

Aus dem Centrum für Schlaganfallforschung
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Parallelen in den metabolischen Charakteristika und der Endothelfunktion bei
Patienten mit akutem Schlaganfall und Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. univ. Nadja Scherbakov
aus Miass, Russische Föderation

Datum der Promotion: 05.06.2016

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	5
Abkürzungsverzeichnis	6
1. Zusammenfassung	
1.1 Abstrakt (Deutsch)	7
1.2 Abstract (Englisch)	8
2. Einleitung	10
2.1 Periphere endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit akutem Schlaganfall und chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 1)	10
2.2 Intestinaler Blutfluss bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 2)	12
2.3 Katabole Signalaktivierung und Muskelschwund nach akutem ischämischem Hirninfarkt im Mausmodell: Zeichen der Schlaganfall-induzierten Sarkopenie (Publikation 3)	12
2.4 Zielstellung dieser Arbeit	13
3. Methoden	14
3.1 Patientencharakterisierung und Studiendesign	14
3.1.1 Studienkohorte 1: Patienten mit akutem Schlaganfall (Publikation 1)	14
3.1.2 Studienkohorte 2: Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und gesunde Probanden (Publikation 1)	14
3.1.3 Studienkohorte 3: Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und gesunde Probanden (Publikation 2)	14
3.1.4 Die neurologischen Skalen	15
3.1.5 Einschlusskriterien	15
3.1.6 Ausschlusskriterien	16
3.2 Bestimmung der endothelialen Dysfunktion (Publikation 1)	16
3.3 Venenverschußplethysmographie (Publikation 2)	17
3.4 Mausmodell (Publikation 3)	17
3.5 Blutproben	18
3.6 Ethik	18
3.6 Statistische Auswertung	18
4. Ergebnisse	19
4.1 Periphere endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit akutem	

Schlaganfall und chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 1)	19
4.1.1 Klinische Charakterisierungen der Studiengruppen	19
4.1.2 Vaskuläre endotheliale Funktion	19
4.1.3 ADMA und L-Arginin/ADMA Verhältnis beim akuten Schlaganfall und chronischer Herzinsuffizienz	19
4.2 Intestinaler Blutfluss bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 2)	20
4.3 Katabole Signalaktivierung und Muskelschwund nach akutem Ischämischem Hirninfarkt im Mausmodell: Zeichen der Schlaganfall- -induzierten Sarkopenie (Publikation 3)	21
5. Diskussion	22
5.1 Periphere endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit akutem Schlaganfall und chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 1)	22
5.2 Intestinaler Blutfluss bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 2)	24
5.3 Katabole Signalaktivierung und Muskelschwund nach akutem Ischämischem Hirninfarkt im Mausmodell: Zeichen der Schlaganfall- induzierten Sarkopenie (Publikation 3)	25
Literaturverzeichnis	27
Anteilerklärung	31
Eidesstattliche Versicherung	32
Ausgewählte Publikationen	33
Lebenslauf	34
Publikationsliste	36
Danksagung	40

Vorwort

Diese Dissertation basiert auf den hier aufgeführten Veröffentlichungen:

Publikation1:

Scherbakov N, Sandek A, Martens-Lobenhoffer J, Kung T, Turhan G, Liman T, Ebinger M, von Haehling S, Bode-Böger SM, Endres M, Doehner W. Endothelial dysfunction of the peripheral vascular bed in the acute phase after ischemic stroke. *Cerebrovascular Diseases* 2012; **33**:37-46.

Impact factor: 2.814

Publikation 2:

Sandek A, Swidsinski A, Schroedl W, Watson A, Valentova M, Herrmann R, **Scherbakov N**, Cramer L, Rauchhaus M, Grosse-Herrenthey A, Krueger M, von Haehling S, Doehner W, Anker SD, Bauditz J. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. *Journal of the American College of Cardiology* 2014; **64**:1092-102.

Impact factor: 15.343

Publikation 3:

Springer J, Schust S, Peske K, Tschirner A, Rex A, Engel O, **Scherbakov N**, Meisel A, von Haehling S, Boschmann M, Anker SD, Dirnagl U, Doehner W. Catabolic signaling and muscle wasting after acute ischemic stroke in mice: indication for a stroke-specific sarcopenia. *Stroke* 2014; **45**:3675-83

Impact factor: 6.018

Abkürzungsverzeichnis

ADMA	asymmetrisches Dimethylarginin
AIS	Akuter ischämischer Schlaganfall
ANOVA	Analysis of variance
CHI	chronische Herzinsuffizienz
ED	endotheliale Dysfunktion
eNOS	endotheliale NO-Synthase
IgA	Immunoglobulin A
LPS	Lipopolysaccharid
LVEF	linksventrikuläre Auswurffraktion
MCAO	Okklusion der A. cerebri media
NO	Stickoxid
NYHA	New-York Heart Association
PAT	peripher arterieller Ton
PGI ₂	Prostazyklin
RHI	Reaktiver Hyperämie Index
rpm	rounds per minute
SDMA	symmetrisches Dimethylarginin
TF	tissue factor
tPA	gewebespezifischer Plasminogenaktivator
TOAST	Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment
vWF	von Willebrand Faktor

1. Zusammenfassung

1.1 Abstrakt

Die chronische Herzinsuffizienz (CHI) und der akute ischämische Schlaganfall (AIS) zählen zu den Erkrankungen mit den höchsten Sterberaten. Der Schlaganfall stellt außerdem die häufigste Ursache der körperlichen Behinderung im Erwachsenenalter dar. Beide Krankheitsbilder involvieren das Gefäßsystem der Patienten. Um die Entwicklung neuer Therapieoptionen zu ermöglichen, ist ein noch tiefergehendes Verständnis der zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen notwendig. Die endotheliale Dysfunktion (ED) wird zunehmend nicht nur als Charakteristikum bei chronischer Herzinsuffizienz sondern auch als wichtiger Baustein in der Pathophysiologie des akuten ischämischen Schlaganfalls erkannt. Bei der Regulation des Gefäßtonus spielen L-Arginin und sein Gegenspieler asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) eine wichtige Rolle. Erhöhte ADMA Werte im Zusammenhang mit ED wurden bereits bei CHI Patienten festgestellt. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die periphere ED bei den Patienten mit AIS im Zusammenhang mit dem ADMA Plasmaspiegel zu untersuchen. Dabei sollte eine neue Untersuchungsmethode zur Bestimmung der peripheren ED, die Fingerplethysmographie, in unserer Arbeitsgruppe etabliert werden.

Es wurden 60 Patienten (mittleres Alter 67 ± 12 J, BMI $28,0 \pm 4,4$ kg/m²) mit AIS im Bereich der A. cerebri media eingeschlossen. Der Infarkttyp wurde anhand der Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Klassifizierung bestimmt. Zum Vergleich wurden 46 ambulante Patienten mit stabiler CHI (65 ± 9 J, $28,7 \pm 4,7$ kg/m², LVEF 34 ± 11 %, NYHA Klasse $2,4 \pm 0,7$) als positive Kontrollgruppe und 23 gesunde Probanden (62 ± 11 J, $25,0 \pm 2,9$ kg/m², LVEF 59 ± 9 %) als negative Kontrollgruppe verwendet. Die periphere ED wurde mittels eines EndoPAT2000 Gerätes als reaktiver Hyperämie Index (RHI) bestimmt.

Beide Patientengruppen zeigten einen niedrigeren RHI als Hinweis auf eine ED im Vergleich zur Kontrollgruppe (AIS: $1,8 \pm 0,3$ und CHI: $1,8 \pm 0,4$ vs. $2,2 \pm 0,4$, ANOVA $p=0,01$). Der RHI war bei kardioembolischem und mikroangiopathischem Infarkttyp und Schlaganfall unklarer Ursache vermindert ($1,7 \pm 0,4$, $1,8 \pm 0,5$ und $1,7 \pm 0,3$, $p < 0,001$). Bei CHI war der RHI schrittweise entsprechend dem zunehmenden Schweregrad der Herzinsuffizienz vermindert (NYHA I oder II: $1,9 \pm 0,4$; NYHA III oder IV: $1,6 \pm 0,3$). Das L-Arginin/ADMA Verhältnis war bei den AIS und CHI Patienten reduziert im Vergleich zur Kontrollgruppe (148 ± 32 und 126 ± 38 vs. 162 ± 26). Patienten mit kardioembolischem

Schlaganfall hatten das geringste L-Arginin/ADMA Verhältnis (133 ± 29). Bei Patienten mit kardioembolischem Schlaganfall und CHI bestand eine Assoziation zwischen dem verminderten L-Arginin/ADMA Verhältnis und dem RHI ($r=0,324$, $p<0,05$ und $r=0,429$, $p<0,001$).

Sowohl Patienten mit CHI als auch mit AIS zeigen demnach eine periphere ED.

Während bei den Patienten mit AIS die ED in einem Zusammenhang mit dem Infarkttyp stand wurde bei den Patienten mit CHI eine Verbindung mit dem Schweregrad der Erkrankung beobachtet. Die Assoziation zwischen dem Schweregrad der ED und dem verringerten L-Arginin/ADMA Verhältnis wurde bei Patienten mit AIS und Patienten mit CHI festgestellt.

