aus und führt zu einem Anstieg der systolischen Druckwelle (14).

Die Pulswellengeschwindigkeit gilt daher als direktes Maß der arteriellen Steifigkeit (15). Sie kann durch ein nichtinvasives Messverfahren, der Applanationstonometrie bestimmt werden. Dem Verfahren wurde in mehreren Studien eine hohe prognostische Aussagekraft zugeschrieben (16),(17).

Zu unterscheiden ist dabei zwischen der zentralen und peripheren Pulswellengeschwindigkeit. Die periphere PWV dient der Messung bzw. Bestimmung der Steifigkeit der Muskelarterien. Die zentrale PWV gibt Veränderungen der großen herznahen Arterien wie der Aorta an.

Zu den prädisponierenden Faktoren einer erhöhten arteriellen Steifigkeit gehören neben erhöhtem Lebensalter (18), terminaler Niereninsuffizienz (19) und Hypertonus (20) eben auch metabolische Risikofaktoren wie der Diabetes mellitus und die dabei vorliegende Insulinresistenz(21). Eine signifikante Assoziation von Insulinresistenz und einer Erhöhung der zentralen PWV ist bereits mehrfach belegt (22),(23).

2.2.2.2. Pulswellenanalyse (Augmentation und Augmentation Index)

Durch die Pumpfunktion des Herzens entsteht eine Druckpulsamplitude des Blutflusses, wobei je nach kardialer Pumpphase ein niedrigerer Druck (Diastole) bzw. ein höherer Blutdruck (Systole) vorliegt. Die Pulsdruckwelle spiegelt die Herzaktion wieder und gibt die vaskuläre Druckpulsamplitude wieder.

Die Pulsdruckwelle erfährt während ihrer Ausbreitung von zentral nach peripher multiple Impedanzunterschiede, die überwiegend durch Gefäßverzweigungen und den Übergang von Arterien in Arteriolen bestimmt werden. Bei jeder Widerstandserhöhung wird die Pulswelle nach zentral reflektiert (24). Dabei wird das Ausmaß der Reflektion von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Dazu zählen die vaskuläre Elastizität, die PWV, die Transitzeit der Druckpulsquelle von peripher nach zentral und die zurückzulegende Distanz (25).

Die Differenz des Pulsdrucks der initialen Pulswelle und der reflektierten Welle bezeichnet man als Augmentation. Je geringer die Differenz, desto elastischer das Gefäßsystem. Bei einem gesunden, elastischen Gefäßsystem trifft die reflektierte Pulswelle erst später auf die Aorta, das heißt nach dem Schluss der Herzklappen, in der diastolischen Druckphase.

Liegt jedoch ein Elastizitätsverlust der Gefäßwand vor kommt es zu einer früheren Reflektion der Druckpulsquelle in der systolischen Phase, die initiale und die reflektierte Welle addieren bzw. augmentieren sich (26), die Druckpulsdifferenz erhöht sich. Durch den reflektierten Druckpuls erhöht sich das endsystolische Volumen, der systolische Blutdruck und die kardiale Nachlast. Daraus resultiert eine erhöhte kardiale Belastung (27,28) sowie eine langfristige linksventrikuläre Hypertrophie (29).

Mittels Tonometrie ist die nichtinvasive Bestimmung der initialen und reflektierten Druckpulscurve möglich. Dabei beschreibt die Augmentation die Druckdifferenz des maximalen Pulsdrucks beider Wellen. Liegt die reflektierte Druckpulsquelle zeitlich hinter der ursprünglichen Pulswelle, werden die maximalen Druckauschläge jeweils subtrahiert. Die Werte der Augmentation erreichen dabei negative Werte, da die Druckspitze der reflektierten Welle unter denen der initialen Druckpulsquelle liegen.

Im Falle einer erhöhten arteriellen Steifigkeit mit verminderter Elastizität der Gefäßwand kommt es zu einer verfrühten Reflektion der Druckwelle, die die initiale Druckpulsquelle überlagert. Die Augmentation nimmt positive Werte an, da die reflektierte Welle den Druckpuls der initialen Welle erhöht (30).

Wird die Augmentation durch den aortalen (zentralen) Pulsdruck dividiert erhält man den Augmentationsindex (AiX). Dieser gilt als indirekter Marker der arteriellen Steifigkeit. Eine Erhöhung des AiX korreliert insbesondere bei Patienten unter 60 Jahren mit einem erhöhten

kardiovaskulären Risikoprofil (31). Bei Patienten über 60 Jahren gilt die PWV als wichtiger prognostischer Parameter (29). Beide Parameter geben Hinweise auf die Steifigkeit der Gefäße, die eine hohe prognostische Bedeutung für das kardiovaskuläre Risikoprofil bieten (27).

2.2.2.3. Pulsdruck

Die Druckdifferenz zwischen dem systolischen und diastolischen Blutdruck wird als Pulsdruck bezeichnet. Dieser ist abhängig von der Elastizität der Gefäße, dem Schlagvolumen und der Pulswellenreflektion. Auch der Pulsdruck zeigt eine Zunahme im Rahmen des Alterns (24). Liegen Veränderungen der ventrikulären Ejektionsfraktion, eine Zunahme der arteriellen Steifigkeit oder veränderte Pulswellen vor, kann ein erhöhter Pulsdruck ein erhöhtes kardiovaskuläres Risikoprofil anzeigen (32).

2.2.2.4. Subendokardiale Viability Ratio (SEVR)

Eine erhöhte Steifigkeit des arteriellen Systems führt zu einer früheren Reflektion der Pulswelle, einer Augmentation des Pulsdrucks und somit zu einer vermehrten kardialen Belastung (27,28). Die Erhöhung des zentralen systolischen Blutdrucks mit erhöhter Nachlast des linken Ventrikels resultiert in einem erhöhten Sauerstoffbedarf des Myokards (33). Demgegenüber steht ein in diesem Zusammenhang beschriebener Abfall des diastolischen Drucks mit verminderter koronarer Perfusion und verringertem Sauerstoffangebot (34).

Die subendokardiale Viability Ratio (SEVR) ist das Druck-Zeit-Integral über der Aorta und gibt das Verhältnis zwischen subendokardialem Perfusionsbedarf und dem Angebot der koronaren Perfusion an (35). Die SEVR, nach dem Beschreiber auch als Buckberg-Index bezeichnet, gilt als Marker einer verminderten koronaren Mikrozirkulation und damit als Marker einer subendokardialen Ischämie (36). Erniedrigte Werte treten bei Insulinresistenz, Übergewicht und Diabetes mellitus Typ 2 auf und korrelieren dabei mit einem erhöhten kardiovaskulärem Risikoprofil (37,38).

3. Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit

Die unter Insulinresistenz verminderte insulinvermittelte Vasodilatation der Endothelzellen begünstigt die vermehrte Vasokonstriktion und damit die Entstehung eines Hypertonus. Bereits frühzeitig lassen sich Veränderungen der endothelialen Gefäßregulation beobachten. Mit der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob auch im Rahmen einer kurzfristigen, fettinduzierten Insulinresistenz messbare Veränderungen der endothelialen Gefäßregulation nachweisbar sind bzw. ob eine endotheliale Dysfunktion induziert werden kann.

Die formulierten Alternativhypothesen lauten:

1. Durch eine intravenöse Lipidinfusion lässt sich eine fettinduzierte Insulinresistenz induzieren und quantitativ erfassen.
2. Eine fettinduzierte Insulinresistenz führt zu einer erhöhten Steifigkeit der großen Arterien mit erhöhter Geschwindigkeit des Blutflusses und einem verminderten kardialen Perfusionsangebot mit resultierender myokardialer bzw. subendokardialer Ischämie.

4. Probanden und Methoden

4.1. Studiendesign

Die Studie sieht eine Teilnahme der Probanden an jeweils zwei Tagen vor. Diese sollen im Abstand von mindestens einer Woche erfolgen, um eine zwischenzeitliche Normalisierung des Stoffwechsels sicherzustellen.

Der Versuchsaufbau sieht vor, dass die Probanden nach intravenöser Infusion von 500 ml NaCl einem hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp unterzogen werden. Jeweils vor dem Clamp erfolgte die Messung der Gefäßparameter. Die gleiche Versuchsreihe erfolgt an einem weiteren Studientag nach intravenöser Infusion von 500 ml Lipidlösung (vergleiche dazu Kapitel 4.3).

4.2. Probanden

Nach ausführlicher Beratung über Zielsetzung und Durchführung der Studie, sowie über mögliche Risiken, stimmten alle Probanden der Teilnahme schriftlich zu. Die Studie war vorher der Ethikkommission der Charité Berlin vorgelegt worden (204-15b und 201-05).

Ausgewählt wurden 18 gesunde männliche Probanden zwischen 21 und 59 Jahren ($30,78 \pm 11,09$ Jahre), die zwischen Juni 2006 und Juni 2008 an der Studie teilnahmen. Die Probanden gaben keine bekannten kardiovaskulären, autoimmunen oder metabolische Vorerkrankungen an. Um eine wechselnde Hormoninteraktion im Rahmen des weiblichen Zyklus auszuschließen, waren nur Männer eingeschlossen worden. In einer Voruntersuchung erfolgten neben einer körperlichen Untersuchung mit Auskultation und EKG eine Laborkontrolle. Zusätzlich wurde ein oraler Glukosetoleranztest durchgeführt. Eingeschlossen wurden nur Probanden mit normaler Glukosetoleranz. In den letzten 6 Monaten vor Beginn der Studienteilnahme durfte keine regelmäßige Medikamenten- oder Drogeneinnahme erfolgen. Desweiteren wurden die Probanden angewiesen, während der Studienteilnahme das Verhalten bezüglich körperlicher Aktivität, Ernährung und Rauchen nicht zu verändern.

Tabelle 1. Klinische Parameter der Probanden (n=18)

		Mittelwerte \pm SD	Intervall
Alter	Jahre	30,78 \pm 11,09	22 - 59
Größe	cm	1,82 \pm 0,07	169 - 193
Gewicht	kg	76,83 \pm 8,99	62 - 92
Body Mass Index	kg/m ²	23,55 \pm 2,18	19,51 - 27,5
Nüchtern Plasma Glukose	mg/dl	84,92 \pm 8,37	71 - 96
Nüchtern Serum Insulin	mU/l	6,11 \pm 3,01	2,7 - 11,3
Nüchtern Plasma Triglyceride	mmol/l	1,05 \pm 0,35	0,49 - 2,06
Serum Kreatinin	μ mol/l	94,25 \pm 13,34	64 - 113,9
Serum HDL Cholesterin	mmol/l	1,3 \pm 0,33	1,09 - 1,52
Serum LDL Cholesterin	mmol/l	2,53 \pm 0,64	1,76 - 3,69
Serum Cholesterin	mmol/l	4,24 \pm 0,81	2,13 - 5,08
Serum Kalium	mmol/l	3,89 \pm 0,33	3,45 - 4,31

4.3. Studienablauf

Jeder Studientag begann um 8 Uhr morgens. Die Probanden erschienen nüchtern. Das Trinken von Wasser ohne Zusätze war erlaubt. Kaffee, Tee oder Rauchen war untersagt. Sämtliche Untersuchungen erfolgten in einem normal temperierten, klimatisierten Raum (20°C). Die Probanden nahmen eine bequeme, sitzende Position mit hochgelagerten Unterschenkeln ein. Nach Anlage von zwei brachialen Venenverweilkathetern erfolgt die Nüchternblutabnahme. Über den intravenösen Zugang am rechten Arm erfolgte die Infusion von wahlweise 500 ml NaCl oder 500 ml Lipidlösung (Lipovenös©, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) mit einer Infusionsrate von 90 ml/h. Gegen 11 Uhr erfolgte die erste Messung der Gefäßparameter. Anschließend erfolgte die Durchführung eines hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp zur Bestimmung der Insulinresistenz. Über den Venenverweilkatheter am linken Arm erfolgten Blutabnahmen.

