

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen

Abteilung Innere Medizin IV

(Schwerpunkt: Diabetologie, Endokrinologie und Nephrologie)

Reduzierte Insulin-Clearance als unabhängiger Marker der subklinischen Atherosklerose bei Individuen mit erhöhtem Diabetes mellitus-Risiko

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Jakob Maucher**

2021

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. B. Balletshofer

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. R. Schweizer

Tag der Disputation: 20.10.2021

für Ene

und

M. Schlaich,

ohne die diese Arbeit nicht zu Ende gebracht worden wäre

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	4
Tabellenverzeichnis.....	4
Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung und Fragestellung.....	8
1.1 Angiologische Grundlagen	10
1.1.1 Die arterielle Gefäßwand	10
1.1.2 Atherosklerose	13
1.1.2.1 Definition der Atherosklerose.....	13
Definition kardiovaskulärer Erkrankungen	14
1.1.2.2 Geschichte der Atherosklerose.....	14
1.1.2.3 Epidemiologie	15
1.1.2.4 Pathogenese	16
Endotheliale Dysfunktion	16
Die entzündliche Phase	18
Progression der Läsion.....	20
Komplikationen	22
1.1.2.5 Lokalisation.....	24
1.1.2.6 Morphologie.....	25
1.2 Der Intima-Media-Komplex.....	29
1.2.1 Intima-Verdickung	29
1.2.2 Intima-Media-Komplex als Frühmarker von Atherosklerose	29
1.2.3 Sonographie des Intima-Media-Komplexes	31
Messprinzip des Intima-Media-Komplexes	32
1.3. Risikofaktoren der Atherosklerose	34
1.3.1 Alter	35
1.3.2 Geschlecht	35
1.3.3 Positive Familienanamnese	36
1.3.4 Arterielle Hypertonie	36
1.3.5 Dyslipidämie.....	36
1.3.6 Rauchen.....	37
1.3.7 Übergewicht / Adipositas	38
1.3.8 Hyperhomozysteinämie	39
1.3.9 Körperliche Inaktivität.....	39

1.3.10 Psychosozialer Stress.....	39
1.3.11 Das metabolische Syndrom.....	39
1.4 Diabetes mellitus und Atherosklerose.....	41
1.4.1 Epidemiologie.....	41
1.4.2 Insulinresistenz.....	43
1.4.3 Insulin-Clearance.....	45
1.4.3.1 Physiologie der Insulin-Clearance.....	45
1.4.3.2 Einflussfaktoren auf die Insulin-Clearance.....	48
1.4.3.3 Zusammenhänge von Insulin-Clearance und Insulinresistenz.....	49
1.4.4 Pathophysiologische Zusammenhänge zwischen Diabetes mellitus, Hyperinsulinämie und Atherosklerose.....	51
1.4.5 Pathophysiologische Zusammenhänge zwischen Insulin- und Fettstoffwechsel.....	54
1.4.6 Diabetes mellitus und der Intima-Media-Komplex.....	55
2. Probanden, Material und Methodik.....	56
2.1 Probanden und Studiendesign.....	56
2.1.1 Einschlusskriterien.....	57
2.1.2 Ausschlusskriterien.....	57
2.2 Methoden.....	58
2.2.1 Klinische Untersuchung.....	58
2.2.1.1 Körpergröße, Körpergewicht, Body-Mass-Index (BMI).....	58
2.2.1.2 Bauchumfang, Hüftumfang, Waist-to-Hip-Ratio (WHR).....	58
2.2.1.3 Arterieller Blutdruck.....	59
2.2.2 Ultraschall-Untersuchung.....	60
2.2.3 Magnetresonanztomographie.....	62
2.3 Laboruntersuchungen.....	63
2.3.1 Oraler Glukosetoleranztest (oGTT).....	63
2.3.2 Gemessene Laborparameter.....	64
2.3.3 Berechnete Laborparameter.....	65
Homeostasis Model Assessment Test of Insulin Resistance (HOMA-IR).....	65
Insulin-Sensitivity-Index.....	66
Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR).....	66
Insulin-Clearance.....	66
Weitere Parameter.....	67
2.4 Statistische Auswertung.....	67