Inwiefern die periphere ED, gemessen am Unterarm, bei CHI-Patienten auch mit einem verminderten Blutfluss im viszeralen Stromgebiet (Darmversorgende Gefäße) korreliert, haben wir im Weiteren untersucht.

Die CHI-Patienten zeigten eine periphere ED am Unterarm sowie eine Reduktion des intestinalen Blutflusses. Die verminderten Darmflüsse korrelierten mit der Schwere der Herzinsuffizienz. Eine Assoziation des verminderten Blutflusses in der A. mesenterica superior und im Trunkus coeliacus mit dem Vorhandensein einer kardialen Kachexie wurde gezeigt. Diese Ergebnisse können für den bei CHI beobachteten pathologischen Gewichtsverlust prognostisch relevant sein.

Ein Gewichtsverlust nach dem Schlaganfall wurde noch nicht systematisch untersucht. In einer weiteren Publikation wurden anhand des Mausmodells für den experimentellen Schlaganfall eine globale katabole Überaktivierung sowie ein vermehrter Muskelproteinabbau festgestellt. Bei diesen Mäusen wurde ein Gewichtsverlust beobachtet. Diese experimentelle Studie bringt neue Erkenntnisse zu metabolischen Veränderungen und Muskelschwund sowie zu den Mechanismen der Gewebeteilung bei der katabolen Aktivierung nach dem Schlaganfall.

1.2 Abstract

Endothelial dysfunction (ED) has been implicated for the development of cerebrovascular and cardiovascular diseases. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) competes with L-arginine and is relevant in the development of ED. Increased levels of ADMA have been observed in chronic heart failure (CHF). We hypothesized that peripheral ED in acute ischemic stroke (AIS) is associated with increased ADMA levels.

We evaluated 60 patients (mean age 67 ± 12 y, BMI 28.0 ± 4.4 kg/m²) with AIS in the territory of the middle cerebral artery. Stroke patients were classified according to the Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) classification. We compared these patients to 23 healthy controls of similar age (62 ± 11 y, BMI 25.0 ± 2.9 kg/m², left ventricular ejection fraction (LVEF) $59\pm 9\%$) and 46 patients with stable CHF (65 ± 9 y, BMI 28.7 ± 4.7 kg/m², LVEF $34\pm 11\%$) with known ED. Peripheral ED was assessed by EndoPAT2000 technology using the reactive hyperemia index (RHI).

RHI was significantly decreased in AIS and in CHF patients compared to controls (1.8 ± 0.3 vs. 1.8 ± 0.4 vs. 2.2 ± 0.4 , respectively, ANOVA $p=0.01$). A decreased RHI was observed in cardioembolic and lacunar infarcts and stroke of undetermined etiology (1.7 ± 0.4 , 1.8 ± 0.5 and 1.7 ± 0.3 , $p<0.001$). L-arginine/ADMA ratio was significantly decreased in AIS and CHF patients (148 ± 32 and 126 ± 38 vs. controls: 162 ± 26 , $p<0.001$) and was lowest in AIS patients with the cardioembolic stroke (133 ± 29 , $p<0.001$). Lower L-arginine/ADMA ratio was associated with ED in cardioembolic stroke and CHF ($r=0.324$, $p<0.05$ and $r=0.429$, $p<0.001$).

Peripheral ED occurs in patients with AIS and CHF. The impaired vasodilator capacity of peripheral arteries reflects the TOAST classification. ADMA may play a role in ED in both acute ischemic stroke and CHF.

Further we examined a role of peripheral ED in connection with arterial intestinal blood flow, weight loss (cachexia) and gastrointestinal symptoms in CHF. We reported about an association between the reduction of intestinal blood flow and the presence of cachexia compared to the decreasing peripheral blood flow. Further, the patients with CHI presented more gastrointestinal symptoms in contrast to the control group. These results provide novel insights into the pathophysiology of cachexia.

In addition, we systematically investigated pathophysiological pathways of muscle wasting after experimental acute ischemic stroke in mice. An activation of proteolytic and apoptotic pathways in skeletal musculature and myocardium and correlation of enzyme activities with the infarct size has been observed. These results indicate the presence of stroke-specific sarcopenia and a role of catabolic/anabolic imbalance in the pathological muscle loss.

2. Einleitung

2.1 Periphere endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit akutem Schlaganfall und chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 1)

Die chronische Herzinsuffizienz (CHI) und der akute ischämische Schlaganfall (AIS) zählen zu den zehn häufigsten Todesursachen in Deutschland [1]. Der Einfluss gemeinsamer Faktoren auf die Regulation der systemischen Gefäße bei den beiden Erkrankungen ist pathophysiologisch relevant. In den letzten Jahren wurde die Rolle der endothelialen Dysfunktion (ED) als Ausdruck des anabolen/katabolen Ungleichgewichtes im Zusammenhang mit kardiovaskulären und zerebrovaskulären Erkrankungen zunehmend erkannt [2,3].

Es existieren ca. 3000 Einträge mit den Stichwörtern „endothelial dysfunction“ und „heart failure“ sowie ca. 65 Einträge mit den Stichwörtern „endothelial dysfunction“ und „neurologic stroke“ in der Datenbank PubMed der National Library of Medicine (USA) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?otool=idecuhmlib>). Als ED wird eine Funktionsstörung des Endothels bezeichnet, die auf eine gestörte Gefäßdilatation, Adhäsion von Leukozyten und Thrombozyten an der Gefäßwand, zunehmende Gefäßpermeabilität und vermehrtes Wachstum vaskulärer glatter Muskelzellen zurückzuführen ist [4]. Bereits 1986 wurde die Rolle der ED bei der Entstehung der arteriosklerotischen Veränderungen der koronaren Herzgefäße beschrieben [5]. Es gibt eine Reihe von Gefäßtonus- und Durchblutungsregulierenden Mechanismen und Substanzen im Körper. Dazu gehören u.a. der Stickoxid-Pathway, die Blutgerinnungskaskade und das Prostazyklin (PGI₂). Das Stickoxid (NO) ist die wichtigste vasoaktive Substanz und die Alterationen im NO-Pathway werden am häufigsten mit ED verbunden.

Endotheliales NO wird mittels des Enzyms endotheliale NO-Synthase (eNOS) aus der Aminosäure L-Arginin gebildet [6]. Somit stellt L-Arginin eine endogene Quelle für die NO Produktion im Körper dar. Potenziell kann die verminderte NO-Bioverfügbarkeit aufgrund der geringeren Freisetzung durch die Endothelzellen oder der antagonistischen Wirkung bestimmter Substanzen die Ursache für ED sein. So führt die physiologische Methylierung von L-Arginin zur Produktion von asymmetrischen und symmetrischen Dimethylargininen (ADMA bzw. SDMA), die als kompetitive Inhibitoren der eNOS im Körper fungieren. Dabei kann die Überproduktion von ADMA und SDMA die endotheliale Funktion negativ beeinflussen [7,8].

Prinzipiell kann ED in jedem Organsystem auftreten. Die zentrale oder zerebrale ED wird häufig bei den Patienten mit Schlaganfall und anderen zerebrovaskulären Erkrankungen pathophysiologisch ausgewertet. Die Erfassung der zerebralen Endothelfunktion erfolgt mit der transkraniellen Dopplersonographie. Dabei wird die Geschwindigkeit der intrakraniellen arteriellen Blutströme (meistens anhand der Arteria media cerebri) bestimmt [9]. Die systemische ED wird als pathologische Gefäßantwort während der flussmedierten Gefäßdilatation (FMD) und als pathologische Blutgeschwindigkeiten während der reaktiven Hyperämie bestimmt [10].

Vor kurzem wurde eine neue Methode zur Bestimmung der peripheren ED etabliert. Die ED wird dabei aus der Amplitude des peripheren arteriellen Gefäßtonus (PAT) während der reaktiven Hyperämie an den Fingerspitzen bestimmt. Die Framingham Heart Study, die erste große Studie, die diese Methode bei ca. 2000 Studienteilnehmern anwendete, zeigte eine Assoziation der peripheren ED mit kardiovaskulären Risikofaktoren [11]. Die Relevanz der Dimethylarginine wurde in Zusammenhang mit ED bei chronischen Nierenversagen [12], systemisch rheumatischen Erkrankungen [13], chronischen Lungenerkrankungen [14] und Diabetes Mellitus gebracht [15]. Bei den Patienten mit Schlaganfall und CHI wurden erhöhte Konzentrationen von ADMA und SDMA im Serum beobachtet [16,17]. So wurde eine Korrelation der ADMA Serumwerte mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz entsprechend der New-York Heart Association (NYHA)-Klassen beobachtet [16].

In einer anderen Studie wurde eine Assoziation zwischen den ADMA-Serumwerten und den Risikofaktoren des Schlaganfalls gezeigt [17]. Weiter wurde eine direkte Assoziation des L-Arginin/ADMA Verhältnis mit mikroangiopathischen Veränderungen bei Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie beobachtet [18].

Die ätiologische Klassifikation des Schlaganfalls anhand der Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Kriterien schließt 5 Infarkttypen ein:

makroangiopathischer, mikroangiopathischer und kardioembolischer Infarkttyp sowie Typ unklarer Ursache (bei zwei konkurrierenden Infarkttypen) und Typ anderer Ursache (bezüglich der Grunderkrankung die ursächlich für den Schlaganfall sein könnte).