4.3.1. Euglykämischer hyperinsulinämischer Clamp

Der hyperinsulinämische euglykämische Clamp ist der Goldstandard zur Bestimmung der Insulinsensitivität bzw. -resistenz (39).

Die Untersuchung erfolgt am nüchternen Patienten bzw. Probanden. Nach Bestimmung der Nüchternglukosekonzentration im Blutplasma erfolgt die injektorgesteuerte Injektion einer individuellen Dosis Insulin nach einem festen Schema (Actrapid, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Dänemark) zunächst als Bolus, dann als Dauerinfusion. Die Dosis richtet sich dabei nach dem

BMI und der Körperoberfläche und soll eine Insulinkonzentration von 100 $\mu\text{U/ml}$ während der Untersuchung sicherstellen(39). Gleichzeitig wird eine Glukoselösung intravenös infundiert (10% Glukoselösung, B. Braun, Melsungen, Deutschland). Es erfolgte die regelmäßige Messung der Glukosekonzentration im Plasma, im Mittel etwa alle 5 Minuten. In Abhängigkeit von der Glukosekonzentration wird die Glukoseinfusion beschleunigt oder gedrosselt. Ziel ist es, in einem Zeitraum von mindestens 20 Minuten keine Änderungen der Infusionsrate der Glukoseinfusion bei Stabilität des Blutzuckers zwischen 72 – 88 mg/dl zu gewährleisten (steady state). Dies wird durchschnittlich nach einem Zeitraum von ca. 120 Minuten erreicht, währenddessen der Blutzucker regelmäßig gemessen wird (s. oben). Die Höhe der Glukosezufuhr ist ein messbarer Parameter der Insulinsensitivität der Körperzellen (mg Glukose / Minute / kg Körpergewicht).

4.3.2. Vaskuläre Parameter

Die Messung der Gefäßparameter erfolgte mit dem SphygmoCor SCOR-Px System (AtCor Medical, Sydney, Australien). Dabei handelt es sich um ein nichtinvasives Messverfahren zur Durchführung einer Pulswellenanalyse, welches in mehreren Studien validiert wurde (40–42).

Abbildung 1. SphygmoCor SCOR-Px System (43)



Quelle: Benutzerhandbuch SphygmoCor-Px. AtCor Medical

Eingesetzt wird dabei ein sogenanntes Applanationstonometer. Die stiftähnliche Sonde wird mit der Sensorseite direkt auf die A. radialis aufgelegt. Durch den knöchernen Widerstand des Processus styloideus radii können pulsassoziierte Druckschwankungen der Arterie erfasst werden. Diese werden synchron am Monitor abgebildet (siehe Abbildung 1).

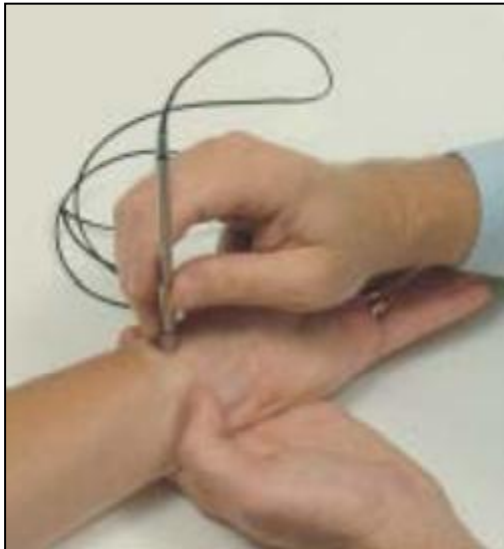
Ein in die Software integrierter Qualitätsindex wird angegeben (in Prozent). Dabei werden die Pulswellenhöhe, Pulswellenvariation und die Konformität der diastolischen Kurvenanteile auf Abweichungen untersucht. Ein hoher Qualitätsindex signalisiert dabei die korrekte und reproduzierbare Messung der vaskulären Parameter. Messungen am Probanden mit einem Qualitätsindex unter 90% wurden verworfen. Zu jedem Messzeitpunkt wurden drei Messungen mit einem Qualitätsindex von über 90% durchgeführt und der Mittelwert der erfassten Parameter gebildet.

Zu Beginn jeder Messung erfolgte eine Blutdruckmessung mittels Manschette an beiden Oberarmen. Daraus wurde von der Software der mittlere systolische und diastolische Druck erfasst.

Über eine Transferfunktion des zugehörigen SphygmoCor Software erfolgt unter der Annahme eines konstanten mittleren arteriellen Drucks eine Berechnung der zentralen (aortalen) Pulsdruckwellen bzw. Blutdruckwerte (41).

Alle Untersuchungen erfolgten unter den gleichen Raumbedingungen. Die Probanden befanden sich in einer aufrechten, bequemen Position und wurden angehalten nicht zu sprechen.

Abbildung 2. Anwendung der stiftähnlichen Sonde des SphygmoCor Systems (43)



Quelle: Benutzerhandbuch SphygmoCor-Px. AtCor Medical

4.3.2.1. Pulswellenanalyse

Die Messung des brachialen Blutdrucks dient der Kalibrierung der Pulswellenanalyse. Der systolische Blutdruck gibt dabei das Maximum der Pulswelle, der diastolische Blutdruck das Minimum an. Die angewandte Transferfunktion verwendet die gemessenen peripheren Pulswellen, um eine zentrale (aortale) Pulswelle zu berechnen.

Berechnet wurde die Differenz zwischen dem minimalen und maximalen Pulsdruck (pressure augmentation AG).

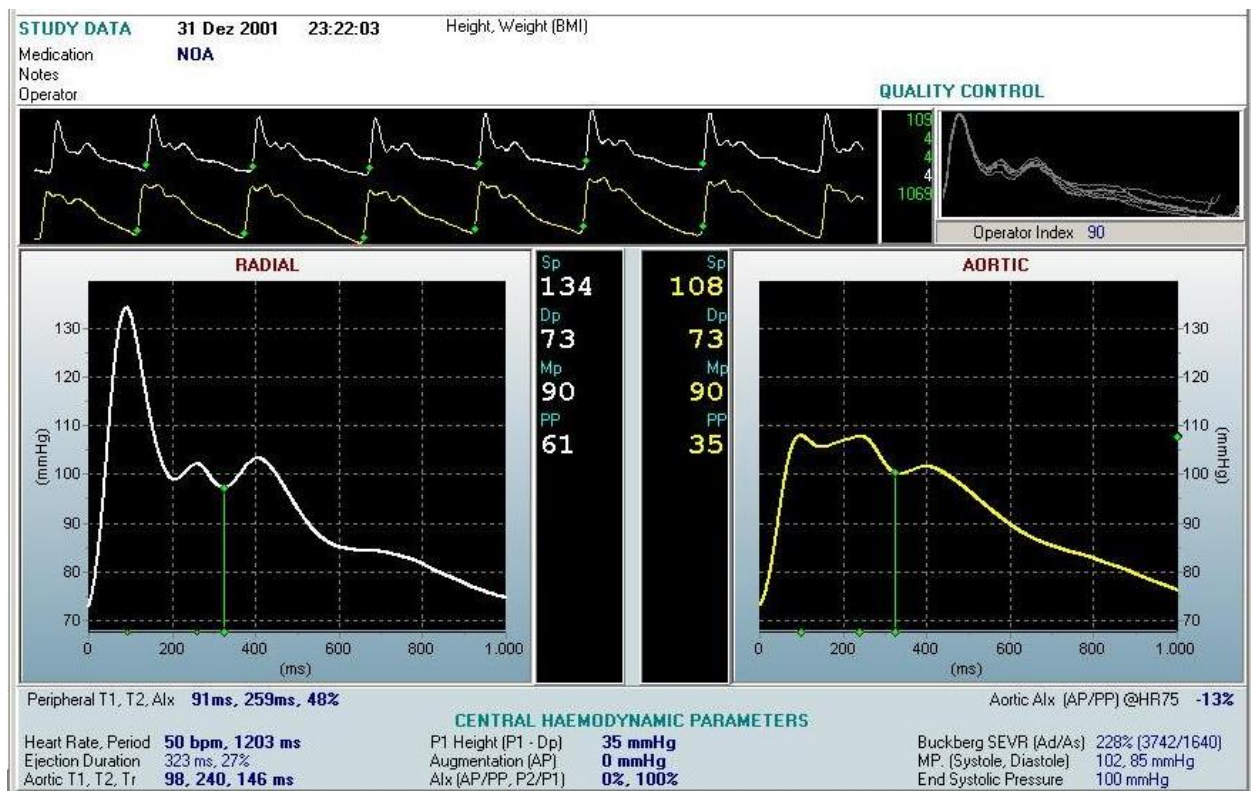
$$\Delta P = P_2 - P_1$$

Die Software differenziert dabei die aortale Pulswelle und die reflektierte Welle. Der Quotient aus dem aortalen Pulsdruck und der Augmentation ergibt den Augmentation Index (Aix):

$$Aix = \frac{PP}{P_1}$$

Weil der Augmentation Index von der Pulsrate beeinflusst wird, wurde der Index auf einen Standardpuls von 75 Schlägen/min adjustiert (Aix@75). Erhöhte Werte für einen Augmentation Index bei einer Pulsrate von 75 Schlägen/min liegen bei verfrühter Reflexion der Pulswelle vor. Dies ist der Fall bei einer erhöhten Steifigkeit der Arterien, bzw. einer verminderten Elastizität.

Abbildung 3. Beispielbild einer Monitordarstellung der Pulswellenanalyse



Um das Verhältnis zwischen subendokardialen Perfusionsbedarf und dem Angebot der koronaren Perfusion zu bestimmen erfolgte die Berechnung der subendokardialen Viability Ratio (SEVR). Dabei handelt es sich um das Verhältnis zwischen dem diastolischen Zeitdruck Index (DPTI) und dem Druckzeit Index (TTI) für die Systole.

$$SEVR = \frac{DPTI}{TTI}$$

Auch die subendokardiale Viability Ratio wurde auf eine Herzfrequenz von 75 Schlägen/min adjustiert (SEVR@75). Bei gesunden Probanden, bzw. Patienten, liegt der Wert bei ca. 100 %. Nimmt das Verhältnis zwischen Bedarf und Angebot der subendokardialen Perfusion ab liegt in erster Linie eine verminderte koronare Perfusion und damit eine myokardiale Ischämie vor.

Die Ejektionsdauer (ED) beschreibt die berechnete Zeit zwischen dem Beginn der Systole und der messbaren Inzisur als Hinweis auf ein Schließen der Herzklappen.