3. Ergebnisse.....	69
3.1 Anthropometrische und metabolische Daten der gesamten Studienpopulation .	69
3.2 Univariate Analyse möglicher demographischer und metabolischer Einflussfaktoren auf den Intima-Media-Komplex	73
3.3 Multivariate Regressionsanalysen mit Intima-Media-Komplex als unabhängige Variable	75
4. Diskussion	79
4.1 Charakterisierung der Studienpopulation.....	79
4.2 Klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren	80
4.3 Insulin-Clearance.....	82
4.4 Limitationen und Stärken.....	86
5. Zusammenfassung	88
Veröffentlichungen.....	89
Literaturverzeichnis	90
Quellenangaben der Abbildungen.....	108
Quellenangaben der Tabellen	109
Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	111
Danksagung.....	112
Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wandaufbau eines Blutgefäßes am Beispiel einer Arterie vom muskulären Typ 12	
Abbildung 2: NO-Signalkaskade.....	17
Abbildung 3: Beginnende entzündliche Phase und Bildung von fatty streak-Läsionen	19
Abbildung 4: Progression der atherosklerotischen Läsion.....	20
Abbildung 5: Plaquethrombose	23
Abbildung 6: Die 6 Stadien atherosklerotischer Läsionen einer Koronararterie nach Sary et al.	27
Abbildung 7: Evolution und Zusammenhänge atherosklerotischer Läsionen nach Sary et al. 28	
Abbildung 8: Illustration der Korrelation zwischen Anatomie und Ultraschallbild.....	32
Abbildung 9: Schematische Darstellung der Insulin-Clearance in der Leber.....	46
Abbildung 10: Schematische Darstellung des Insulin-Signalwegs in Endothelzellen	52
Abbildung 11: cIMT-Messung mittels Ultraschall.....	61
Abbildung 12: Lineare Korrelation von Insulin-Clearance und cIMT.....	77

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung atherosklerotischer Läsionen der AHA, modifiziert nach Sary.....	26
Tabelle 2: „Unbeeinflussbare“ und „modifizierbare“ CVRF	34
Tabelle 3: Definitionen in Zusammenhang mit Diabetes mellitus	41
Tabelle 4: Einteilung bzw. Bewertung des BMI.....	58
Tabelle 5: Einteilung der arteriellen Hypertonie nach aktueller ESC-Leitlinie	59
Tabelle 6: WHO-Standard des 75g-oralen Glukosetoleranztests (oGTT).....	63
Tabelle 7: Bewertung des HOMA-IR	65
Tabelle 8: Anthropometrische und metabolische Daten der gesamten Studienpopulation.....	70
Tabelle 9: cIMT-Messungen nach Altersklassen	72
Tabelle 10: Univariate Analyse möglicher demographischer und metabolischer Einflussfaktoren auf die cIMT	74
Tabelle 11: Schrittweise multivariate Regressionsanalyse mit cIMT als unabhängiger Variablen	75
Tabelle 12: Multiple lineare Regressionsanalyse mit cIMT als abhängiger Variable	78
Tabelle 13: Erweiterte multiple lineare Regressionsanalyse mit cIMT als abhängiger Variable	78

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACC	Arteria carotis communis
a.e.	am ehesten
AGEs	Advanced Glycation Endproducts (<i>dt.</i> : hoch entwickelte Endprodukte der Glykierung)
AHA	American Heart Association (<i>dt.</i> : amerikanische Herzgesellschaft)
ASCVD	Atherosclerotic Cardiovascular Disease (<i>dt.</i> : atherosklerotische kardiovaskuläre Erkrankung)
AU	<i>hier</i> : Arbitrary Unit (<i>dt.</i> : „willkürliche“ Einheit)
AUC	Area Under the Curve (<i>dt.</i> : Fläche unter der Kurve)
β_{st}	standardisierter beta-Koeffizient bzw. Regressionskoeffizient
BMI	Body-Mass-Index
BWT	Body Weight (<i>dt.</i> : Körpergewicht)
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
CD	Cluster of Differentiation (<i>dt.</i> : „Unterscheidungsgruppen“ [immunphänotypischer Oberflächenmerkmale von Zellen])
CEACAM1	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (<i>dt.</i> : CEA-ähnliches Zelladhäsionsmolekül 1). CEA = carcinoembryonales Antigen
cIMT	Carotid Intima-Media Thickness (<i>dt.</i> : Intima-Media-Dicke der Carotis)
CVRF	kardiovaskulärer Risikofaktor
d.h.	das heißt
dt.	deutsch
eGFR	Estimated Glomerular Filtration Rate (<i>dt.</i> : geschätzte glomeruläre Filtrationsrate)
ehem.	ehemals
engl.	englisch
eNOS	endotheliale NO-Synthase
ET-1	Endothelin-1
et al.	et alii (<i>dt.</i> : und andere)
etc.	et cetera (<i>dt.</i> : und die übrigen [Dinge])
FPG	Fasting Plasma Glucose (<i>dt.</i> : Nüchtern glukose im Plasma)
FPI	Fasting Plasma Insulin (<i>dt.</i> : Nüchtern insulin im Plasma)
g	Gramm
h	Stunde
HbA1c	glykiertes Hämoglobin A1