Es liegen bisher keine Untersuchungen der peripheren Endothelfunktion bei Patienten mit akutem ischämischen Schlaganfall entsprechend dieser Klassifikation vor. Die Rolle von ADMA und L-Arginin wurde im Zusammenhang mit der peripheren ED bei akutem ischämischen Schlaganfall noch nicht wissenschaftlich untersucht.

2.2 Intestinaler Blutfluss bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 2)

Eine periphere ED wurde bei CHI Patienten gezeigt [16]. Inwiefern der Blutfluss im viszeralem Stromgebiet (Darmversorgende Blutgefäße) mit der peripheren ED korrelierte wurde im Weiteren untersucht.

Kardiale Kachexie (pathologischer Gewichtsverlust) entwickelt sich bei 16 bis 42% der Patienten mit CHI und stellt somit eine ernste Komplikation mit erhöhter Sterberate dar [19]. Die Rolle des Gastrointestinaltraktes bei der Entstehung der Kachexie bei CHI Patienten wurde zunehmend erkannt [20]. Somit könnte die verminderte Durchblutung der Darmschleimhaut infolge der Herzschwäche die Ursache für Störungen des physiologischen Verdauungsprozesses mit Malresorption und Malnutrition sein. Die Rolle der peripheren ED und die Beziehung zur intestinalen Durchblutung sind dabei unklar.

2.3 Katabole Signalaktivierung und Muskelschwund nach akutem ischämischem Hirninfarkt im Mausmodell: Zeichen der Schlaganfall-induzierten Sarkopenie (Publikation 3)

Die ED spielt eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie des Schlaganfalls und der CHI. Eine weitere Komplikation die pathophysiologisch sowohl für den Schlaganfall als auch für die Herzinsuffizienz relevant ist und als eine Vorstufe zur Kachexie zu verstehen ist, ist der Schwund der Skelettmuskulatur (Sarkopenie). Das geht häufig parallel mit einem Gewichtsverlust einher. Es wurde gezeigt dass die Patienten mit einem höheren Body-Mass-Index bessere Überlebenschancen hatten, sogenanntes „Obesity paradox“ [21]. Die Gehirnschädigung geht mit einer massiven Aktivierung inflammatorischer und hormonaler Faktoren einher, was letztendlich zur Entstehung des katabolen /anabolen Ungleichgewichtes führt. Der Gewichtsverlust nach dem Schlaganfall wird daher als Ausdruck einer katabolen Stoffwechsellage bewertet, wobei zusätzliche Faktoren wie z.B. Immobilisierung und erschwerte Nahrungsaufnahme aufgrund z.B. von Schluckstörungen einen deutlichen Beitrag leisten. Eine systematische Analyse des Gewichts- und Skelettmuskelverlustes nach dem Schlaganfall wurde bisher noch nicht durchgeführt.

2.4 Zielstellung dieser Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es die periphere endotheliale Funktion und metabolische Aspekte beim ischämischen Schlaganfall im Vergleich zur Herzinsuffizienz als positive Kontrollgruppe und gesunden Probanden als weitere negative Kontrollgruppe zu evaluieren. Hierfür sollte eine Methode zur Erfassung der peripheren ED mittels EndoPAT 2000 Technologie in unserer Arbeitsgruppe eingesetzt werden. Dabei sollte ein Vergleich mit Patienten mit CHI und gesunden Probanden erfolgen.

Im Weiteren sollten die ADMA-Serumwerte und das L-Arginin/ADMA Verhältnis in beiden Patientengruppen verglichen werden.

In einem zweiten Teil der Arbeit sollten die Patienten mit CHI und an den Extremitäten festgestellter ED auch hinsichtlich der Durchblutung von inneren Organen am Beispiel der Darmdurchblutung untersucht werden, da diese zu prognostisch relevantem Gewichtsverlust bei Patienten mit CHI beitragen könnte.

In einem dritten Teil der Arbeit ist das Thema der Gewichtsverlust nach Schlaganfall. Das Ziel der vorliegenden Studie war es die Prozesse in der Skelettmuskulatur sowie die katabole Aktivierung nach akutem Schlaganfall mit Hilfe eines Mausmodells für den experimentellen Schlaganfall systematisch zu analysieren.

3. Methoden

3.1 Patientencharakterisierung und Studiendesign

3.1.1 Studienkohorte 1: Patienten mit akutem Schlaganfall (Publikation 1)

Es wurden 60 Patienten (Alter 67 ± 12 Jahre, Mittelwert \pm Standardabweichung) mit akuter cerebraler Ischämie im Versorgungsgebiet der Arterie cerebri media (MCA) während ihres Aufenthaltes in der Stroke Unit, Charite Campus Virchow Klinikum eingeschlossen. Die Ätiologie des Schlaganfalls wurde anhand der Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Kriterien bestimmt [22]: Makroangiopathie (n=20), Kardioembolie (n=15), Mikroangiopathie (n=18), unklare Ursache (n=7). Der Infarkt wurde radiologisch mit Computertomographie (CT) oder mit Magnetresonanztomographie (MRT) bestätigt. Die Schwere der neurologischen Defizite wurde entsprechend der National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) bestimmt. Funktionelle und alltägliche Fähigkeiten wurden anhand der deutschen Version der modifizierten Rankin-Skala (mRS) und des Barthel Index (BI) eingestuft. Die Untersuchungen wurden innerhalb von 5 Tagen nach dem Einschluss abgeschlossen.

3.1.2 Studienkohorte 2: Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und gesunde Probanden (Publikation 1)

Als positive Kontrolle wurden 46 Patienten im Alter von 65 ± 9 Jahre mit stabiler CHI ischämischer oder nicht-ischämischer Ätiologie, New York Heart Association (NYHA)-Klassen I bis IV und eingeschränkter linksventrikulärer Funktion (EF) $< 45\%$ untersucht (Tabelle 2). Alle Patienten bekamen eine individualisierte medikamentöse Therapie nach aktuellen Leitlinien (β -Blocker, ACE Hemmer, Angiotensin 2 Rezeptorantagonisten, Diuretika, Digoxin und Aspirin) und waren im stabilen ambulanten Zustand. Alle Patienten hatten eine bekannte ED. Patienten mit einer vorbestehenden peripheren arteriellen Verschlusskrankheit wurden aus der Studie ausgeschlossen.

23 gesunde Probanden (62 ± 11 J, 25.0 ± 2.9 kg/m², LVEF $59 \pm 9\%$) wurden als negative Kontrollgruppe herangezogen.

3.1.3 Studienkohorte 3: Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und gesunde Probanden (Publikation 2)

Es wurden 65 Patienten mit CHI (Alter 65 ± 10 J, BMI 28 ± 5 kg/m², LVEF $\leq 40\%$) in die Studie eingeschlossen. 12 Patienten waren kachektisch (Gewichtsverlust $\geq 5\%$ innerhalb

der letzten 6-12 Monate). Alle Patienten bekamen eine individualisierte medikamentöse Therapie nach aktuellen Leitlinien (β -Blocker, ACE Hemmer, Angiotensin 2 Rezeptorantagonisten, Aldosteron Rezeptorantagonisten, andere Diuretika, Glykoside, Statine und Aspirin) und waren im stabilen ambulanten Zustand (NYHA Klasse $2,5\pm 0,5$). Patienten mit chronischen Erkrankungen wie z. B. einer aktiven rheumatoiden Arthritis, Autoimmunerkrankung, M. Crohn, obstruktiven Lungenerkrankungen, Herzklappenfehler oder malignen Erkrankungen wurden aus der Studie ausgeschlossen. Zum Vergleich wurden 25 gesunde Probanden (62 ± 10 J, 26 ± 4 kg/m², LVEF $63\pm 7\%$) untersucht.

3.1.4 Die neurologischen Skalen

Barthel Index

Der BI wird zur Ermittlung der Fähigkeit zur Selbstsorge und Mobilität im Alltag benutzt und erfasst 10 Tätigkeitsbereiche mit einem Gesamtscore von 0 bis 100. Der kleinste Score weist dabei die größere funktionelle Abhängigkeit auf [23].

National Institute of Health Stroke Scale

Der NIHSS wird zur Beurteilung der Schwere der neurologischen Defizite nach dem Schlaganfall benutzt. Die Scala besteht aus 15 Kategorien und wird mit einer Gesamtscore von 0 (kein Defizit) bis 34 (schwere neurologische Ausfälle) bewertet [23].

Modifizierte Rankin-Skala

Die mRS beurteilt das Ausmaß der funktionellen Abhängigkeit und der neurologischen Behinderung des Patienten nach einem Schlaganfall [23]. Die Scores zwischen 0 und 2 deuten auf funktionelle Unabhängigkeit und zwischen 3 und 5 auf funktionelle Abhängigkeit hin.

3.1.5 Einschlusskriterien

1. Patienten mit ischämischen Infarkt im Bereich der MCA mit einem Mindestalter von 21 Jahren.
2. Studieneinschluss innerhalb von 24-48 h nach Beginn der Symptomatik.
3. Schwere des Schlaganfalls mit dem Grad 0 bis 12 der NIHSS.
4. Bildgebender Nachweis einer zerebralen Ischämie.
5. Schriftliches Einverständnis des Patienten bei voller Geschäftsfähigkeit.