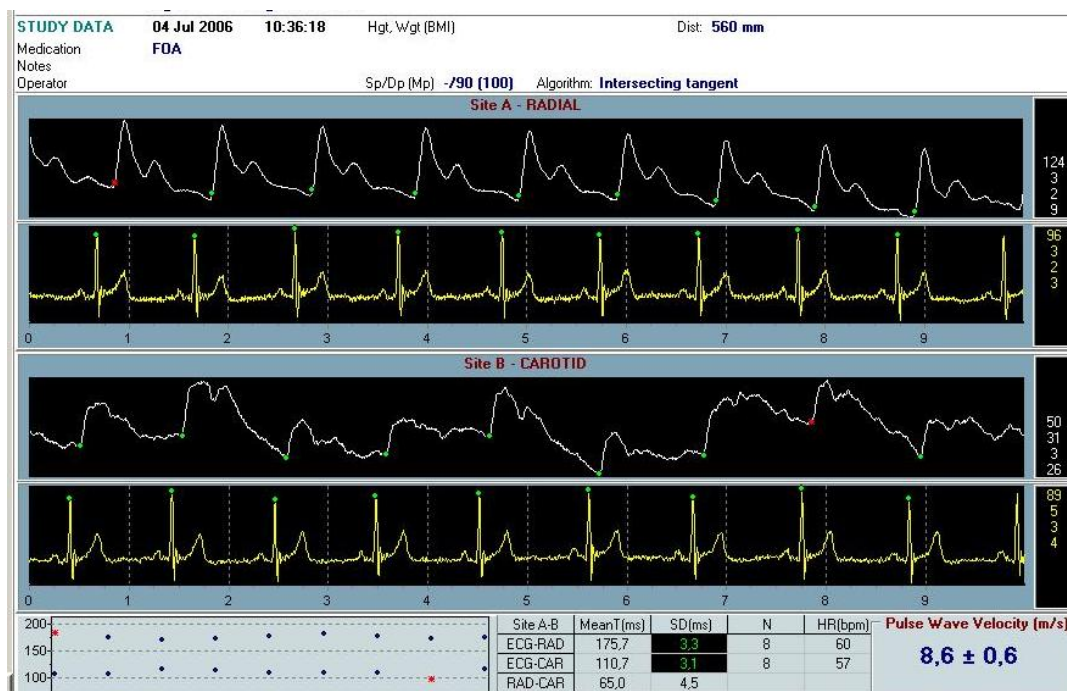
4.3.2.2. Pulswellengeschwindigkeit

Die Pulswellengeschwindigkeit (PWV) ist definiert als die Geschwindigkeit (V), mit der sich die Pulswelle über das Gefäßsystem des Körpers ausbreitet. Sie wird mittels der allgemeinen physikalischen Formel der Geschwindigkeitsberechnung ermittelt:

$$V = \frac{m}{s}$$

Die Messung mit dem SphygmoCor System setzt eine gemessene Distanz zwischen der A. carotis communis und der ipsilateralen A. femoralis voraus. Zusätzlich muss die gemessene Einzeldistanz zwischen A. carotis interna und der Incisura sterni sowie von der Incisura bis zur A. femoralis angegeben werden. Automatisch berechnet die Software die Messposition der Sonde, bzw. den daraus folgenden Gefäßabschnitt zur Pulswellengeschwindigkeitsbestimmung. Die Tonometersonde erfasst dabei in einer sequentiellen Messung die Pulswellen der A. carotis communis und der A. femoralis. Über den zeitlichen Bezug mittels mitlaufendem EKG können die einzelnen Geschwindigkeiten miteinander verrechnet werden. Ein in die Software integrierter Qualitätsindex gibt mittels Farbschema (rot bzw. grün) die Eignung der Messung an.

Abbildung 4. Beispielbild einer Monitordarstellung der Messung der Pulswellengeschwindigkeit



4.3.3. HOMA-IR

Das Homöostase Modell (HOMA-IR) beschreibt hinsichtlich des humanen Kohlenhydratstoffwechsels die rückgekoppelte Interaktion zwischen Insulin und Glukose. Das Modell geht dabei von einer basalen Funktion der pankreatischen β -Zellen aus. Die Bestimmung der Glukose- und Insulinkonzentration im Plasma kann ein Rückschluss auf eine Dysfunktion der β -Zellen und den Status der Insulinresistenz bzw. -sensitivität geben (44).

Die Insulinresistenz (R) wurde mithilfe des Modells anhand der Nüchterninsulinkonzentration und der Plasmaglukose berechnet.

$$R = \frac{\text{Insulin} \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{ml}} \right) * \text{Plasma Glukose} \left(\frac{\text{mmol}}{\text{l}} \right)}{22,5}$$

Die Bestimmung der Insulin- und Glukosekonzentration im Plasma erfolgte am Morgen der Studientage (Zeitpunkt 0), nach drei Stunden (Zeitpunkt 180 min) und im Steady State des hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp (Zeitpunkt Steady State).

4.4. Statistik

Die statistische Analyse der vorliegenden Ergebnisse erfolgte mithilfe von PSPP (Version 1.4.1, Free Software Foundation, Boston, USA). Alle Werte werden mit Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Bei klinischen Daten wurde zusätzlich das Intervall angegeben. Zur Durchführung der Signifikanzanalyse bezüglich der Insulinresistenz und der Parameter der Gefäßregulation wurden gepaarte t-Tests durchgeführt, bzw. erfolgten t-Tests bei abhängigen Messungen. Ein P-Wert von unter 0,05 wird als statistisch signifikant interpretiert.

Mittels Shapiro Wilk Test wurde die Normalverteilung folgender Parameter geprüft:

Insulinresistenz zum Zeitpunkt 0 vor Infusion von Kochsalz oder Fett (HOMA-IR) sowie die gemessene Insulinresistenz im euglykämischen hyperinsulinämischen Clamp unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion (M-Werte) und der vaskulären Parameter PWV, AiX@75 und SEVR@75. Der Test prüft die Annahme, dass Stichproben in ihrer Gesamtheit normalverteilt sind. Die Hypothese gilt als bestätigt, wenn der ermittelte Wert größer als das Signifikanzniveau liegt ($p=0,05$).

Zusätzlich erfolgte die Nutzung der webbasierten Statistiksoftware DATAtab (Datatab e.U., Graz, Österreich) und der webbasierten Software BoxplotR (45) zur Erstellung von Boxplotgrafiken, mit dem Ziel der Visualisierung der Ergebnisse.

Dabei handelt es sich um eine Darstellung, die von erhobenen Datensätzen den Median, den Mittelwert und die Streuung in einer Grafik abbildet. Werden mehrere Boxplots gegenüber gestellt bzw. gruppiert (abzulesen auf der X-Achse) lassen sich die Daten übersichtlich vergleichen. Grundvoraussetzung ist eine einheitliche Intervallskalierung (ablesbar auf der Y-Achse).

4.5. Methodenkritik

Das Studiendesign wurde sorgfältig ausgearbeitet. Eine konkrete Fragestellung bzw. Arbeitshypothese wurde vorab schriftlich fixiert. Trotzdem bestehen hinsichtlich der Durchführung der Studie mögliche Fehlerquellen.

Die Studie wurde ausschließlich an männlichen Probanden durchgeführt. Begründet wurde dies mit möglichen Effekten durch den weiblichen Zyklus. Die Ergebnisse der Studie lassen sich dadurch nicht auf Frauen übertragen. Darüber hinaus war die Anzahl der Studienteilnehmer gering. Daher können starke interindividuelle Variationen das Ergebnis beeinflussen.

Die Studie wurde über die Dauer von 2 Jahren durchgeführt. Einflüsse der Jahreszeiten sollten durch die konstante klimatisierte Raumatmosphäre vermieden werden, saisonale Veränderungen der ernährungsbedingten Insulinresistenz lassen sich insbesondere hinsichtlich kultureller Feierlichkeiten jedoch nicht sicher ausschließen.

Die Messung der Gefäßparameter erfolgte immer durch den gleichen Untersucher. Als zusätzliche Sicherheit gibt die Software einen Qualitätsindex an, dieser durfte 80 nicht unterschreiten (Bestwert 100). Dennoch sind Schwankungen der Untersuchungsqualität nicht auszuschließen. Gründe hierfür können z. B. eine variable Lage der Arteria radialis oder eine suboptimale Positionierung der Ultraschallsonde darstellen.

5. Ergebnisse

5.1. Insulinresistenz

Die Bestimmung der Insulinresistenz erfolgte mittels euglykämischen hyperinsulinämischen Clamp ca. sechs bis sieben Stunden nach Beginn einer intravenösen Infusion von entweder Kochsalzlösung oder Lipidlösung. Unter Kochsalzinfusion war die Glukoseinfusionsrate im Steady State höher ($M = 6,095$ ml/min/kg, $SD = 1,956$) als unter Lipidinfusion ($M = 4,255$ ml/min/kg, $SD = 1,52$). Ein t-Test für gepaarte Stichproben zeigte, dass dieser Unterschied statistisch signifikant war, $t(17) = 3,781$ $p = 0,001$, 95% Konfidenzintervall [0,813, 2,866]. Es ergibt sich ein p-Wert von 0,001, der damit unter dem festgelegten Signifikanzniveau von 0,05 liegt.

Tabelle 2. Datenverteilung Glukoseinfusionsrate im hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp

	Kochsalz	Lipid
Mittelwert	6,1	4,3
Median	5,9	4,5
Standardabweichung	2	1,5
Minimum	3,3	0,3
Maximum	10,8	6,7
Quartil 1	5,2	3,4
Quartil 3	6,5	5,4

Prüfung auf Normalverteilung

Die Glukoseinfusionsrate war entsprechend Shapiro Wilk Test sowohl nach Kochsalz- als auch nach Lipidinfusion normal verteilt ($p=0,91$ unter Kochsalz bzw. $p=0,399$ unter Lipidinfusion).

Abbildung 5. Glukoseinfusionsrate im hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp

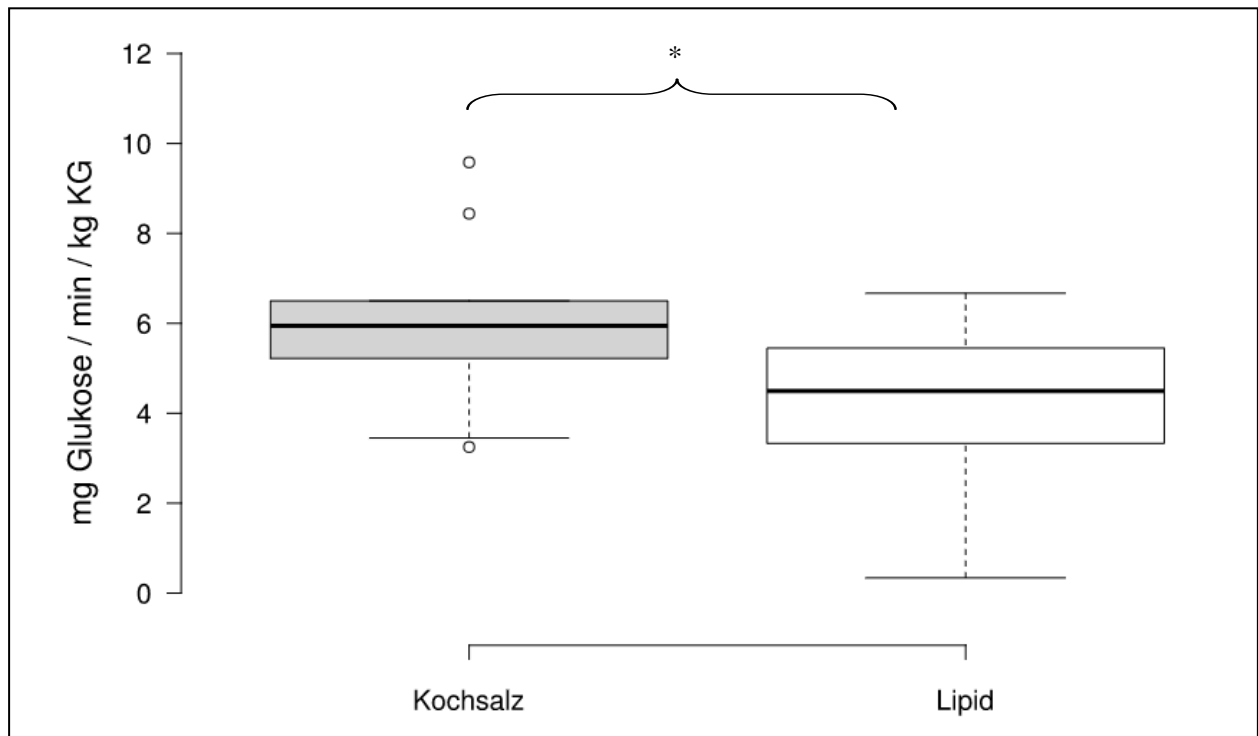


Abb. 5: Glukoseinfusionsrate (in mg Glukose / min / kg Körpergewicht) im Steady State nach Kochsalzinfusion und Lipidinfusion (Skala 0 – 10).