HDL	High-Density Lipoprotein
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (<i>dt.</i> : Beurteilung des Homöostasemodells der Insulinresistenz)
hsCRP	hochsensitives C-reaktives Protein
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (<i>dt.</i> : internationale statistische Einteilung von Krankheiten und begleitenden Gesundheitsproblemen)
IFG	Impaired Fasting Glucose (<i>dt.</i> : gestörte Nüchtern glukose)
IGT	Impaired Glucose Tolerance (<i>dt.</i> : gestörte Glukosetoleranz)
IL-6	Interleukin-6
IMT	Intima-Media Thickness (<i>dt.</i> : Intima-Media-Dicke)
IR	Insulin-Rezeptor
IRS	Insulin-Rezeptor-Substrat
ISI-Mats	Insulin-Sensitivity-Index nach Matsuda
kg	Kilogramm
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-Density Lipoprotein
m	Meter
m ²	Quadratmeter
MAP-Kinase	Mitogen-activated Protein-Kinase (<i>dt.</i> : Mitogen-aktivierte Proteinkinase)
MDRD-Formel	Modification of Diet in Renal Disease-Formel (<i>dt.</i> : Formel nach "Änderung der Ernährung bei Nierenerkrankungen"), ehemaliger Studienname
4v-MDRD	MDRD mit 4 Variablen
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
MHz	Megahertz
μmol/l	Mikromol pro Liter
μU/ml	Mikrounits pro Milliliter
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mmol/l	Millimol pro Liter
n	Anzahl
NGT	Normal Glucose Tolerance (<i>dt.</i> : normale Glukosetoleranz)
NO	Stickstoffmonoxid
o.g.	oben genannt
oGTT	oraler Glukosetoleranztest

oxLDL	oxidiertes Low-Density-Lipoprotein
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
pg/ml	Pikogramm pro Milliliter
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
pmol/l	Pikomol pro Liter
ROS	Reactive Oxygen Species (<i>dt.</i> : Sauerstoffradikale)
RR _{diast}	diastolischer Blutdruck
RR _{syst}	systolischer Blutdruck
S.	Seite
S _{Cr}	Serum-Kreatinin
sog.	sogenannt
t	Zeit
Tab.	Tabelle
TNF α	Tumornekrosefaktor- α
TULIP	TUebinger Lebensstil-Interventions-Programm-Studie
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
VAT	Visceral Adipose Tissue (<i>dt.</i> : viszerales Fettgewebe)
VCAM	Vascular-Cell Adhesion Molecule (<i>dt.</i> : vaskuläres Zelladhäsionsmolekül)
vgl.	vergleiche
WHO	World Health Organisation (<i>dt.</i> : Weltgesundheitsorganisation)
WHR	Waist-to-hip Ratio (<i>dt.</i> : Taille-Hüft-Verhältnis)
z.B.	zum Beispiel

1. Einleitung und Fragestellung

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen weltweit weiterhin die Haupttodesursache dar. Im Zeitraum von 2007-2017 nahmen sowohl die Todesfälle, die auf kardiovaskuläre Erkrankungen zurückzuführen waren, als auch jene, die dem Diabetes mellitus zugeschrieben wurden, signifikant zu [1], [2].

Im Jahre 2013 hatte sich die Weltgesundheitsorganisation (WHO) in ihrem „Global Action Plan for the Prevention and Control of noncommunicable disease“ (dt.: Globaler Aktionsplan zur Prävention und Kontrolle nicht übertragbarer Erkrankungen) auf Ziele zur Reduktion der Sterblichkeit aufgrund nicht übertragbarer Erkrankungen geeinigt. Diese Ziele sehen eine Reduktion des relativen Risikos an kardiovaskulären Erkrankungen zu versterben um 25% bis zum Jahr 2025 vor [3].

Von großer Relevanz ist also nicht nur die Behandlung von Komplikationen der Atherosklerose, sondern vor allem die Prävention atherogener Risikofaktoren. Betont werden muss hier der Risikofaktor Diabetes mellitus, zumal die Prävalenz des Diabetes mellitus weltweit steigt und das attributive Risiko des Diabetes mellitus hinsichtlich kardiovaskulärer Erkrankungen weiter zunimmt [4], [5].