3.1.6 Ausschlusskriterien

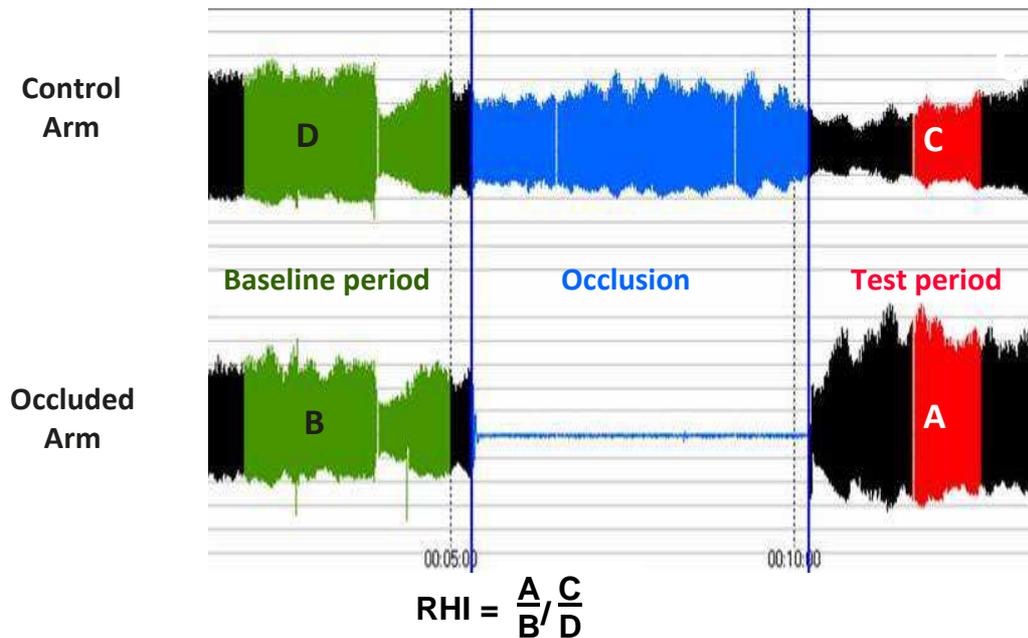
1. Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt oder akuter Dekompensation ihrer Grunderkrankung, die intensiv-medizinische Therapie erfordert.
2. Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen, atrophischen (neuro-) muskulären Erkrankungen oder immunsuppressiver Therapie.
3. Patienten mit malignen Erkrankungen oder Anamnese einer malignen Erkrankung vor weniger als 5 Jahre.
4. Patienten mit Infektionen oder Fieber zum Zeitpunkt der Blutentnahme, die eine antibiotische Behandlung erforderlich machten.
5. Patientinnen im gebärfähigen Alter ohne sichere Kontrazeption und Schwangere.

3.2 Bestimmung der endothelialen Dysfunktion (Publikation 1)

Die endotheliale Funktion wurde mittels reaktiver Hyperämie unter Verwendung einer Fingerplethysmographie (EndoPAT2000, Itamar Medical Caesarea, Israel) bestimmt. Das Prinzip der Fingerplethysmographie basiert auf der Messung des peripheren arteriellen Gefäßtonus (PAT) an den Zeigern. Während der reaktiven Hyperämie an einer Hand, wird die andere als Referenz verwendet. Die Untersuchungen wurden in einem klimatisierten Raum nach 20-minütigen Liegen durchgeführt.

Vor Beginn der Untersuchung wurde eine Blutdruckmanschette an einem Oberarm platziert. Nach der Platzierung der Elektroden an den Zeigernspitzen beider Arme und einer Ruhemessung von 5 min wurde die Manschette mit 20 mm Hg über den systolischen Blutdruckwert für weitere 5 min okkludiert. Nach Beenden der Okklusion wurde das PAT-Signal für weitere 5 min gemessen und der reaktive Hyperämie Index (RHI) von der Software kalkuliert (*Abbildung 1*). Ein RHI $\leq 1,8$ wurde als pathologisch gewertet.

Abbildung 1. Bestimmung des reaktiven Hyperämie Indexes (RHI).



3.3 Venenverschlußplethysmographie (Publikation 2)

Bei der Venenverschlußplethysmographie (Hokanson EC6 Plethysmograph, Bellevue, USA) werden die Volumenänderungen des Bluteinstromes in die Extremität gemessen und in ml/100ml/Minute angegeben. Dabei werden eine Blutdruckmanschette am Oberarm bzw. Oberschenkel und eine Quecksilberelektrode am Unterarm bzw. Unterschenkel angelegt. Zuerst wird der Ruheblutfluss bestimmt. Die Manschette wird dabei auf 40 mmHg aufgepumpt und die Luft wieder abgelassen. Danach wird der postischämische Blutfluss nach 3 Minuten Stauung mit 30 mmHg über dem systolischen Blutdruck gemessen. Das maximale Dehnungssignal der Elektrode wird in mehreren dicht aufeinander folgenden Messungen als maximaler Blutfluss in der Vene gewertet.

Der arterielle intestinale Darmfluss und die Dicke der Darmwand wurden mittels transabdomineller Sonographie analysiert. Zusätzlich wurde die Bakterienflora der Darmschleimhaut anhand von Darmschleimhautbiopsien sowie aus Stuhlproben mit Hilfe von Fluoreszenz-in-Situ-Hybridisierung bestimmt.

3.4 Mausmodell (Publikation 3)

Es wurden 92 Mäuse (Männchen, Stamm C57B16/N, Gewicht $22,5 \pm 1,4$ g) verwendet. Der experimentelle Schlaganfall wurde als fokale zerebrale Ischämie durch eine 60-minütige Okklusion der A. cerebri media induziert (MCAO). Zum Vergleich wurden eine

Kontrollgruppe sowie eine Gruppe von sham-operierten Mäusen verwendet. Die Studienuntersuchungen wurden vor der Okklusion, am 3. und am 7. Tag nach der Okklusion durchgeführt.

3.5 Blutproben

Serumproben wurden nach 12-stündiger Nahrungskarenz abgenommen. Nach dem Zentrifugieren (15 Minuten, 3500 rpm) erfolgte eine Aliquotierung der Proben. Anschließend wurden die Proben bei -80°C für weitere Analysen tiefgefroren. ADMA und L-Arginin wurden mittels Flüssigkeitschromatographie mit einer Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS-MS) bestimmt.

3.6 Ethik

Die Studien wurden durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Charité-Universitätsmedizin Berlin genehmigt. Die Patienten wurden vor Beginn der Studien ausführlich informiert und ein schriftliches Einverständnis zur Teilnahme wurde von allen Probanden (Patienten und Gesunde) beim Einschluss in die Studie unterschrieben.

Die Tierversuchsexperimente wurden entsprechend der Richtlinien von Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE) durchgeführt. Die Tierversuchsstudie wurde durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin (LAGeSo, G 0226/09) genehmigt.

3.7 Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen erfolgten mit StatView 5.0 (SAS Institute, Cary, N.C., USA). Deskriptive Daten wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) dargestellt. Die biochemischen Variablen wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf die Normalverteilung überprüft. Die statistischen Auswertungen erfolgten durch die Varianzanalyse (ANOVA), gefolgt vom Fischer post hoc Test und t-Test für ungepaarte Stichproben. Die Korrelationsanalysen zwischen verschiedenen Variablen erfolgten mittels Spearman-Rangkorrelation. Die statistische Signifikanz wurde auf $p < 0,05$ festgesetzt.

4. Ergebnisse

4.1 Periphere endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit akutem Schlaganfall und chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 1)

4.1.1 Klinische Charakterisierung der Studiengruppen

Ätiologisch wurden die Patienten mit akutem ischämischen Schlaganfall (AIS) entsprechend der TOAST- Klassifikation in 4 Gruppen unterteilt: Makroangiopathie (n=20), Kardioembolie (n=15), Mikroangiopathie (n=18), unklare Ursachen (n=7). Die Schwere des akuten Schlaganfalls entsprechend der NIHSS-Skala war $5,2\pm 0,5$. Die neurologischen Defizite wurden anhand des Barthel Index (70 ± 5) und der modifizierten Rankin Skala ($2,1\pm 0,2$) bewertet. 12 AIS Patienten wurden mit Lysetherapie (Actilyse) behandelt.

Die Ätiologie der CHI war bei 33 Patienten (72%) ischämische Kardiomyopathie und bei 13 Patienten (28%) dilatative Kardiomyopathie. Entsprechend der NYHA Klassifikation waren 28 Patienten (61%) der NYHA Klasse I oder II und 18 Patienten (39%) der NYHA Klasse III oder IV zuzuordnen.

4.1.2 Vaskuläre endotheliale Funktion

Die periphere endotheliale Funktion wurde innerhalb von 67 ± 45 Stunden nach dem Schlaganfall bestimmt. Eine ED aufgrund des niedrigeren RHI wurde bei Patienten mit akutem ischämischem Schlaganfall und CHI Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt ($1,8\pm 0,4$ und $1,8\pm 0,3$ vs. $2,2\pm 0,4$, ANOVA, $p=0,01$).