Zusätzlich wurde die Insulinresistenz (R) mit dem Homöostasemodell bzw. dem HOMA-IR-Modell kalkuliert. Vor Start der Infusionen (Kochsalz oder Lipid) war HOMA-IR nicht signifikant unterschiedlich ($M = 1,281$, $SD = 0,678$ vor der Kochsalzinfusion versus $M = 1,243$, $SD = 0,688$ vor Lipidinfusion). Ein t-Test für gepaarte Stichproben zeigte, dass dieser Unterschied statistisch nicht signifikant war, $t(17) = 0,308$ $p = 0,762$, 95% Konfidenzintervall [-0,217, 0,292]. Beide Variablen waren nach Shapiro Wilk Test normalverteilt ($p=0,64$ unter Kochsalz bzw. $p=0,257$ unter Lipidinfusion).

Tabelle 3. Datenverteilung HOMA-IR zum Zeitpunkt 0

	Kochsalz	Lipid
Mittelwert	1,3	1,2
Median	1,2	1,1
Standardabweichung	0,7	0,7
Minimum	0,4	0,3
Maximum	2,6	2,8
Quartil 1	0,7	0,7
Quartil 3	1,7	1,8

Abbildung 6. HOMA-IR zum Zeitpunkt 0

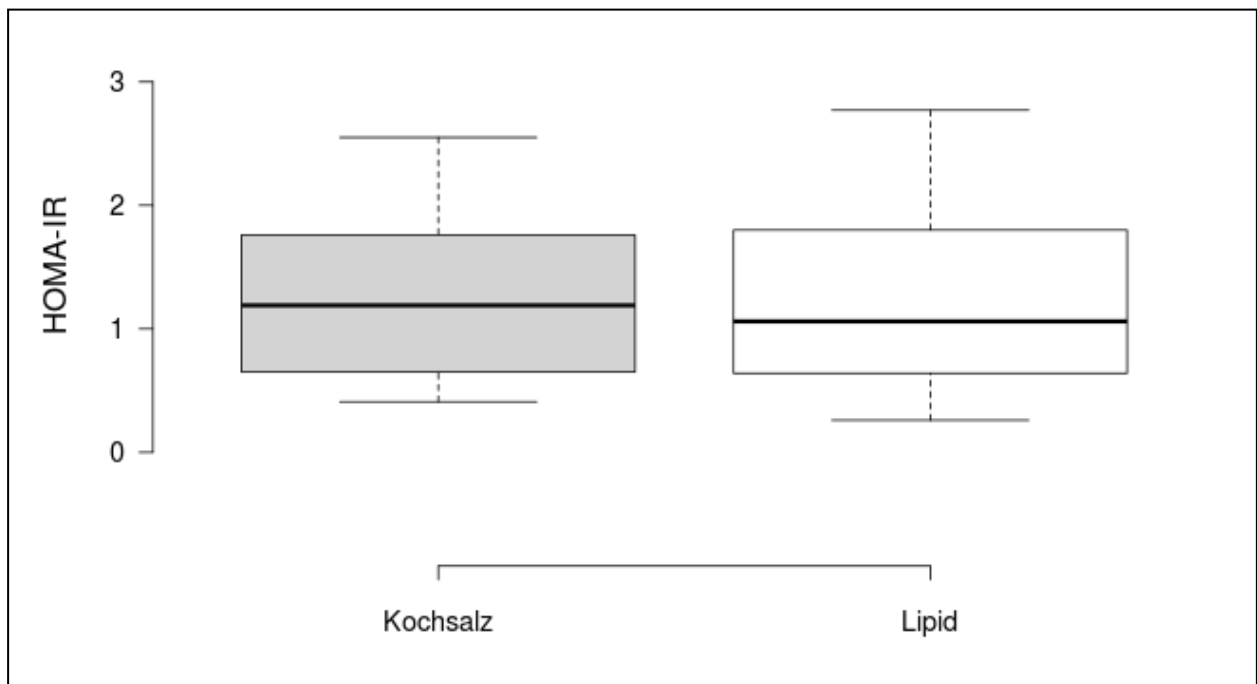


Abb. 6: kalkulierte Insulinresistenz (R) mittels HOMA-IR vor Kochsalzinfusion bzw. Lipidinfusion (Skala 0,5 – 2,5).

5.2. vaskuläre Parameter

Nach der Infusion einer Kochsalz- bzw. Lipidinfusion erfolgte die Messung multipler Gefäßparameter mittels standardisierter Tonometrie mit dem SphygmoCor System. In Tabelle 1 sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen und P-Werten der Signifikanzanalyse abgebildet (gepaarter T-Test).

Tabelle 4. Messwerte der Gefäßregulation nach Kochsalz- bzw. Lipidinfusion

		Kochsalz (\pm SD)	Lipid (\pm SD)	P-Wert
Puls Augmentation (AG)	mmHg	0,98 \pm 0,01	4,76 \pm 3,49	n.s.
Augmentation Index (AiX)	%	1,75 \pm 14,74	-0,69 \pm 13,85	n.s.
Augmentation Index adjustiert (AiX@75)	%	-5,36 \pm 14,45	-8,52 \pm 13,9	n.s.
Subendokardiale Viability Ratio (SEVR)	%	185,76 \pm 36,56	195,48 \pm 34,76	0,01
Subendokardiale Viability Ratio adjustiert (SEVR@75)	%	139,32 \pm 27,42	146,61 \pm 26,07	0,01
Pulswellengeschwindigkeit (PWV)	m/s	7,98 \pm 1,51	7,58 \pm 1,18	n.s.
Ejektionsdauer	ms	327,43 \pm 28,57	327,48 \pm 33,97	n.s.
Ejektionsdauer	%	32,65 \pm 4,44	31,65 \pm 3,83	0,01
Pulsfrequenz	bpm	60,13 \pm 9,73	58,61 \pm 10,85	n.s.
radialer Blutdruck systolisch	mmHg	119,39 \pm 8,54	117,67 \pm 6,61	n.s.
radialer Blutdruck diastolisch	mmHg	76,22 \pm 8,82	76,61 \pm 8,2	n.s.
aortaler Blutdruck systolisch	mmHg	104,07 \pm 8,69	103,19 \pm 7,4	n.s.
aortaler Blutdruck diastolisch	mmHg	76,87 \pm 8,87	77,37 \pm 8,18	n.s.
radialer Pulsdruck	mmHg	42,61 \pm 9,38	41,06 \pm 7,63	n.s.
aortaler Pulsdruck	mmHg	27,2 \pm 7,47	25,81 \pm 4,85	n.s.
Endsystolischer Druck	mmHg	94,26 \pm 10,15	93,57 \pm 8,7	n.s.

5.2.2. Augmentation Index (AiX@75)

Der auf eine Herzrate von 75 Schlägen pro Minute adjustierte Augmentation Index (AiX@75) zeigte unter Kochsalzinfusion höhere Werte ($M = -5,361$, $SD = 14,449$) als unter Lipidinfusion ($M = -8,519$, $SD = 13,897$). Ein t-Test für gepaarte Stichproben zeigte, dass dieser Unterschied statistisch nicht signifikant war, $t(17) = 1,438$ $p = 0,169$, 95% Konfidenzintervall [-1,476, 7,791]. Es ergibt sich ein p-Wert von 0,169, der damit über dem festgelegten Signifikanzniveau von 0,05 liegt. Beide Variablen waren nach Shapiro Wilk Test normalverteilt ($p=0,978$ unter Kochsalz bzw. $p=0,641$ unter Lipidinfusion).

Tabelle 5. Datenverteilung AiX@75 unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion

	Kochsalz	Lipid
Mittelwert	-5,4	-8,5
Median	-6,5	-10,3
Standardabweichung	14,4	13,9
Minimum	-34,5	-29
Maximum	22,7	21,3
Quartil 1	-13,5	-20
Quartil 3	3,5	-0,1

Abbildung 7. Vergleich AiX@75 unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion

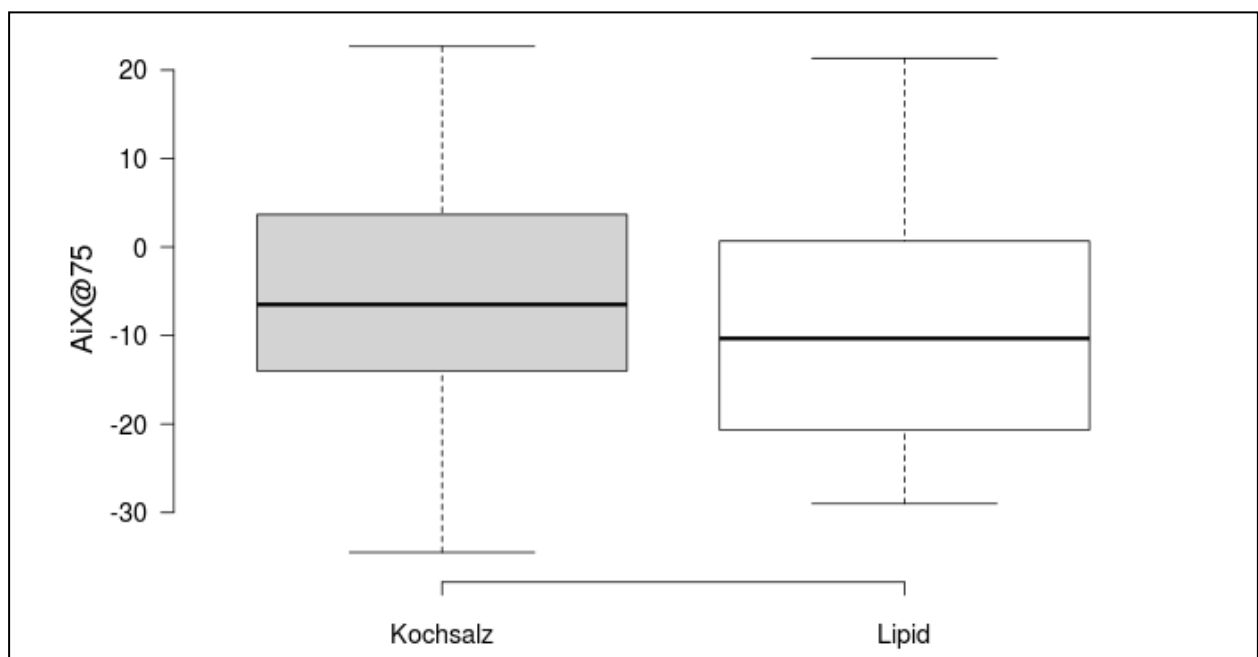


Abb. 7: kalkulierter Augmentation Index bei Pulsrate 75 Schläge / Minute (AiX@75) nach Kochsalz- bzw. Lipidinfusion (Skala -30 – 25).

5.2.3. Subendokardiale Viability Ratio (SEVR)

Die auf eine Herzrate von 75 Schlägen pro Minute adjustierte subendokardiale Viability Ratio (SEVR@75) zeigte unter Kochsalzinfusion niedrigere Werte ($M = 139,319$, $SD = 27,424$) als unter Lipidinfusion ($M = 146,611$, $SD = 26,066$).

Ein t-Test für gepaarte Stichproben zeigte, dass dieser Unterschied statistisch signifikant war, $t(17) = -2,707$ $p = 0,015$, 95% Konfidenzintervall $[-12,975, -1,5608]$.

Es ergibt sich ein p-Wert von 0,015, der damit unter dem festgelegten Signifikanzniveau von 0,05 liegt. Beide Variablen waren nach Shapiro Wilk Test normalverteilt ($p=0,101$ unter Kochsalz bzw. $p=0,553$ unter Lipidinfusion).