Um dies zu erreichen sind ein verbessertes Identifizieren individueller kardiovaskulärer Risikoprofile, eine zielstrebige Behandlung von Risikofaktoren sowie Einleitung primärprophylaktischer Maßnahmen und eine effektive Früherkennung atherosklerotischer Veränderungen notwendig [6].

Der Diabetes mellitus gilt allgemein als etablierter Risikofaktor kardiovaskulärer Erkrankungen. Bekannt ist eine signifikante Korrelation von Nüchtern glukose sowie HbA1c und subklinischer Atherosklerose [7], [8]. Inwiefern auch bereits prädiabetische Stoffwechsellagen mit subklinischer Atherosklerose einhergehen ist weniger gut untersucht. Die Arbeit gibt einen Überblick über die pathophysiologischen Zusammenhänge und nimmt dann den relativen Beitrag von glykämischen Parameter und frühen Insulinindizes, inklusive der Insulin-Clearance, zur subklinischen Atherosklerose in den Blick. Dabei werden eine Fülle an funktionellen und metabolischen Parameter sowie andere klassische

kardiovaskuläre Risikofaktoren (CVRF) untersucht. In den vergangenen Jahrzehnten hat sich die Messung des Intima-Media-Komplexes an der A. carotis communis zu einer evidenzbasierten Methode entwickelt [9]. Die Messung wird als Screeningverfahren hinsichtlich früher atherosklerotischer Veränderungen bzw. subklinischer Atherosklerose befürwortet [10]. Die Messung des Intima-Media-Komplexes dient daher in dieser Arbeit als Surrogatparameter für die subklinische Atherosklerose [11].

1.1 Angiologische Grundlagen

1.1.1 Die arterielle Gefäßwand

Histologisch betrachtet besteht die Gefäßwand aus 3 voneinander zu unterscheidenden und konzentrisch angeordneten Schichten (vgl. Abb. 1). Diese umfassen von innen nach außen:

- Tunica interna („Intima“), bestehend aus
 - Endothel
 - Basalmembran und subendotheliales Bindegewebe
 - Membrana elastica interna
- Tunica media („Media“)
- [Membrana elastica externa]
- Tunica externa („Externa“ oder „Adventitia“)

Das Endothel besteht aus einer Lage ovaler, spindelförmiger, im Gefäßverlauf ausgerichteter Zellen. Es bildet die Grenzschicht des Gefäßes zum Blutstrom und weist, je nach Lokalisation, unterschiedliche Charakteristika auf [12]. Die Endothelzellen stellen nicht nur eine mechanische Barriere dar, sondern weisen auch verschiedenste funktionelle Eigenschaften auf. So spielen sie eine gewichtige Rolle in der Zelladhäsion (durch Synthese von Fibronectin) und Permeabilität von Substanzen und Zellen aus dem Blutstrom in das umliegende Stroma. Außerdem können sie beispielsweise die Vasomotorik sowohl konstriktorisch als auch dilatatorisch beeinflussen [13]. Zudem sezernieren sie eine Reihe von Faktoren, wie z.B. Plasminogenaktivatoren (Serinproteasen), plättchenaktivierende Faktoren und den von-Willebrandt-Faktor, die gerinnungshemmende und -fördernde Effekte aufweisen [14]–[17].

Die Tunica media setzt sich aus elastischen und kollagenen Fasern, sowie zirkulär angeordneten glatten Muskelzellen zusammen. Je nach Lokalisation in der Blutbahn weist sie histologische Besonderheiten auf. Die großen, herznahen Arterien enthalten einen hohen Anteil elastischer Fasern. Diese sind für das sogenannte „Windkessel-Phänomen“ verantwortlich und gewährleisten durch eine passive Dehnung in der Systole sowie das Retraktionsbestreben in der

Diastole, ein Abdämpfen der Druck- und Strömungsspitzen der Systole und vermitteln somit insgesamt einen kontinuierlichen Blutfluss. Sie werden auch „Arterien vom elastischen Typ“ genannt. In herzfernen Gefäßen, welche überwiegend eine Transportfunktion erfüllen, enthält die Media mehr glatte Muskelzellen, welche für die Regulation des Gefäßtonus wichtig sind. Hier spricht man von „Arterien vom muskulären Typ“ (vgl. Abb. 1). Die Membrana elastica externa ist lediglich bei Arterien vom muskulären Typ deutlich ausgeprägt, bei Venen beispielsweise fehlt sie fast gänzlich.