Der RHI war bei den AIS Patienten mit kardioembolischem ($1,7\pm 0,4$) und mikroangiopathischem Infarkttyp ($1,8\pm 0,5$) und bei Patienten mit Schlaganfall unklarer Ursache ($1,7\pm 0,3$) gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigt. Es wurden keine Unterschiede im RHI entsprechend der NIHSS Skala (NIHSS 0-4 $1,8\pm 0,4$ vs. NIHSS 5-12 $1,9\pm 0,5$, n.s.) beobachtet. Bei den CHI Patienten wurde eine signifikante Reduktion des RHI entsprechend der NYHA Klassen (NYHA I oder II $1,9\pm 0,4$ vs. NYHA II oder IV $1,6\pm 0,3$, $p<0,01$) beobachtet. Die Behandlung mit Actilyse zeigte keinen Effekt auf die endotheliale Funktion (AIS ohne Actilyse $1,8\pm 0,4$ vs. AIS mit Actilyse $1,9\pm 0,4$, n.s.).

4.1.3 ADMA und L-Arginin/ADMA Verhältnis beim akuten Schlaganfall und chronischer Herzinsuffizienz

Die ADMA Serumspiegel waren erhöht bei Patienten mit AIS und CHI im Vergleich zur Kontrollgruppe (576 ± 89 und 625 ± 93 vs. 530 ± 49 nMol/L, ANOVA, $p<0,05$). Die höheren

ADMA- Serumwerte wurden bei kardioembolischem und makroangiopathischem Schlaganfalltyp im Vergleich zu den Kontrollen beobachtet (591 ± 79 und 599 ± 91 vs. 530 ± 49 nMol/L, $p < 0,05$). Bei CHI waren die ADMA-Werte schrittweise entsprechend dem zunehmenden Schweregrad der Herzinsuffizienz erhöht (NYHA I oder II 602 ± 87 und NYHA III oder IV 661 ± 93 nMol/L).

Das L-Arginin/ADMA Verhältnis war bei den Patienten mit AIS im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant verändert (148 ± 32 vs. 162 ± 26). Eine wesentliche Verringerung des L-Arginin/ADMA Verhältnisses gegenüber den gesunden Probanden wurde bei den Patienten mit kardioembolischem Infarkttyp sowie bei den Patienten die mit Actilyse behandelt wurden beobachtet (133 ± 29 und 133 ± 32 vs. 162 ± 26 , $p < 0,01$, ANOVA). Die CHI-Patienten zeigten ein signifikant niedrigeres L-Arginin/ADMA Verhältnis sowohl in der gesamten Gruppe (126 ± 38), als auch in den Subgruppen entsprechend den NYHA Klassen (NYHA I oder II 137 ± 33 vs. NYHA III oder IV 110 ± 40 , $p < 0,01$).

4.2 Intestinaler Blutfluss bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 2)

Der periphere Ruheblutfluss am Unterarm war in den kachektischen sowie nicht-kachektischen Patientengruppen im gleichen Ausmaß (nämlich zu 67%) gegenüber der Kontrollgruppe reduziert. Im Gegensatz dazu wurde eine Reduktion des postischämischen Blutflusses bei 63% der Patienten mit kardialer Kachexie gegenüber den Kontrollen beobachtet, während die nicht-kachektischen Patienten keine Verminderung des Blutflusses zeigten.

Die Analyse der Blutflüsse am Darm zeigten eine Reduktion des mittleren systolischen arteriellen Blutflusses der A. mesenterica superior (29%), der A. mesenterica inferior (41%) und des Truncus coeliacus (23%) bei CHI Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei den Patienten mit Kachexie wurde der geringste systolische arterielle Blutfluss im Vergleich zu den Kontrollen beobachtet: A. mesenterica superior (42%), A. mesenterica inferior (45%) und Truncus coeliacus (43%). Zwar waren sowohl der periphere Blutfluss am Arm als auch der Blutfluss im Darm reduziert, jedoch wurde keine direkte Assoziation zwischen dem peripheren und intestinalen Blutfluss sowie zwischen dem intestinalen Blutfluss und dem Blutdruck gefunden. Die verminderten Darmflüsse korrelierten mit der Schwere der Herzinsuffizienz. Die multivariablen Analysen nach Adjustierung für NYHA Klasse, LVEF und pro-atriales natriuretisches

Peptid zeigten eine Korrelation des Blutflusses in der A. mesenterica superior und dem Trunkus coeliacus mit dem Vorhandensein einer kardialen Kachexie ($p < 0,05$). Zusätzlich wurde eine signifikante Verdickung der Darmwandschleimhaut bei CHI Patienten beobachtet. Eine vermehrte Bakterienkonzentration ($> 10^8/\text{ml}$) wurde in der Darmschleimhaut von 13 der insgesamt 21 Biopsien der CHI Patienten festgestellt. Dies korrelierte auch mit dem anti-Lipopolysaccharid (LPS) Immunglobulin A (IgA) ($r=0.55$, $p=0.05$). Die CHI Patienten berichteten häufiger als gesunde Probanden über gastro-intestinale Symptome wie Völlegefühl (59% vs. 22%), Sodbrennen (25% vs. 0%), Blähungen (73% vs. 28%) und Darmgeräusche (58% vs. 28%). Diese Symptome waren schwerer bei den kachektischen im Vergleich zu den nicht-kachektischen Patienten.

4.3 Katabole Signalaktivierung und Muskelschwund nach akutem ischämischem Hirninfarkt im Mausmodell: Zeichen der Schlaganfall-induzierten Sarkopenie (Publikation 3)

Eine Gewichtsreduktion wurde bei den MCAO-Mäusen innerhalb von 7 Tagen nach dem Schlaganfall beobachtet. Der Gewichtsverlust setzte sich aus dem Verlust der Mager- und Fettmasse zusammen, wobei die Magermassereduktion in beiden, gelähmten und nicht-gelähmten Beinen sowie im Herzmuskel stattfand. Der höchste Gewichtsverlust (bis zu 22%) wurde am 3. Tag nach der Okklusion beobachtet. Die Gewichtsreduktion wurde nicht durch die hochkalorische Nahrung, sympathische Blockade mit dem β -Blocker Propranolol und präventive antibiotische Behandlung mit Enrofloxazin beeinflusst. Darüber hinaus wurde eine lineare Korrelation der Nahrungsaufnahme mit der Infarktgröße bei den MCAO-Mäusen gezeigt.

Es wurde eine Überaktivierung der Caspase-3 und Caspase-6 in der Skelettmuskulatur der beiden Beine (ipsi- und kontralateraler zur Gehirnläsion Bein) festgestellt. Die beiden Enzyme sind Effektorenzyme der Apoptose die auf eine erhöhte Proteolyse hindeuten. Eine signifikante Korrelation zwischen der Infarktgröße und der Caspaseaktivität wurde in der kontralateralen jedoch nicht im ipsilateralen Bein beobachtet. Zusätzlich wurde eine erhöhte Aktivierung des Proteasoms anhand der Proteolyse von spezifischen Substraten für alle drei Proteasomeinheiten bei MCAO-Mäusen festgestellt. Die Aktivierung des Proteasoms in der kontralateralen Muskulatur korrelierte signifikant mit der Infarktgröße bei den MCAO Mäusen. Zusätzlich wurde ein hoher Level von Myostatin, einem Muskelwachstum-regulierenden Hormon, bei den MCAO Mäusen gegenüber den sham-operierten Mäusen und Kontrollmäusen gezeigt.

5. Diskussion

5.1 Periphere endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit akutem Schlaganfall und chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 1)

In der Studie konnte gezeigt werden, dass die Patienten mit akutem Schlaganfall eine gestörte periphere endotheliale Funktion haben. Die ED war vor allem mit kardioembolischen und mikroangiopatischen (lakunären) Infarkttypen assoziiert. Bei Patienten mit kardioembolischem Schlaganfall und CHI-Patienten fand sich ein Zusammenhang zwischen ED und der L-Arginin/ADMA Ratio. Zusätzlich fanden wir, dass die Schwere der ED anhand der RHI mit dem Schweregrad der chronischen Herzinsuffizienz entsprechend der NYHA-Klassen sowie mit den ADMA-Serumwerten korrelierte.

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass es bei Patienten mit Schlaganfall verschiedene pathophysiologische Mechanismen gibt, die zur Entstehung der peripheren ED führen. Diese stehen mit dem Infarkttyp in Verbindung. Die ED wurde bei den Patienten mit kardioembolischen und mikroangiopatischen Infarkttyp beobachtet. Der erhöhte ADMA Serumspiegel und ein vermindertes L-Arginin/ADMA Verhältnis wurden dabei nur bei den Patienten mit kardioembolischem Schlaganfalltyp festgestellt. Bei Patienten mit mikroangiopatischem Infarkttyp entsprach der ADMA Serumspiegel und das L-Arginin/ADMA Verhältnis der Kontrollgruppe. Das deutet darauf hin, dass bei Patienten mit kardioembolischem Schlaganfall die ED ADMA-abhängig sein könnte, während bei dem mikroangiopathischen Infarkttyp andere Mechanismen zur Entstehung der peripheren ED beitragen. Tatsächlich wurde bei den Patienten mit mikroangiopathischen Infarkttyp eine Aktivierung von Komponenten des Gerinnungssystems, des gewebespezifischen Plasminogenaktivators (tPA), des von Willebrand Faktors (vWF), des Blutgerinnungsfaktors VIII und des tissue factors (TF) festgestellt [24]. Daraus kann man schließen, dass die NO-unabhängigen Mechanismen bei mikroangiopatischem Schlaganfalltyp zur ED Entstehung führen. Andererseits wurde in der vor kurzem durchgeführten systematischen Übersicht die ED bei mikroangiopathischem Infarkttyp als generalisierte Antwort des Endotheliums auf die vaskulären Risikofaktoren diskutiert [25]. Unsere Untersuchungen zeigen nicht, ob die periphere ED bereits vor dem Schlaganfall bestand oder eine Reaktion auf die Sympathikusaktivierung im Rahmen des Schlaganfalls und der akuten Stressreaktion darstellte. Die Sympathikusüberaktivierung wird häufig beim Schlaganfall beobachtet

und verursacht eine Reihe klinischer Komplikationen. So wurden z. B. Herzrhythmusstörungen, Episoden hypertensiver Krisen sowie akute Myokardinfarkte bei den Patienten in der Akutphase des Schlaganfalls als Folge der Sympathikusüberaktivierung beschrieben. Dabei spielen die Alterationen der Endothelfunktion eine entscheidende Rolle. Die therapeutischen Ansätze zur Wiederherstellung der Endothelfunktion könnten daher zur Verbesserung der Prognose und Überlebenschancen der Schlaganfallpatienten beitragen.