Tabelle 6. Datenverteilung SEVR@75 unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion

	Kochsalz	Lipid
Mittelwert	139,3	146,6
Median	144,3	150,5
Standardabweichung	27,4	26,1
Minimum	99	95,3
Maximum	177,8	199,5
Quartil 1	114,6	130,9
Quartil 3	157,4	155,4

Abbildung 8. Pulsfrequenzadjustierte Subendokardiale Viability Ratio (SEVR@75)

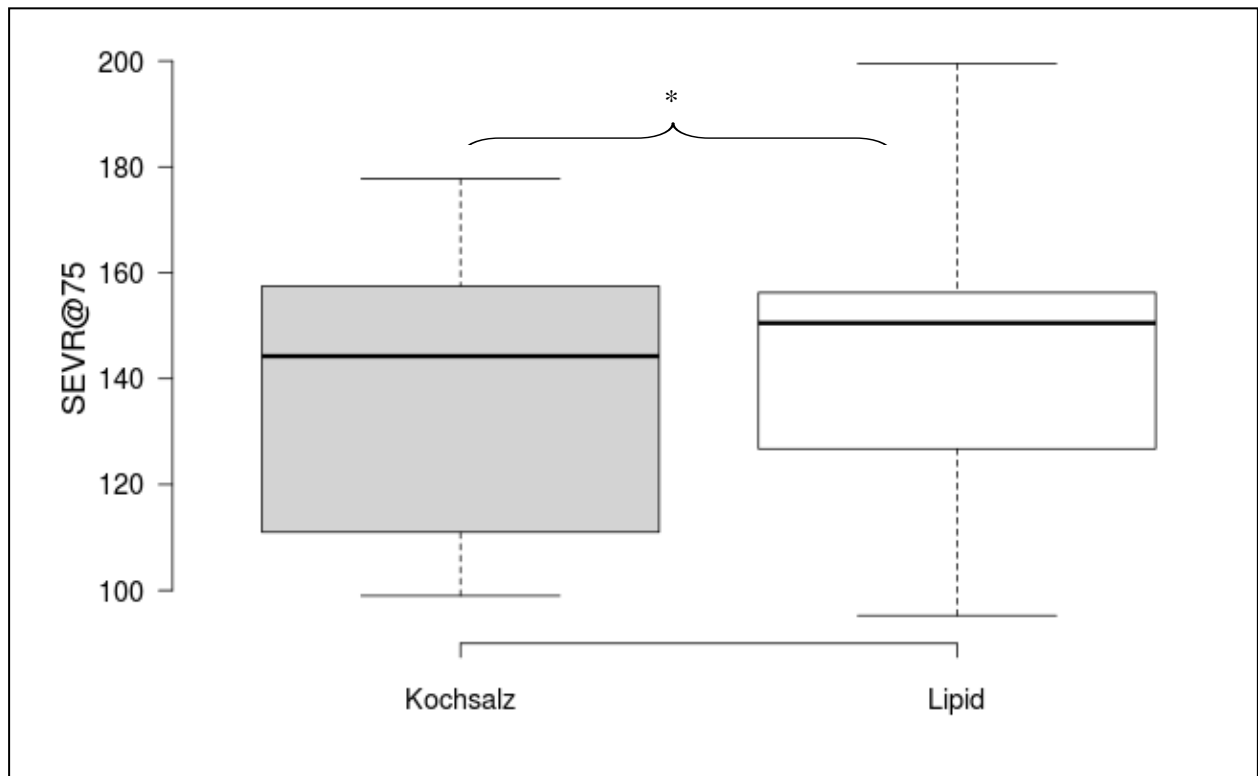


Abb. 8: kalkulierte Subendokardiale Viability Ratio bei Pulsrate 75 Schläge / Minute (SEVR@75) nach Kochsalz- bzw. Lipidinfusion (Skala 100 – 200)

5.2.4. Pulswellengeschwindigkeit (PWV)

Die Pulswellengeschwindigkeit (PWV) ergab nach drei Stunden Kochsalzinfusion höhere Werte ($M = 7,982$, $SD = 1,51$) als nach Lipidinfusion ($M = 7,575$, $SD = 1,184$). Ein t-Test für gepaarte Stichproben zeigte, dass dieser Unterschied statistisch nicht signifikant war, $t(17) = 1,59$ $p = 0,13$, 95% Konfidenzintervall $[-0,133, 0,948]$.

Es ergibt sich ein p-Wert von 0,13 im gepaarten T-Test, der damit über dem festgelegten Signifikanzniveau von 0,05 liegt. Beide Variablen waren nach Shapiro Wilk Test normalverteilt ($p=0,876$ unter Kochsalz bzw. $p=0,881$ unter Lipidinfusion).

Tabelle 7. Datenverteilung PWV unter Kochsalz- bzw. Lipidinfusion (in m/s)

	Kochsalz	Lipid
Mittelwert	8	7,6
Median	7,7	7,4
Standardabweichung	1,5	1,2
Minimum	5,4	5,4
Maximum	11,1	10,1
Quartil 1	7,2	6,9
Quartil 3	9,3	8,2

Abbildung 9. Pulswellengeschwindigkeit (PWV)

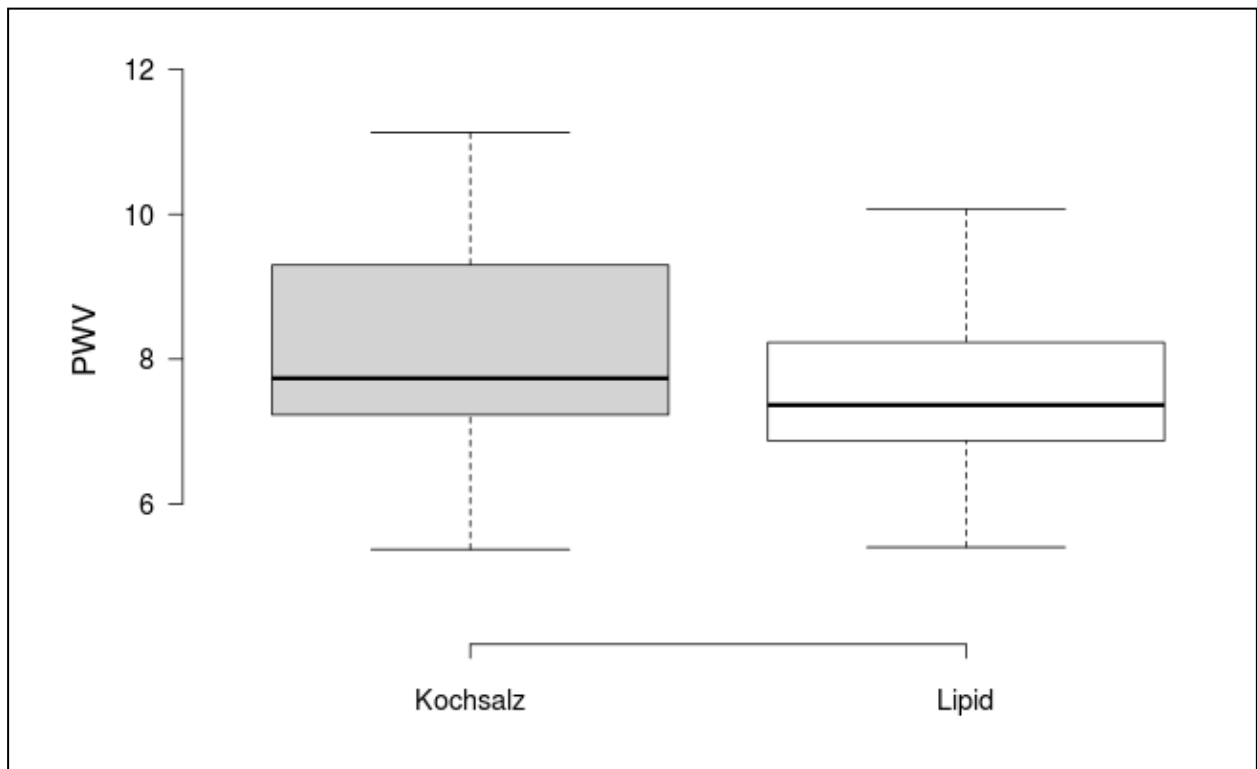


Abb. 9: gemessene Pulswellengeschwindigkeit (PWV) in m/s nach Kochsalz- bzw. Lipidinfusion (Skala 0 – 11).

6. Diskussion

6.1. Insulinresistenz

Das verminderte Ansprechen der Körperzellen auf Insulin charakterisiert die Insulinresistenz und gilt als Vorstufe des Diabetes mellitus Typ 2 (3). Die Insulinresistenz ist ein kardiovaskulärer Risikofaktor (4) und steht im Mittelpunkt des metabolischen Syndroms (46). Eine Verbindung zwischen Übergewicht und Insulinresistenz sind die freien Fettsäuren im Plasma. Freie Fettsäuren entstehen bei der unvollständigen Veresterung von Triglyceriden und zeigen eine freie Bindungsstelle. Diese führt zu einer vermehrten Lipotoxizität. Freie, nicht veresterte Fettsäuren im Plasma inhibieren die insulinvermittelte Glukoseaufnahme in die Muskelzellen (47). Da die Skelettmuskelzellen bis zu 80% der insulinvermittelten Glukoseaufnahme ausmachen führt dies zu Insulinresistenz. Eine erhöhte Konzentration von Triglyceriden im Plasma können daher eine Insulinresistenz auslösen bzw. Ursache einer Insulinresistenz sein (48). Diese lipidinduzierte Insulinresistenz kann durch Vorbehandlung mit Acetylsalicylsäure vermindert werden (49). Zur Quantifizierung des Effekts der Lipidinfusion auf die Insulinresistenz wird als Goldstandard zur Bestimmung der Insulinresistenz R ein hyperinsulinämischer euglykämischer Clamp durchgeführt. Diese Studie bestätigt in diesem Punkt die publizierten Ergebnisse dahingehend, dass eine Lipidinfusion eine Insulinresistenz auslöst (50).

6.2. Endotheliale Gefäßregulation

Bei einer Insulinresistenz steigt nicht nur das Risiko einer Manifestation eines Diabetes mellitus Typ 2, sondern auch das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse (4). Eine Beteiligung der großen und kleinen arteriellen Gefäße des Kreislaufsystems wurde nachgewiesen (7). Eine große Bedeutung kommt dabei dem Endothel zu, einer dünnen Zellschicht, die eine Barrierefunktion zwischen dem Blutplasma und den vaskulären Muskelzellen erfüllt. Über den Insulinrezeptor auf der Endothelzelle induziert Insulin die Synthese von Stickstoffmonoxid, einem starken Vasodilatator (9,51). Im Rahmen einer glukoseinduzierten Insulinausschüttung wird über eine vermehrte Vasodilatation in den Skelettmuskelzellen eine gesteigerte zelluläre Glukoseaufnahme gefördert. Es ist bekannt, dass Insulinresistenz, Übergewicht oder ein manifester Diabetes mellitus Typ 2 die insulinvermittelte endotheliale NO-Synthese im Skelettmuskel reduzieren (52) und eine Hypertonie durch reduzierte Vasodilatation gefördert wird (8).

Neben der Steuerung der NO-Produktion über den Insulinrezeptor der Endothelzellen gibt es eine weitere intrazelluläre Signaltransduktion, bei der vor allem die Produktion des NO-Gegenspielers Endothelin 1 (ET-1) gefördert wird. Endothelin 1 übt über die Bindung an den ET_A-Rezeptor eine vasokonstriktorische Funktion der Gefäßwand aus. Über den weitaus weniger exprimierten ET_B-Rezeptor wird eine vasodilatative Wirkung entfaltet.

Sowohl die Produktion von NO, als auch die Sekretion von Endothelin-1 werden in der Endothelzelle insulinvermittelt aktiviert, bzw. reguliert (53).

Liegt eine Insulinresistenz vor, wird lediglich die insulininduzierte NO-Produktion reduziert, die Sekretion von ET-1 wird nicht vermindert (54). Daraus ergibt sich über die verminderte Bioverfügbarkeit von NO eine verminderte Vasodilatation mit gleichzeitig verstärkter Vasokonstriktion über die ET-1 Sekretion. Die vasoprotektiven Eigenschaften des Insulins werden bei der Insulinresistenz reduziert und die ebenfalls insulininduzierte, jedoch nicht von einer Insulinresistenz verminderte vasokonstriktive Eigenschaft des Insulins bewirkt die endotheliale Dysfunktion (55).