Die Tunica adventitia ist überwiegend aus kollagenen Faserelementen aufgebaut. Sie dient der Einbettung des Gefäßes in das umliegende Gewebe. In dieser Schicht verlaufen vegetative Nervenfasern zur Regulation der Gefäßweite und je nach Größe des Gefäßes auch versorgende, kleine Blutgefäße, die sogenannten Vasa vasorum. Bei kleineren Blutgefäßen erfolgt die Versorgung direkt aus dem Lumen.

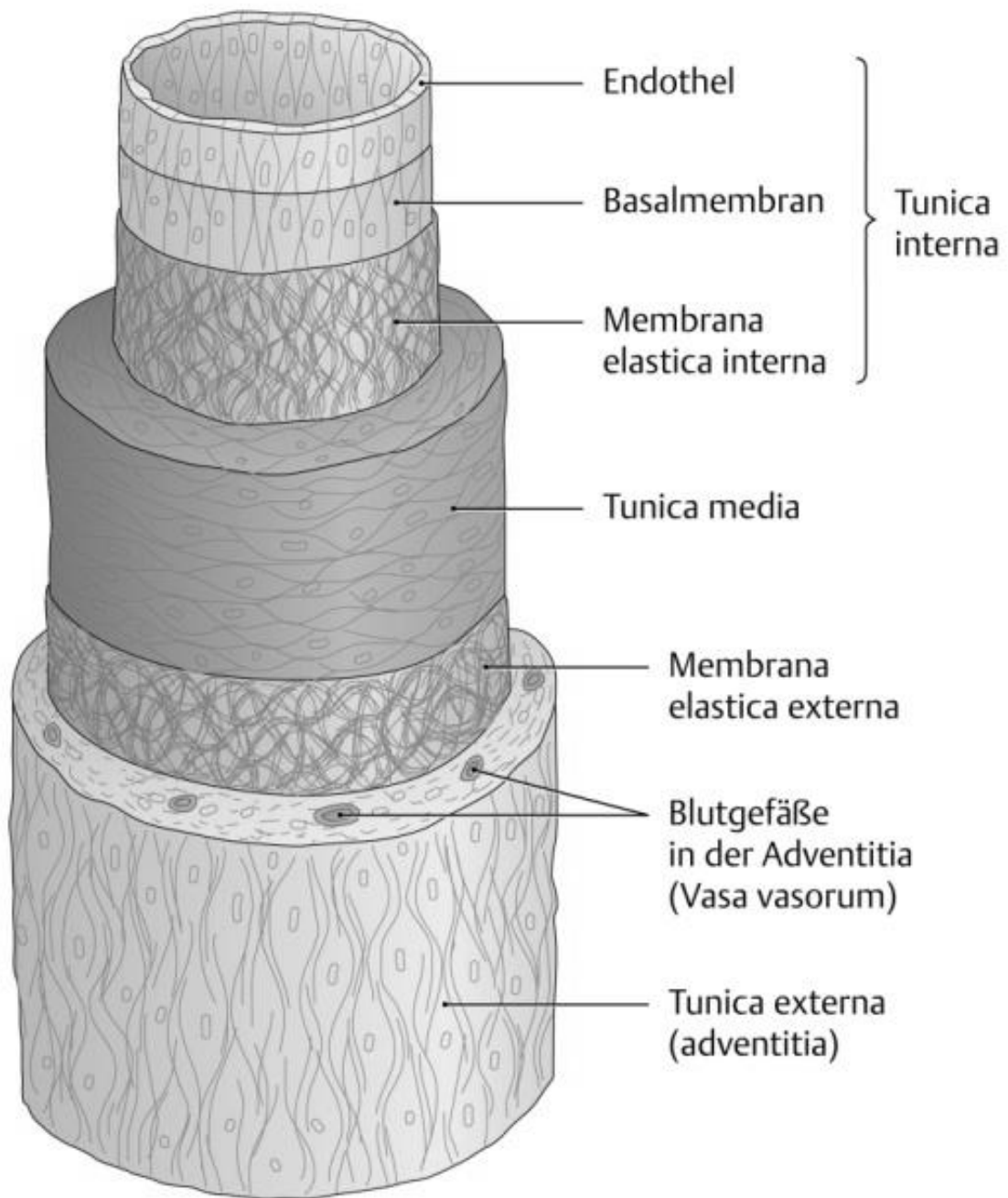


Abbildung 1: Wandaufbau eines Blutgefäßes am Beispiel einer Arterie vom muskulären Typ