Die Patienten mit kardioembolischem Infarkttyp sowie die Patienten mit CHI wiesen eine periphere ED, erhöhte ADMA Werte und ein erniedrigtes L-Arginin/ADMA Verhältnis auf. Der Zusammenhang zwischen ED und ADMA bei CHI wurde bereits gezeigt [16]. Im Rahmen der aktuellen Beobachtungsstudie wurden die früheren Ergebnisse, nämlich das Vorliegen der ED bei den Patienten mit CHI mit einer anderen Methode, dem Fingerplethysmographen EndoPAT2000, reproduziert und der Zusammenhang zwischen der ED und ADMA bestätigt.

Die systemische Thrombolysetherapie mit Actilyse ist die kausale Therapie des akuten ischämischen Schlaganfalls. Die Actilyse enthält einen hohen L-Argininanteil, daher ist zu erwarten, dass der L-Argininspiegel im Plasma steigt. Allerdings zeigte die Actilyse Behandlung im Rahmen des akuten Schlaganfalls in der vorliegenden Studie keine Verbesserung der Endothelfunktion. Zusätzlich wurde ein niedriges L-Arginin/ADMA Verhältnis beobachtet. Das kann dadurch erklärt werden, dass L-Arginin eine kurze Halbwertszeit im Plasma (ca. 1 Stunde) hat und zum Beginn unserer Studienuntersuchungen (67±45 Stunden nach Akutereignis) bereits abgebaut war.

Unsere Ergebnisse zeigten, dass die periphere ED bei den Patienten mit kardioembolischem Schlaganfall in einem Zusammenhang mit ADMA standen, ähnlich wie bei den CHI Patienten. Bei den Patienten mit CHI wurde die schrittweise Erhöhung der ADMA-Serumwerte sowie die Verminderung des L-Arginin/ADMA Verhältnisses im Zusammenhang mit der Steigerung des Schweregrades der Herzinsuffizienz beobachtet. Somit wurde ADMA als pathophysiologische Verbindung zwischen der gestörten Gefäßregulation und der CHI Progression wahrscheinlich.

Die vorliegende Studie ist eine klinische Beobachtungsstudie. Sie untersucht keine pathophysiologischen Mechanismen die zur Entstehung der peripheren ED führen. Allerdings erlaubt die nachgewiesene pathophysiologische Rolle des ADMA als kompetitiven Inhibitoren der endothelialen NO die Annahme, dass ADMA die Ursache für

die Entstehung der peripheren ED bei den Patienten mit kardioembolischen Schlaganfall sein könnte.

Die früher publizierten Studien zeigten erhöhte ADMA Werte bei Schlaganfallpatienten mit kardioembolischen und mikroangiopathischen Infarkttyp und TIA [18,26]. Unsere Ergebnisse bestätigen das nur für den kardioembolischen Infarkttyp. Im Weiteren wurde bei den Patienten mit makroangiopatischem Infarkttyp keine periphere ED in der aktuellen Studie beobachtet. Das widerspricht den publizierten Ergebnissen [27]. Diese Diskrepanzen könnten durch die kleine Studienteilnehmeranzahl entstanden sein, die als limitierender Faktor dieser Studie gelten muss. Daher ist es wichtig in weiteren Studien mit einer größeren Patientenzahl die Endothelfunktion beim Schlaganfall genauer zu evaluieren um neue Therapiestrategien zu entwickeln.

5.2 Intestinaler Blutfluss bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Publikation 2)

In der vorliegenden Studie konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass parallel zur peripheren ED der arterielle Blutfluss der drei größten intestinalen Arterien bei Patienten mit CHI reduziert ist. Dabei hatten die kachektischen CHI Patienten die geringsten Blutflüsse. Wir zeigten, dass der Blutfluss schrittweise mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz korrelierte. Bei den CHI Patienten zeigten sich verdickte Darmwände, erhöhte anti-LPS IgA Antikörper und eine vermehrte Bakterienzahl in den Darmbiopsien. Diese Patienten litten häufiger an gastro-intestinalen Beschwerden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass infolge einer Herzschwäche die Durchblutung des Darmes vermindert wird. Die dabei beobachtete Verdickung der Darmwand könnte sich als Darmwandödem bzw. interstitielle Fibrose darstellen. Dabei wäre die Barrierefunktion der Darmschleimhaut beeinträchtigt, was ein verstärktes Bakterienwachstum und eine systemische Entzündungsreaktion nach sich ziehen würde. Tatsächlich korrelierte die erhöhte Bakterienzahl in den Darmbiopsien mit der Steigerung der anti-LPS IgA Antikörper.

Die kardiale Kachexie stellt eine schwere Komplikation der CHI dar, die zum Teil an der gestörten Resorption der Nährstoffe liegt. Tatsächlich zeigten die CHI Patienten gastro-intestinale Symptome, wobei die Patienten mit kardialer Kachexie die stärkeren Symptome hatten.

Die periphere ED wurde anhand der Plethysmographie bei den kachektischen sowie nicht-kachektischen Patienten festgestellt. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen

der peripheren Endothelfunktion und dem Darmfluss sowie zwischen dem Blutdruck und dem Darmfluss. Diese Ergebnisse weisen daraufhin, dass hier unterschiedliche Regulierungsmechanismen zugrunde liegen können. Somit können weder die periphere ED noch der periphere Blutdruck als Marker des intestinalen Blutflusses angewendet werden.

5.3 Katabole Signalaktivierung und Muskelschwund nach akutem ischämischem Hirninfarkt im Mausmodell: Zeichen der Schlaganfall-induzierten Sarkopenie (Publikation 3)

In der vorliegenden Studie wurde eine systemische Analyse der Veränderungen des Skelettmuskels und des Myokards sowie der katabolen Aktivierung nach dem Schlaganfall durchgeführt. Es wurde ein Gewichtsverlust über 20% beobachtet. Dieser Gewichtsverlust setzte sich aus dem Muskel- und Fettgewebeverlust zusammen. Die katabole Aktivierung äußerte sich einerseits in der verstärkten Apoptose, die anhand der Caspase-3 und Caspase-6 Überaktivierung anzunehmen war, andererseits in dem vermehrten Muskelproteinabbau, der sich über die Aktivierung aller drei Proteasom-Einheiten abspielte.

Es ist anzunehmen, dass die Aktivierung der systemischen sowie der lokalen katabolen Stoffwechselpathways nach dem Schlaganfall in einem Zusammenhang mit der Gehirnläsion steht. Die systemische katabole Aktivierung äußerte sich im Muskel- und Fettgewebeschwund in beiden Beinen sowie im Herzmuskel. Die Gehirnläsion steht in direkter Verbindung auch zur lokalen katabolen Aktivierung. So konnte gezeigt werden, dass die Größe der Gehirnläsion mit der Aktivierung der proteolytischen und apoptotischen Signale besonders im kontralateralen Bein und nicht im ipsilateralen Bein korrelierte.

Ein Gewichtsverlust wurde bei MCAO Mäusen nach dem Schlaganfall festgestellt. Dabei wurde eine verminderte Nahrungsaufnahme sowie eine verringerte Aktivität bei den Tieren beobachtet. Das würde zum Teil den Gewichtsverlust erklären. Allerdings wurde die Gewichtsreduktion durch die hyperkalorische Nahrungszufuhr nicht beeinträchtigt. Dabei könnten mehrere Mechanismen eine Rolle spielen. Zum einen konnten wir feststellen, dass eine vermehrte proteolytische Aktivierung und eine Steigerung der Apoptose stattfanden. Zum anderen könnte die Abnahme der zentralen Appetitregulation, die Alterationen der intestinalen Resorption und die veränderte Bioverfügbarkeit der Nährstoffe zum Gewichtsverlust beitragen.