Die Studienlage zeichnet kein einheitliches Bild bezüglich der Korrelation zwischen Insulinresistenz und endothelialer Dysfunktion. Auf der einen Seite konnte gezeigt werden, dass eine chronische Insulinresistenz mit einer endothelialen Dysfunktion korreliert (56,57), andererseits konnte in anderen Studien keine statistisch signifikante Assoziation zwischen der Insulinresistenz und der endothelialen Dysfunktion belegt werden (58,59). Auffällig sind beim Vergleich der Studienlage die unterschiedlichen Methoden zur Bestimmung der endothelialen Dysfunktion. So wurden nichtinvasive Messverfahren, wie die dopplersonographische Bestimmung der Variabilität der A. brachialis (flow mediated dilation = FMD), verwendet (58). Darüber hinaus finden invasive Messverfahren, wie die Messung des arteriellen Blutflusses der unteren Extremität (leg blood flow = LBF) in Abhängigkeit intraarterieller Infusionen NO-stimulierender Medikamente Verwendung (60). In der vorliegenden Arbeit wurde die nicht-invasive Bestimmung der endothelialen Dysfunktion mittels Applanationstonometrie durchgeführt. Dieses relativ neue Testverfahren bestimmt die Steifigkeit der großen arteriellen Gefäße, bzw. der Aorta. Eine statistisch signifikante Assoziation zwischen einer chronischen Insulinresistenz und einer erhöhten endothelialen Dysfunktion war mithilfe dieses Messverfahrens gezeigt worden (61,62).

Der Versuchsaufbau sollte zeigen, dass eine kurzzeitige, durch intravenöse Lipidlösung induzierte Insulinresistenz eine verminderte insulinvermittelte Vasodilatation durch endotheliale Dysregulation auslöst. In einer ähnlichen Probandengruppe konnten nach einer lipidinduzierten Insulinresistenz nach 48 Stunden eine endotheliale Aktivierung mittels Biomarker nachgewiesen

werden (63). In der vorgelegten Arbeit wurden Standardparameter der endothelialen Gefäßregulation wie die Pulswellengeschwindigkeit (PWV), der Augmentationsindex (AiX) und die Subendokardiale Viability Ratio (SEVR) bestimmt.

6.3. Pulswellengeschwindigkeit

Die Messung der Pulswellengeschwindigkeit mittels Applanationstonometrie gilt als Gold-Standard in der Bestimmung der arteriellen Steifigkeit (64). Die hohe Aussagekraft der Technik wurde mehrfach vorbeschrieben (17). Dabei setzt das System den Beginn einer Pulswelle in Relation zu der R-Zacke eines mitlaufenden EKGs. Die Zeit zwischen der mittels EKG erfassten R-Zacke und deren Registrierung an der A. carotis bzw. der A. femoralis dient der Berechnung der Pulswellengeschwindigkeit. Je höher die Pulswellengeschwindigkeit, desto steifer die Gefäßwand.

Die Pulswellengeschwindigkeit gilt als direkter Marker der aortalen Steifigkeit, die ihrerseits als Indikator für ein erhöhtes kardiovaskuläres Morbiditätsrisiko steht (65),(66).

In dem durchgeführten Untersuchungsaufbau konnte keine Erhöhung der Pulswellengeschwindigkeit im Rahmen einer lipidinduzierten Insulinresistenz nachgewiesen werden. Dabei wird vermutet, dass die Dauer der Insulinresistenz eine Rolle spielt. Der vorliegende Versuchsaufbau spiegelt in erster Linie eine postprandiale Stoffwechsellage nach fettreicher Mahlzeit wieder. Demgegenüber beziehen sich vorbeschriebene Veränderungen der Pulswellengeschwindigkeit auf eine mittels HOMA-IR erfasste chronisch bestehende Insulinresistenz (22,23). Bei einer Studie mit ähnlichem Versuchsaufbau zeigte sich nach einer lipidinduzierten Insulinresistenz von 48h eine Erhöhung der Biomarker der endothelialen Dysfunktion, hämodynamische Parameter wurden jedoch nicht bestimmt (63).

Es liegt daher nahe, dass sich insulininduzierte Veränderungen der arteriellen Steifigkeit im chronischen Verlauf stärker bemerkbar machen werden. Möglicherweise waren diese daher im Rahmen der akuten lipidinduzierten Insulinresistenz dieser Arbeit nicht zu sehen. Denkbar wäre aber auch, dass Veränderungen der Gefäßregulation bedingt durch den Versuchsaufbau nicht zu sehen waren. Die mittels Applanationstonometrie gemessene Pulswellengeschwindigkeit wird in der Peripherie gemessen und mittels Transferfunktion auf die aortale PWV adjustiert: Sie gibt also eine Summe der Einzelgeschwindigkeiten der peripheren Messpunkte an. In den publizierten Studien wurde als Messverfahren zur Bestimmung der endothelialen Dysfunktion die FMD verwendet, ein ultraschallbasiertes Verfahren, welches lokal die Veränderungen der Variabilität der Gefäßwand der A. brachialis bestimmt. Eine Studie konnte z.B. nach fettreicher Mahlzeit eine verminderte FMD als Hinweis auf eine postprandiale endotheliale Dysfunktion

nachweisen (67). Kleine Veränderungen des Gefäßdurchmessers lassen sich daher möglicherweise eher lokal bzw. regional bestimmen. Außerdem wäre denkbar, dass überregionale Einflüsse wie z.B. sympathische bzw. parasympathische Aktivierung im Rahmen der Transferfunktion der Applanationstonometrie die Effekte, hier der Lipidinfusion, maskieren. Interessanterweise zeigten die Ergebnisse unserer Studie in der Tendenz eine verminderte Pulswellengeschwindigkeit unter lipidinduzierter Insulinresistenz. Wenn auch statistisch nicht signifikant, deutet dies doch eher auf eine verbesserte Elastizität der Gefäßwand nach Lipidinfusion hin. Während bekannt ist, dass gesättigte Fettsäuren eine endotheliale Insulinresistenz induzieren und somit die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2, einer Hypertonie oder einer Leberverfettung begünstigen können (68), wird für einfach und insbesondere mehrfach ungesättigte Fettsäuren ein protektiver Effekt und eine verbesserte postprandiale FMD beschrieben (69,70). Als mögliche Ursachen dieser Beobachtung werden in erster Linie antiinflammatorische Eigenschaften der Fettsäuren diskutiert (71). Die im Versuchsaufbau verwendete Lipidlösung zur intravenösen Infusion enthielt neben Glycerol auch einfach und mehrfach ungesättigte Fettsäuren. Möglicherweise liegt neben der beschriebenen durch antiinflammatorische Eigenschaften vermittelte, langfristig verminderten Arteriosklerose auch eine protektive Wirkung bei der akuten fettinduzierten Insulinresistenz vor. Chong und Kollegen konnten eine postprandiale Verbesserung der arteriellen Steifheit nach fettreicher Mahlzeit mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Vergleich zur Standardmahlzeit nachweisen (72). Infusionslösungen mit mehrfach gesättigten Fettsäuren waren zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Studie nicht mehr verfügbar.

6.4. Augmentationsindex (AiX)

Die Druckdifferenz zwischen dem maximalen Druck der Pulswelle und dem maximalen Druck der gesamten Druckwelle definiert den Augmentationsindex (AiX). Dieser wird maßgeblich durch die Steifigkeit des arteriellen Systems beeinflusst und gilt als prognostischer Marker eines erhöhten kardiovaskulären Risikos (31). Lässt sich bei einem elastischen arteriellen Gefäßsystem die reflektierte Pulswelle zeitlich nach der initialen Pulswelle erfassen, gibt der AiX negative Werte aus. Trifft bei einer erhöhten Steifigkeit der Gefäßwand die reflektierte Pulswelle auf die initiale Pulswelle, wird diese augmentiert und der Index wird positiv (30). Insbesondere bei Patienten unter 60 Jahren ergibt sich bei positiven Werten ein erhöhtes kardiovaskuläres Risikoprofil (31). Es wurde beobachtet, dass Insulin zu einer Abnahme des Augmentation Index führt, er also negativere Werte annimmt. Dies erfolgt im gesunden Probanden

physiologischerweise postprandial, um durch eine vermehrte Vasodilatation mit einhergehend gesteigerter Elastizität der Gefäßwand eine vermehrte Perfusion der Zielorgane, vor allem Skelettmuskel und Leber, zu gewährleisten. Weiterhin wurde beobachtet, dass sich dieser Effekt im Stadium der Insulinresistenz abschwächt (73). In der durchgeführten Arbeit konnte keine statistisch signifikante Erhöhung des Augmentation Index beobachtet werden. Im Gegenteil, es lassen sich während der lipidinduzierten Insulinresistenz im Trend niedrigere Werte des AiX im Vergleich zur Kochsalzgruppe beobachten. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass sich die Elastizität der großen Arterien erhöht und der periphere Widerstand sinkt, was einer physiologischen postprandialen Reaktion entspräche. Mehrere Studien konnten zeigen, dass sich nach einer fettreichen Mahlzeit eine Verschlechterung der endothelialen Gefäßfunktion nachweisen lässt (74,75). Hier wurde die Gefäßregulation jedoch mittels FMD bestimmt. Eine weitere Studie, die sich ebenfalls der Applanationstonometrie bediente, konnte einen kurzfristigen Abfall des AiX nach fettreicher Mahlzeit nachweisen (76), was eine vermehrte Dilatation der Arterien anzeigt, passend zu unseren Beobachtungen. Auch wenn der Versuchsaufbau der hier vorgelegten Arbeit keine Nahrungsaufnahme vorsah, entsprach die intravenöse Lipidinfusion dennoch einer resorbierten fettreichen Mahlzeit. Nahrungsaufnahme generell, unabhängig von der Zusammensetzung, bewirkt eine verspätete Reflektion der Pulswelle im Innervationsgebiet des Nervus splanchnicus (14). Dieser Effekt wird auf die nahrungsabhängige Ausschüttung von Insulin zurückgeführt (77). Bei Patienten mit Insulinresistenz, bzw. Diabetes mellitus Typ 2, lässt sich eine verminderte, bzw. verzögerte insulininduzierte Senkung der Pulswellenreflektion und somit des Augmentationsindex (AiX) beobachten (78).

Die Effekte der kurzfristigen, lipidinduzierten Insulinresistenz auf die Steifigkeit der großen Arterien sind im Vergleich zu den genannten insulinvermittelten Effekten auf das vegetative Nervensystem wahrscheinlich so gering, dass sie mittels Applanationstonometrie nicht nachweisbar sind, bzw. überlagert werden, siehe auch die oben beschriebenen Überlegungen. Im Tierversuch konnte nach Lipidinfusion eine anhaltend erhöhte Konzentration der Ketonkörper im Blut gezeigt werden (79). Interessanterweise zeigen aktuelle Studien eine Verbesserung der endothelialen Gefäßregulation insulinresistenter Patienten unter Therapie mit SGLT-2 Inhibitoren (80,81). Dabei handelt es sich um Inhibitoren des renalen natriumabhängigen Glukosetransporter 2 (SGLT 2), die für die Glukoserückresorption nach renaler Filtration verantwortlich sind. Eine Inhibition bewirkt einen vermehrten renalen Glukoseverlust mit konsekutiv sinkender Glukosekonzentration im Plasma (82). Daneben wird auch eine kardiovaskuläre Protektion beobachtet (83), die durch eine erhöhte Konzentration von

Ketonkörpern im Blut bedingt sein kann (84). Die zugrundeliegenden Prozesse sind noch nicht vollständig untersucht, es wird neben einer antiinflammatorischen Wirkungsweise (85) eine Protektion gegen oxidativen Stress (86) vermutet.

Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Verbesserung der endothelialen Gefäßregulation könnte so möglicherweise über die kardioprotektive Wirkung der durch Lipidinfusion erhöhten Konzentration an Ketonkörpern bedingt gewesen sein. Die Ketonkörper waren jedoch nicht gemessen worden.

6.5. Subendokardiale Viability Ratio (SEVR)

Im Rahmen einer erhöhten arteriellen Steifigkeit lässt sich durch frühzeitige Reflektion der Pulswelle eine erhöhte Nachlast des linken Ventrikels beobachten (27,28). Dem steigenden Sauerstoffbedarf des Myokards steht eine verminderte diastolische Perfusion der Koronararterien gegenüber. Es entsteht eine Diskrepanz zwischen myokardialem Sauerstoffbedarf und dessen Verfügbarkeit, es liegt eine subendokardiale Ischämie vor. Der Buckberg-Index (SEVR) kann diese Ischämie darstellen und quantifizieren. Niedrige Messwerte entsprechen einer Erhöhung der subendokardialen Ischämie und lassen sich bei Patienten mit Insulinresistenz und Diabetes mellitus Typ 2 nachweisen (37). In der durchgeführten Arbeit konnte eine statistisch signifikante Verbesserung der SEVR gezeigt werden. So zeigten die Probanden nach einer lipidhaltigen Infusion höhere Werte als nach Kochsalzinfusion. Daraus ergibt sich eine verbesserte Perfusion des Endokards in der Diastole. In Zusammenschau mit den Ergebnissen bezüglich der arteriellen Steifigkeit lässt sich auch hier keine Verschlechterung nach kurzfristiger Lipidinfusion und damit einhergehender kurzfristiger lipid-induzierter Insulinresistenz nachweisen.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Der Diabetes mellitus Typ 2 ist mit einem erhöhten kardiovaskulären Risikoprofil assoziiert (5). Dabei wird der unter Insulinresistenz gestörten regulatorischen Funktion des Endothels eine entscheidende Rolle zugeschrieben. Die für die chronische Insulinresistenz bekannten Verschlechterungen der endothelialen Gefäßregulation war nach kurzfristiger lipidinduzierter Insulinresistenz nicht zu sehen. Die vorliegende Arbeit konnte keine akute Verschlechterung der Gefäßfunktion durch lipidinduzierte Insulinresistenz zeigen. Im Gegenteil, es ergab sich eine tendenzielle Verbesserung, vereinbar mit einer publizierten Arbeit (76). Der Trend zu einer Verbesserung kann methodisch bedingt sein (s. Diskussion). Er könnte jedoch auch Folge der Zusammensetzung der Lipide oder erhöhter Ketonkörper sein und wäre dann gut vereinbar mit den beobachteten günstigen Effekten auf das kardiovaskuläre Risiko bei Ernährung mit ungesättigten Fettsäuren oder im Rahmen der Therapie mit SGLT-2 Inhibitoren. Diese Arbeit kann jedoch unspezifische weitere Effekte, z.B. die Regulation des vegetativen Nervensystems vor allem bei den hier untersuchten gesunden Probanden nicht ausschließen. Die angewandten Messverfahren werden aktuell eher im Rahmen der Verlaufskontrolle beschrieben (87), z.B. bei chronischer Niereninsuffizienz (88), chronischen Entzündungen (89) oder in der Krebstherapie (90).

8. Literaturverzeichnis

1. RKI. Prävalenz, Inzidenz und Mortalität von Diabetes mellitus bei Erwachsenen in Deutschland. 2017 [zitiert 9. März 2021]; Verfügbar unter: <http://edoc.rki.de/docviews/abstract.php?lang=ger&id=5302>
2. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet Lond Engl.* 9. April 2016;387(10027):1513–30.
3. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin North Am.* Juli 2004;88(4):787–835, ix.
4. Ormazabal V, Nair S, Elfeky O, Aguayo C, Salomon C, Zuñiga FA. Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol.* 31. August 2018;17(1):122.
5. Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:476279.
6. Shah AD, Langenberg C, Rapsomaniki E, Denaxas S, Pujades-Rodriguez M, Gale CP, u. a. Type 2 diabetes and incidence of cardiovascular diseases: a cohort study in 1.9 million people. *Lancet Diabetes Endocrinol.* Februar 2015;3(2):105–13.
7. Petrie JR, Guzik TJ, Touyz RM. Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms. *Can J Cardiol.* Mai 2018;34(5):575–84.
8. Knapp M, Tu X, Wu R. Vascular endothelial dysfunction, a major mediator in diabetic cardiomyopathy. *Acta Pharmacol Sin.* Januar 2019;40(1):1–8.
9. Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: insights from therapeutic interventions. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* Juni 2006;31(3):305–12.
10. Du XL, Edelstein D, Dimmeler S, Ju Q, Sui C, Brownlee M. Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. *J Clin Invest.* 1. November 2001;108(9):1341–8.
11. Meza CA, La Favor JD, Kim D-H, Hickner RC. Endothelial Dysfunction: Is There a Hyperglycemia-Induced Imbalance of NOX and NOS? *Int J Mol Sci.* 2. August 2019;20(15).
12. King GL, Park K, Li Q. Selective Insulin Resistance and the Development of Cardiovascular Diseases in Diabetes: The 2015 Edwin Bierman Award Lecture. *Diabetes.* Juni 2016;65(6):1462–71.
13. Daiber A, Steven S, Weber A, Shuvaev VV, Muzykantov VR, Laher I, u. a. Targeting vascular (endothelial) dysfunction. *Br J Pharmacol.* Juni 2017;174(12):1591–619.
14. O'Rourke MF, Pauca A, Jiang XJ. Pulse wave analysis. *Br J Clin Pharmacol.* Juni 2001;51(6):507–22.
15. Lemogoum D, Flores G, Van den Abeele W, Ciarka A, Leeman M, Degaute JP, u. a. Validity of pulse pressure and augmentation index as surrogate measures of arterial stiffness during beta-adrenergic stimulation. *J Hypertens.* März 2004;22(3):511–7.

16. Meaume S, Benetos A, Henry OF, Rudnichi A, Safar ME. Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in subjects >70 years of age. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* Dezember 2001;21(12):2046–50.
17. Blacher J, Asmar R, Djane S, London GM, Safar ME. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertens Dallas Tex 1979.* Mai 1999;33(5):1111–7.
18. Meaume S, Benetos A, Henry OF, Rudnichi A, Safar ME. Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in subjects >70 years of age. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* Dezember 2001;21(12):2046–50.
19. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation.* 11. Mai 1999;99(18):2434–9.
20. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, u. a. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertens Dallas Tex 1979.* Mai 2001;37(5):1236–41.
21. Cruickshank K, Riste L, Anderson SG, Wright JS, Dunn G, Gosling RG. Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function? *Circulation.* 15. Oktober 2002;106(16):2085–90.
22. Park JS, Nam JS, Cho MH, Yoo JS, Ahn CW, Jee SH, u. a. Insulin resistance independently influences arterial stiffness in normoglycemic normotensive postmenopausal women. *Menopause N Y N.* Juli 2010;17(4):779–84.
23. Urbina EM, Gao Z, Khoury PR, Martin LJ, Dolan LM. Insulin resistance and arterial stiffness in healthy adolescents and young adults. *Diabetologia.* März 2012;55(3):625–31.
24. Wilkinson IB, Hall IR, MacCallum H, Mackenzie IS, McEniery CM, van der Arend BJ, u. a. Pulse-wave analysis: clinical evaluation of a noninvasive, widely applicable method for assessing endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* Januar 2002;22(1):147–52.
25. O'Rourke MF, Pauca AL. Augmentation of the aortic and central arterial pressure waveform. *Blood Press Monit.* August 2004;9(4):179–85.
26. O'Rourke MF, Nichols WW. Aortic diameter, aortic stiffness, and wave reflection increase with age and isolated systolic hypertension. *Hypertens Dallas Tex 1979.* April 2005;45(4):652–8.
27. Baulmann J, Homsy R, Un S, Vetter H, Düsing R, Mengden T. [Arterial stiffness in arterial hypertension. A new risk factor for left ventricular hypertrophy and cardiac insufficiency?]. *Dtsch Med Wochenschr 1946.* 27. Februar 2004;129(9):447–52.
28. O'Rourke MF. Wave travel and reflection in the arterial system. *J Hypertens Suppl Off J Int Soc Hypertens.* Dezember 1999;17(5):S45-47.
29. Baulmann J, Homsy R, Uen S, Düsing R, Fimmers R, Vetter H, u. a. Pulse wave velocity is increased in patients with transient myocardial ischemia. *J Hypertens.* Oktober 2006;24(10):2085–90.
30. Vlachopoulos C, O'rourke M. Genesis of the normal and abnormal arterial pulse. *Curr Probl Cardiol.* Mai 2000;25(5):303–67.
31. McEniery CM, Yasmin null, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB, Cockcroft JR, u. a. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *J Am Coll Cardiol.* 1. November 2005;46(9):1753–60.

32. Benetos A, Laurent S, Asmar RG, Lacolley P. Large artery stiffness in hypertension. *J Hypertens Suppl Off J Int Soc Hypertens*. März 1997;15(2):S89-97.
33. Darne B, Girerd X, Safar M, Cambien F, Guize L. Pulsatile versus steady component of blood pressure: a cross-sectional analysis and a prospective analysis on cardiovascular mortality. *Hypertens Dallas Tex* 1979. April 1989;13(4):392-400.
34. Kingwell BA, Waddell TK, Medley TL, Cameron JD, Dart AM. Large artery stiffness predicts ischemic threshold in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 21. August 2002;40(4):773-9.
35. Buckberg GD, Fixler DE, Archie JP, Hoffman JI. Experimental subendocardial ischemia in dogs with normal coronary arteries. *Circ Res*. Januar 1972;30(1):67-81.
36. Tsiachris D, Tsioufis C, Syrseloudis D, Roussos D, Tatsis I, Dimitriadis K, u. a. Subendocardial viability ratio as an index of impaired coronary flow reserve in hypertensives without significant coronary artery stenoses. *J Hum Hypertens*. Januar 2012;26(1):64-70.
37. Laugesen E, Høyem P, Fleischer J, Kumarathas I, Knudsen ST, Hansen KW, u. a. Reduced Subendocardial Viability Ratio Is Associated With Unfavorable Cardiovascular Risk Profile in Women With Short Duration of Type 2 Diabetes. *Am J Hypertens*. Oktober 2016;29(10):1165-72.
38. Hoffman RP, Copenhaver MM, Zhou D, Yu C-Y. Increased body fat and reduced insulin sensitivity are associated with impaired endothelial function and subendocardial viability in healthy, non-Hispanic white adolescents. *Pediatr Diabetes*. November 2019;20(7):842-8.
39. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. September 1979;237(3):E214-223.
40. Pauca AL, O'Rourke MF, Kon ND. Prospective evaluation of a method for estimating ascending aortic pressure from the radial artery pressure waveform. *Hypertens Dallas Tex* 1979. Oktober 2001;38(4):932-7.
41. Chen Chen-Huan, Nevo Erez, Fetics Barry, Pak Peter H., Yin Frank C.P., Maughan W. Lowell, u. a. Estimation of Central Aortic Pressure Waveform by Mathematical Transformation of Radial Tonometry Pressure. *Circulation*. 1. April 1997;95(7):1827-36.
42. Schillings UBJ. Vergleich einer neuen oszillometrischen mit zwei etablierten tonometrischen und piezoelektronischen Methoden zur Erfassung der arteriellen Gefäßsteifigkeit. :66.
43. SphygmoCor Operators Manual.pdf.
44. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1. Juli 1985;28(7):412-9.
45. Spitzer M, Wildenhain J, Rappsilber J, Tyers M. BoxPlotR: a web tool for generation of box plots. *Nat Methods*. Februar 2014;11(2):121-2.
46. Lam DW, LeRoith D. Metabolic Syndrome. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, u. a., Herausgeber. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [zitiert 17. April 2021]. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278936/>
47. Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, Rossetti L. Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest*. Juni 1994;93(6):2438-46.