Entzündungsreaktionen und Infektionen treten häufig nach dem Schlaganfall auf, wobei die Pneumonie eine der häufigsten Komplikationen darstellt [28]. Die Erhöhung der proinflammatorischen Zytokine sowie die sympathische Überaktivierung könnten das anabole/katabole Ungleichgewicht verstärken und somit zum Gewichtsverlust beitragen. Allerdings zeigten die Blockade des Sympathikus mit Beta-Blockern sowie die präventive Infektionsbehandlung mit einem Antibiotikum keinen Effekt auf die Gewichtsreduktion. Diese Ergebnisse bekräftigen die Annahme, dass sehr komplexe Vorgänge nach dem Schlaganfall ablaufen und das verbesserte Verständnis dieser pathophysiologischen Mechanismen die Überlebenschancen der Schlaganfallpatienten erhöhen würde.

Die körperliche Behinderung nach dem Schlaganfall geht parallel mit strukturellen Veränderungen der Skelettmuskulatur einher. Die vorliegende Studie enthält neue Erkenntnisse zu metabolischen und strukturellen Alterationen der Muskulatur im akuten Stadium nach dem Schlaganfall. Eine Reihe von Studien zeigten Muskelschwund und Gewichtsverlust im subakuten Stadium nach dem Schlaganfall [29,30,31,32]. Das verbesserte Verständnis der frühen Veränderungen der Muskulatur könnte eine entscheidende Rolle bei der Wiederherstellung der Leistungs- und Funktionsfähigkeiten nach dem Schlaganfall spielen.

Literaturverzeichnis

1 Todesursachen - Statistisches Bundesamt

<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/SterbefaelleInsgesamt.html>.

2 Drexler H, Hayoz D, Münzel T, Hornig B, Just H, Brunner HR, Zelis R. Endothelial function in chronic congestive heart failure. *Am J Cardiol.* 1992; 69:1596-601.

3 Madden JA. Role of the vascular endothelium and plaque in acute ischemic stroke. *Neurology* 2012 25;79:S58-62.

4 Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, Kiowski W, Lüscher TF, Mancia G, Natali A, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Spieker LE, Taddei S, Webb DJ; Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *Hypertens.* 2005;23:233-46.

5 Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1986;315:1046-51.

6 Mattila JT, Thomas AC. Nitric oxide synthase: non-canonical expression patterns. *Front Immunol.* 2014;5:478.

7 Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet.* 1992;339:572-5.

8 Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Ann Med.* 2006;38:126-36.

9 Lavi S, Egbarya R, Lavi R, Jacob G. Role of nitric oxide in the regulation of cerebral blood flow in humans: chemoregulation versus mechanoregulation. *Circulation* 2003;107:1901-5.

- 10 Raitakari OT, Celermajer DS. Flow-mediated dilatation. *Br J Clin Pharmacol*. 2000;50:397-404.
- 11 Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, Mitchell GF, Sheffy J, Vita JA, Benjamin EJ. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117:2467-74.
- 12 Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*. 1992;339:572-5.
- 13 Dimitroulas T, Sandoo A, Kitas GD. Asymmetric dimethylarginine as a surrogate marker of endothelial dysfunction and cardiovascular risk in patients with systemic rheumatic diseases. *Int J Mol Sci*. 2012;13:12315-35.
- 14 Zakrzewicz D, Eickelberg O. From arginine methylation to ADMA: a novel mechanism with therapeutic potential in chronic lung diseases. *BMC Pulm Med*. 2009;9:5.
- 15 Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA (1993) Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 88: 2510–6.
- 16 von Haehling S, Bode-Böger SM, Martens-Lobenhoffer J, Rauchhaus M, Schefold JC, Genth-Zotz S, Karhausen T, Cicoira M, Anker SD, Doehner W. Elevated levels of asymmetric dimethylarginine in chronic heart failure: a pathophysiologic link between oxygen radical load and impaired vasodilator capacity and the therapeutic effect of allopurinol. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;88:506-12.
- 17 Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis*. 2001;158:425-30.
- 18 Notsu Y, Nabika T, Bokura H, Suyama Y, Kobayashi S, Yamaguchi S, Masuda J. Evaluation of asymmetric dimethylarginine and homocysteine in microangiopathy-related cerebral damage. *Am J Hypertens*. 2009;22:257-62.

- 19 Farkas J, von Haehling S, Kalantar-Zadeh K, Morley JE, Anker SD, Lainscak M. Cachexia as a major public health problem: frequent, costly, and deadly. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2013;4:173-8.
- 20 Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, Schroedl W, Karhausen T, Doehner W, Rauchhaus M, Poole-Wilson P, Volk HD, Lochs H, Anker SD. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:1561-9.
- 21 Doehner W, Schenkel J, Anker SD, Springer J, Audebert HJ. Overweight and obesity are associated with improved survival, functional outcome, and stroke recurrence after acute stroke or transient ischaemic attack: observations from the TEMPiS trial. *Eur Heart J*. 2013;34:268-77.
- 22 Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993;24:35-41.
- 23 Kasner SE. Clinical interpretation and use of stroke scales. *Lancet Neurol*. 2006;5:603-12.
- 24 Knottnerus IL, Govers-Riemslog JW, Hamulyak K, Rouhl RP, Staals J, Spronk HM, van Oerle R, van Raak EP, Lodder J, ten Cate H, van Oostenbrugge RJ. Endothelial activation in lacunar stroke subtypes. *Stroke*. 2010;41:1617-22.
- 25 Stevenson SF, Doubal FN, Shuler K, Wardlaw JM. A systematic review of dynamic cerebral and peripheral endothelial function in lacunar stroke versus controls. *Stroke*. 2010;41:e434-42.
- 26 Wanby P, Teerlink T, Brudin L, Brattström L, Nilsson I, Palmqvist P, Carlsson M. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a risk marker for stroke and TIA in a Swedish population. *Atherosclerosis*. 2006;185:271-7.
- 27 Rundek T, Hundle R, Ratchford E, Ramas R, Sciacca R, Di Tullio MR, Boden-Albala B, Miyake Y, Elkind MS, Sacco RL, Homma S. Endothelial dysfunction is associated

with carotid plaque: a cross-sectional study from the population based Northern Manhattan Study. *BMC Cardiovasc Disord.* 2006;6:35.

28 Winklewski PJ, Radkowski M, Demkow U. Cross-talk between the inflammatory response, sympathetic activation and pulmonary infection in the ischemic stroke. *J Neuroinflammation.* 2014;11:2.

29 Ryan AS, Dobrovolny CL, Smith GV, Silver KH, Macko RF. Hemiparetic muscle atrophy and increased intramuscular fat in stroke patients. *Arch Phys Med Rehabil.* 2002;83:1703-7.

30 Jørgensen L, Jacobsen BK. Changes in muscle mass, fat mass, and bone mineral content in the legs after stroke: a 1 year prospective study. *Bone.* 2001;28:655-9.

31 Wade DT, Hewer RL. Motor loss and swallowing difficulty after stroke: frequency, recovery, and prognosis. *Acta Neurol Scand.* 1987;76:50-4.

32 Jönsson AC, Lindgren I, Norrving B, Lindgren A. Weight loss after stroke: a population-based study from the Lund Stroke Register. *Stroke.* 2008;39:918-23.

Anteilerklärung

Publikation1:

Scherbakov N, Sandek A, Martens-Lobenhoffer J, Kung T, Turhan G, Liman T, Ebinger M, von Haehling S, Bode-Böger SM, Endres M, Doehner W. Endothelial dysfunction of the peripheral vascular bed in the acute phase after ischemic stroke. *Cerebrovascular Diseases* 2012; **33**:37-46.

Beitrag: Aufklärung und Rekrutierung von Patienten, aktive Durchführung der dargestellten Studienuntersuchungen und kompletten Studiendokumentation, Erstellung der Datenbank, statistische Auswertungen, Interpretation und grafische Darstellung der Daten, Erstellung des Manuskriptes und Begleitung im Begutachtungsprozess

Publikation 2:

Sandek A, Swidsinski A, Schroedl W, Watson A, Valentova M, Herrmann R, **Scherbakov N**, Cramer L, Rauchhaus M, Grosse-Herrenthey A, Krueger M, von Haehling S, Doehner W, Anker SD, Bauditz J. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. *Journal of the American College of Cardiology* 2014; **64**:1092-102.

Beitrag: Durchführung der Studienuntersuchungen bei einem Teil der Studienpatienten, Beteiligung am Vorbereitung und Überarbeitung des Manuskripts

Publikation 3:

Springer J, Schust S, Peske K, Tschirner A, Rex A, Engel O, **Scherbakov N**, Meisel A, von Haehling S, Boschmann M, Anker SD, Dirnagl U, Doehner W. Catabolic signaling and muscle wasting after acute ischemic stroke in mice: indication for a stroke-specific sarcopenia. *Stroke*. 2014; **45**:3675-83

Beitrag: Unterstützung bei der Erstellung des Manuskripts, statistische Auswertungen, Interpretation und grafische Darstellung der Daten, und Begleitung im Begutachtungsprozess

Nadja Scherbakov

Prof. Dr. Dr. Wolfram Döhner

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Nadja Scherbakov, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Parallelen in den metabolischen Charakteristika und der Endothelfunktion bei Patienten mit akutem Schlaganfall und Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz“ 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 beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind.

Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

Datum

Unterschrift

Ausgewählte Publikationen

Publikation 1:

Scherbakov N, Sandek A, Martens-Lobenhoffer J, Kung T, Turhan G, Liman T, Ebinger M, von Haehling S, Bode-Böger SM, Endres M, Doehner W. Endothelial dysfunction of the peripheral vascular bed in the acute phase after ischemic stroke. *Cerebrovascular Diseases* 2012; **33**:37-46.