48. Bruce R, Godsland I, Walton C, Crook D, Wynn V. Associations between insulin sensitivity, and free fatty acid and triglyceride metabolism independent of uncomplicated obesity. *Metabolism*. Oktober 1994;43(10):1275–81.
49. Möhlig M, Freudenberg M, Bobbert T, Ristow M, Rochlitz H, Weickert MO, u. a. Acetylsalicylic acid improves lipid-induced insulin resistance in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. März 2006;91(3):964–7.
50. Boden G, Lebed B, Schatz M, Homko C, Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes*. Juli 2001;50(7):1612–7.
51. Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest*. September 1994;94(3):1172–9.
52. Laakso M, Edelman SV, Brechtel G, Baron AD. Decreased effect of insulin to stimulate skeletal muscle blood flow in obese man. A novel mechanism for insulin resistance. *J Clin Invest*. Juni 1990;85(6):1844–52.
53. Zeng G, Quon MJ. Insulin-stimulated production of nitric oxide is inhibited by wortmannin. Direct measurement in vascular endothelial cells. *J Clin Invest*. 15. August 1996;98(4):894–8.
54. Lteif A, Vaishnava P, Baron AD, Mather KJ. Endothelin limits insulin action in obese/insulin-resistant humans. *Diabetes*. März 2007;56(3):728–34.
55. Muniyappa R, Sowers JR. Role of Insulin Resistance in Endothelial Dysfunction. *Rev Endocr Metab Disord*. März 2013;14(1):5–12.
56. Balletshofer BM, Rittig K, Enderle MD, Volk A, Maerker E, Jacob S, u. a. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation*. 18. April 2000;101(15):1780–4.
57. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest*. 1. Juni 1996;97(11):2601–10.
58. Wendelhag I, Fagerberg B, Hulthe J, Bokemark L, Wikstrand J. Endothelium-dependent flow-mediated vasodilatation, insulin resistance and the metabolic syndrome in 60-year-old men. *J Intern Med*. Oktober 2002;252(4):305–13.
59. Title LM, Lonn E, Charbonneau F, Fung M, Mather KJ, Verma S, u. a. Relationship between brachial artery flow-mediated dilatation, hyperemic shear stress, and the metabolic syndrome. *Vasc Med Lond Engl*. November 2008;13(4):263–70.
60. Barac A, Campia U, Panza JA. Methods for evaluating endothelial function in humans. *Hypertens Dallas Tex* 1979. April 2007;49(4):748–60.
61. Shen J, Poole JC, Topel ML, Bidulescu A, Morris AA, Patel RS, u. a. Subclinical Vascular Dysfunction Associated with Metabolic Syndrome in African Americans and Whites. *J Clin Endocrinol Metab*. November 2015;100(11):4231–9.
62. Tuttolomondo A, Casuccio A, Guercio G, Maida C, Del Cuore A, Di Raimondo D, u. a. Arterial stiffness, endothelial and cognitive function in subjects with type 2 diabetes in accordance with absence or presence of diabetic foot syndrome. *Cardiovasc Diabetol*. 6. Januar 2017;16(1):2.

63. Mathew M, Tay E, Cusi K. Elevated plasma free fatty acids increase cardiovascular risk by inducing plasma biomarkers of endothelial activation, myeloperoxidase and PAI-1 in healthy subjects. *Cardiovasc Diabetol*. 16. Februar 2010;9:9.
64. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, u. a. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. November 2006;27(21):2588–605.
65. Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano A-I, Gautier I, Laloux B, u. a. Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke*. Mai 2003;34(5):1203–6.
66. Mattace-Raso FUS, van der Cammen TJM, Hofman A, van Popele NM, Bos ML, Schalekamp MADH, u. a. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*. 7. Februar 2006;113(5):657–63.
67. Tushuizen ME, Nieuwland R, Scheffer PG, Sturk A, Heine RJ, Diamant M. Two consecutive high-fat meals affect endothelial-dependent vasodilation, oxidative stress and cellular microparticles in healthy men. *J Thromb Haemost JTH*. Mai 2006;4(5):1003–10.
68. Boden G. Obesity and free fatty acids. *Endocrinol Metab Clin North Am*. September 2008;37(3):635–46, viii–ix.
69. Stirban A, Nandreaan S, Götting C, Tamler R, Pop A, Negrean M, u. a. Effects of n-3 fatty acids on macro- and microvascular function in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*. März 2010;91(3):808–13.
70. Schwingshackl L, Christoph M, Hoffmann G. Effects of Olive Oil on Markers of Inflammation and Endothelial Function-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 11. September 2015;7(9):7651–75.
71. Davda RK, Stepniakowski KT, Lu G, Ullian ME, Goodfriend TL, Egan BM. Oleic acid inhibits endothelial nitric oxide synthase by a protein kinase C-independent mechanism. *Hypertens Dallas Tex* 1979. November 1995;26(5):764–70.
72. Chong MF-F, Lockyer S, Saunders CJ, Lovegrove JA. Long chain n-3 PUFA-rich meal reduced postprandial measures of arterial stiffness. *Clin Nutr Edinb Scotl*. Oktober 2010;29(5):678–81.
73. Greenfield JR, Samaras K, Chisholm DJ, Campbell LV. Effect of postprandial insulinemia and insulin resistance on measurement of arterial stiffness (augmentation index). *Int J Cardiol*. 2. Januar 2007;114(1):50–6.
74. Ayer JG, Harmer JA, Steinbeck K, Celermajer DS. Postprandial vascular reactivity in obese and normal weight young adults. *Obes Silver Spring Md*. Mai 2010;18(5):945–51.
75. Nestel PJ, Shige H, Pomeroy S, Cehun M, Chin-Dusting J. Post-prandial remnant lipids impair arterial compliance. *J Am Coll Cardiol*. 1. Juni 2001;37(7):1929–35.
76. Lithander FE, Herlihy LK, Walsh DM, Burke E, Crowley V, Mahmud A. Postprandial effect of dietary fat quantity and quality on arterial stiffness and wave reflection: a randomised controlled trial. *Nutr J*. 10. Juli 2013;12:93.
77. Westerbacka J, Wilkinson I, Cockcroft J, Utriainen T, Vehkavaara S, Yki-Järvinen H. Diminished wave reflection in the aorta. A novel physiological action of insulin on large blood vessels. *Hypertens Dallas Tex* 1979. Mai 1999;33(5):1118–22.

78. Tamminen M, Westerbacka J, Vehkavaara S, Yki-Järvinen H. Insulin-induced decreases in aortic wave reflection and central systolic pressure are impaired in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. Dezember 2002;25(12):2314–9.
79. Bates MW, Linn LC, Huen AH. Effects of oleic acid infusion on plasma free fatty acids and blood ketone bodies in the fasting rat. *Metabolism*. April 1976;25(4):361–73.
80. Chilton R, Tikkanen I, Cannon CP, Crowe S, Woerle HJ, Broedl UC, u. a. Effects of empagliflozin on blood pressure and markers of arterial stiffness and vascular resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. Dezember 2015;17(12):1180–93.
81. Striepe K, Jumar A, Ott C, Karg MV, Schneider MP, Kannenkeril D, u. a. Effects of the Selective Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitor Empagliflozin on Vascular Function and Central Hemodynamics in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation*. 19. September 2017;136(12):1167–9.
82. Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. Lowering Plasma Glucose Concentration by Inhibiting Renal Sodium-Glucose Co-Transport. *J Intern Med*. Oktober 2014;276(4):352–63.
83. Wanner C, Lachin JM, Inzucchi SE, Fitchett D, Mattheus M, George J, u. a. Empagliflozin and Clinical Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus, Established Cardiovascular Disease, and Chronic Kidney Disease. *Circulation*. 9. Januar 2018;137(2):119–29.
84. Prattichizzo F, De Nigris V, Micheloni S, La Sala L, Ceriello A. Increases in circulating levels of ketone bodies and cardiovascular protection with SGLT2 inhibitors: Is low-grade inflammation the neglected component? *Diabetes Obes Metab*. November 2018;20(11):2515–22.
85. Kim SR, Lee S-G, Kim SH, Kim JH, Choi E, Cho W, u. a. SGLT2 inhibition modulates NLRP3 inflammasome activity via ketones and insulin in diabetes with cardiovascular disease. *Nat Commun*. 1. Mai 2020;11(1):2127.
86. Shimazu T, Hirschey MD, Newman J, He W, Shirakawa K, Le Moan N, u. a. Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. *Science*. 11. Januar 2013;339(6116):211–4.
87. Giraldo-Gruoso M, Echeverri D. From Endothelial Dysfunction to Arterial Stiffness in Diabetes Mellitus. *Curr Diabetes Rev*. 2020;16(3):230–7.
88. Pickup L, Radhakrishnan A, Townend JN, Ferro CJ. Arterial stiffness in chronic kidney disease: a modifiable cardiovascular risk factor? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. November 2019;28(6):527–36.
89. Zanolli L. Arterial stiffness is a vascular biomarker of chronic inflammation. *Biomark Med*. November 2019;13(16):1335–7.
90. Fredslund SO, Buus NH, Skjold C, Laugesen E, Jensen AB, Laursen BE. Changes in vascular function during breast cancer treatment. *Br J Clin Pharmacol*. 26. März 2021;

9. Anhang

9.1 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Jessica Kraatz, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Endotheliale Dysfunktion unter lipidinduzierter Insulinresistenz / Endothelial Dysfunction in Lipid Induced Insulin Resistance“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher, noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

9.2 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Jessica Kraatz hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

J Weicht, K Mai, AM Arafat, T Bobbert, S Ruhla, MO Weickert, J Spranger, AFH Pfeiffer, M Möhlig „Akute Effekte auf die Subendokardiale Viability Ratio während Lipid-induzierter Insulinresistenz“ 44. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft , Leipzig 2009.

Die Doktorandin hat die für die Studie in Frage kommenden Probanden selbständig aquiriert und betreut. Zu ihren Aufgaben gehörte die klinische Durchführung des Studienablaufs sowie die damit verbundene Durchführung des hyperinsulinämischen euglykämischen Clamps und die Messung der Gefäßparameter. Sie führte die statistische Auswertung durch und entwarf eigenständig den genannten Posterbeitrag zur Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft in Leipzig 2009, den sie persönlich dort vorstellte.

Die genannten Co-Autoren waren maßgeblich an der Planung und Überwachung der Studie beteiligt und gaben der Doktorandin während der Durchführung theoretische und praktische Hilfestellung.

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

9.2. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

9.3. Publikationen

Paper

Bobbert T, Weicht J, Mai K, Möhlig M, Pfeiffer AF, Spranger J. Acute hyperinsulinaemia and hyperlipidaemia modify circulating adiponectin and its oligomers. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009 Oct;71(4):507-11. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03519.x. PMID: 19751297.

Mai K, Andres J, Biedasek K, Weicht J, Bobbert T, Sabath M, Meinus S, Reinecke F, Möhlig M, Weickert MO, Clemenz M, Pfeiffer AF, Kintscher U, Spuler S, Spranger J. Free fatty acids link metabolism and regulation of the insulin-sensitizing fibroblast growth factor-21. *Diabetes*. 2009 Jul;58(7):1532-8. doi: 10.2337/db08-1775. Epub 2009 Apr 28. PMID: 19401423; PMCID: PMC2699854.

Poster

J Weicht, K Mai, AM Arafat, T Bobbert, S Ruhla, MO Weickert, J Spranger, AFH Pfeiffer, M Möhlig „Akute Effekte auf die Subendokardiale Viability Ratio während Lipid-induzierter Insulinresistenz“ 44. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft, Leipzig 2009.

9.4. Danksagung

Herrn PD Dr. Matthias Möhlig danke ich für die Betreuung meiner Arbeit und die stets motivierende Unterstützung sowie Prof. Dr. Knut Mai für die praktische Anleitung.

Ich danke Frau Prof. Dr. Grüters-Kieslich und Herrn Prof. Dr. Köhrle für die Betreuung und die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Graduiertenkollegs 1208 der deutschen Forschungsgesellschaft.

Herrn Prof. Dr. Pfeiffer und Herrn Prof. Dr. Spranger danke ich für die fachliche Unterstützung und das konstruktive Arbeitsklima. Frau Petra Exner danke ich von Herzen für die persönliche Unterstützung und die geduldige Zusammenarbeit im Labor.

Ein ebenso großer Dank gilt meiner Familie für die unablässliche Unterstützung bei der Ausfertigung dieser Arbeit.