(<http://dx.doi.org/10.1159/000332809>)

Impact factor: 2.814

Publikation 2:

Sandek A, Swidsinski A, Schroedl W, Watson A, Valentova M, Herrmann R, **Scherbakov N**, Cramer L, Rauchhaus M, Grosse-Herrenthey A, Krueger M, von Haehling S, Doehner W, Anker SD, Bauditz J. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. *Journal of the American College of Cardiology* 2014; **64**:1092-102.

(<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2014.06.1179>)

Impact factor: 15.343

Publikation 3:

Springer J, Schust S, Peske K, Tschirner A, Rex A, Engel O, **Scherbakov N**, Meisel A, von Haehling S, Boschmann M, Anker SD, Dirnagl U, Doehner W. Catabolic signaling and muscle wasting after acute ischemic stroke in mice: indication for a stroke-specific sarcopenia. *Stroke* 2014; **45**:3675-83.

(<http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.006258>)

Impact factor: 6.018

Lebenslauf

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

Publikationsliste

Scherbakov N, Sandek A, Doehner W. Stroke-Related Sarcopenia: Specific Characteristics. *J Am Med Dir Assoc.* **2015**. doi: 10.1016/j.jamda.2014.12.007
Impact factor: 4.781

Springer J, Schust S, Peske K, Tschirner A, Rex A, Engel O, **Scherbakov N**, Meisel A, von Haehling S, Boschmann M, Anker SD, Dirnagl U, Doehner W. Catabolic signaling and muscle wasting after acute ischemic stroke in mice: indication for a stroke-specific sarcopenia. *Stroke.* **2014**;45:3675-83
Impact factor: 6.018

Quarta S, Baeumer BE, **Scherbakov N**, Andratsch M, Rose-John S, Dechant G, Bandtlow CE, Kress M. Peripheral nerve regeneration and NGF-dependent neurite outgrowth of adult sensory neurons converge on STAT3 phosphorylation downstream of neurotrophic cytokine receptor gp130. *J Neurosci.* **2014**;34:13222-33.
Impact factor: 6.747

Scherbakov N, Anker SD, Doehner W. How to determine a metabolically healthy body composition in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* **2014**;64:1182-3.
Impact factor: 15.343

Sandek A, Swidsinski A, Schroedl W, Watson A, Valentova M, Herrmann R, **Scherbakov N**, Cramer L, Rauchhaus M, Grosse-Herrenthey A, Krueger M, von Haehling S, Doehner W, Anker SD, Bauditz J. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. *J Am Coll Cardiol.* **2014**;64:1092-102
Impact factor: 15.343

Doehner W, **Scherbakov N**. Response to the letter to the editor from Xue and Varadhan titled "What is missing in the validation of frailty instruments?" *J Am Med Dir Assoc.* **2014**;15:147.
Impact factor: 4.781

Scherbakov N, Doehner W. Peripheral endothelial dysfunction after subarachnoid haemorrhage: what the fingertips can tell us. *Br J Anaesth.* **2014**;112:205-6.

Impact factor: 4.354

Scherbakov N, von Haehling S, Anker SD, Dirnagl U, Doehner W. Stroke induced Sarcopenia: muscle wasting and disability after stroke. *Int J Cardiol.* **2013**;170:89-94.

Impact factor: 6.175

Szabó T, **Scherbakov N**, Sandek A, Kung T, von Haehling S, Lainscak M, Jankowska EA, Rudovich N, Anker SD, Frystyk J, Flyvbjerg A, Pfeiffer AF, Doehner W. Plasma adiponectin in heart failure with and without cachexia: catabolic signal linking catabolism, symptomatic status, and prognosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* **2014**;24:50-6.

Impact factor: 3.875

Knops M, Werner CG, **Scherbakov N**, Fiebach J, Dreier JP, Meisel A, Heuschmann PU, Jungehülsing GJ, von Haehling S, Dirnagl U, Anker SD, Doehner W. Investigation of changes in body composition, metabolic profile and skeletal muscle functional capacity in ischemic stroke patients: the rationale and design of the Body Size in Stroke Study (BoSSS). *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* **2013**;4:199-207

Impact factor: 7.413

Scherbakov N, Sandek A, Martens-Lobenhoffer J, Kung T, Turhan G, Liman T, Ebinger M, von Haehling S, Bode-Böger SM, Endres M, Doehner W. Endothelial dysfunction of the peripheral vascular bed in the acute phase after ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* **2012**;33:37-46.

Impact factor: 3.698

Scherbakov N, Dirnagl U, Doehner W. Body weight after stroke: lessons from the obesity paradox. *Stroke* **2011**;42:3646-50.

Impact factor: 6.018

Doehner W, **Scherbakov N**, Audebert HJ. Letter by Doehner et al regarding article, "Association between obesity and mortality after acute first-ever stroke: the obesity-stroke paradox". *Stroke* **2011**;42:e395

Impact factor: 6.018

Scherbakov N, Doehner W. Sarcopenia in stroke-facts and numbers on muscle loss accounting for disability after stroke. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* **2011**;2(1):5-8.

Impact factor: 7.413

Andratsch M, Mair N, Constantin CE, **Scherbakov N**, Benetti C, Quarta S, Vogl C, Sailer CA, Uceyler N, Brockhaus J, Martini R, Sommer C, Zeilhofer HU, Müller W, Kuner R, Davis JB, Rose-John S, Kress M. A key role for gp130 expressed on peripheral sensory nerves in pathological pain. *J Neurosci.* **2009**;29:13473-83.

Impact factor: 6.747

Kress M, Karasek J, Ferrer-Montiel AV, **Scherbakov N**, Haberberger RV. TRPC channels and diacylglycerol dependent calcium signaling in rat sensory neurons. *Histochem Cell Biol.* **2008**;130:655-67.

Impact factor: 2.927

Constantin CE, Mair N, Sailer CA, Andratsch M, Xu ZZ, Blumer MJ, **Scherbakov N**, Davis JB, Bluethmann H, Ji RR, Kress M. Endogenous tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) requires TNF receptor type 2 to generate heat hyperalgesia in a mouse cancer model. *J Neurosci.* **2008**;28:5072-81.

Impact factor: 6.747

Hill MM, **Scherbakov N**, Schiefermeier N, Baran J, Hancock JF, Huber LA, Parton RG, Parat MO. Reassessing the role of phosphocaveolin-1 in cell adhesion and migration. *Traffic.* **2007**;8:1695-705.

Impact factor: 4.714

Paschkunova-Martic I, Kremser C, Mistlberger K, **Shcherbakova N**, Dietrich H, Talasz H, Zou Y, Hugl B, Galanski M, Sölder E, Pfaller K, Höliner I, Buchberger W, Keppler B,

Debbage P. Design, synthesis, physical and chemical characterisation, and biological interactions of lectin-targeted latex nanoparticles bearing Gd-DTPA chelates: an exploration of magnetic resonance molecular imaging (MRMI). *Histochem Cell Biol.* **2005**;123:283-301

Impact factor: 2.927

Schramek H, Feifel E, Marschitz I, **Golochtchapova N**, Gstraunthaler G, Montesano R. Loss of active MEK1-ERK1/2 restores epithelial phenotype and morphogenesis in transdifferentiated MDCK cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* **2003**;285:C652-61.

Impact factor: 3.674

Danksagung

Mein Dank gilt vielen Menschen ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre. Ich danke sehr Herrn Prof. Dr. med. Ulrich Dirnagl, Herrn Prof. Dr. med. Matthias Endres und Herrn Prof. Dr. med. Christoph Ploner für die Möglichkeit diese Arbeit in Centrum für Schlaganfallforschung Berlin (CSB) zu verfassen. Ganz besonders danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. med. Wolfram Döhner für die fachlichen Diskussionen, die meinen wissenschaftlichen Werdegang begleitet und entscheidend geprägt haben, sein Vertrauen und kreative Inspiration ohne die diese interdisziplinäre Forschungsarbeit nicht möglich gewesen wäre. Ebenso gilt mein Dank Frau PD Dr. med. Anja Sandek für ihre intensive Unterstützung bei den vielen Fragen die während der Durchführung dieser Arbeit entstanden sind.

Ich danke besonders Herrn Prof. Dr. med. Stefan Anker und Herrn PD Dr. Dr. med. Stephan von Haehling die unmittelbar zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben, indem sie die Studien, die ihren Kern darstellen, mit gestaltet und prägten.

Den Mitarbeitern unserer Arbeitsgruppe danke ich für die konstruktive Zusammenarbeit und das angenehme Arbeitsklima, namentlich danke ich Cornelia Anker, Tarek Bekfani, Monika Diek, Nicole Ebner, Dr. med. Michael Knops, Anja Kresse, Dr. med. Thomas Kung, Ramona Mette, Nancy Neumann, Lisa Steinbeck, Dr. med. Tibor Szabo, Dr. med. Miroslava Valentova und natürlich allen Doktoranden.

Daneben wäre eine solche Arbeit auch nicht möglich ohne die aktive Teilnahme unserer Patienten und Probanden, denen gleichfalls meine Dankbarkeit gilt.

Last but not least gilt mein herzlicher Dank meiner Familie für ihre stetige Unterstützung.