1.1.2 Atherosklerose

1.1.2.1 Definition der Atherosklerose

Im deutschen Sprachgebrauch wird synonym zu „Atherosklerose“ auch häufig der Begriff „Arteriosklerose“ verwendet. Unter der „Arteriosklerose“ versteht man streng genommen, ganz im eigentlichen Wortsinn, die Verhärtung bzw. Versteifung der arteriellen Gefäßwand. Die „Arteriosklerose“ stellt somit einen rein deskriptiven Überbegriff dar. Es lassen sich neben der „Atherosklerose“, auch die Mediasklerose (Mönckeberg-Sklerose), welche prinzipiell nicht zu einer Stenosierung des Gefäßlumens führt [18] und die „Arteriolsklerose“, eher histo-pathologisch relevant, subsumieren.

Unter dem Begriff der Atherosklerose versteht man generell die durch degenerative Prozesse hervorgerufenen Veränderungen der Arterienwand, speziell der Intima. Laut WHO-Definition handelt es sich um eine „variable Kombination von Intimaveränderungen, bestehend aus herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut- und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterienmedia.“ [19]

Neben strukturellen Veränderungen werden aber auch funktionelle Störungen der Gefäßwand, v.a. des Endothels, für die Entstehung von atherosklerotischen Zonen verantwortlich gemacht (vgl. 1.1.2.4). In Summe führt dies initial zu einer „extraluminalen“ Verdickung der Arterienwand ohne Beeinträchtigung des Blutflusses. Im weiteren Krankheitsverlauf kann der Prozess das Lumen zunehmend einengen und so zu einer arteriellen Engstelle (Stenose) oder einem Verschluss (Okklusion) führen. Kommt es zur Aktivierung der Gerinnung im Bereich atherosklerotischer Läsionen ist oft ein akuter thrombotischer Verschluss mit Minderversorgung des Gewebes im weiteren Gefäßverlauf die Folge. Auch kann es ausgehend von atherosklerotischen Läsionen zu Streuungen von thrombotischem Material in die distal gelegeneren Gefäßanteile kommen, man spricht dann von arterio-arterieller Embolie [20], [21].

Definition kardiovaskulärer Erkrankungen

Die Summe der Erkrankungen, welche aus atherosklerotischen Prozessen resultieren, werden im weitesten Sinne als „kardiovaskuläre Erkrankungen“ bezeichnet. Im englischen Sprachgebrauch hat sich der Begriff der „Atherosclerotic Cardiovascular Disease“ (ASCVD, *kurz: CVD*) etabliert.

Zu den wichtigsten Manifestationen zählen die Koronare Herzkrankheit (KHK), die zerebrale arterielle Verschlusskrankheit und die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK).

Komplizierend können durch thrombotische Akutereignisse prinzipiell lebensbedrohliche Situationen auftreten. Hierzu zählen z.B. der Myokardinfarkt, der ischämische Schlaganfall (arterio-arteriell oder kardio-embolisch, z.B. bei Vorhofflimmern) und der Mesenterialinfarkt. Aufgrund von arterio-arteriellen Embolien, ausgehend z.B. von atherosklerotischen Läsionen der A.carotis, kann ein ischämischer Schlaganfall ausgelöst werden. Seltener sind hier bei hämodynamisch relevanten Stenosen durch Minderperfusion bedingte Infarkte. Auf mikroangiopathischer Ebene ist die Entität der lakunären Infarkte zu nennen. Das klinische Bild einer transitorisch ischämischen Attacke wird ebenfalls dem Überbegriff der ASCVD zugerechnet. Auch eher chronische Zustände, wie die ischämische Kardiomyopathie oder die vaskuläre Demenz, gehören formal zum Kreis der ASCVD [20], [21].

1.1.2.2 Geschichte der Atherosklerose

Seit dem 19. Jahrhundert entwickelten sich verschiedene Modelle und Theorien zur Entstehung der Atherosklerose. Während am Anfang eher physikalisch-mechanische Modelle dominierten, führte Marchand auf dem Kongress der Inneren Medizin 1904 in Leipzig die degenerative Entstehung und den Begriff der „Athero-Sklerose“ ein. Er sagte: *„Wir werden zur Arteriosklerose im weiteren Sinne alle diejenigen Veränderungen der Arterien zu rechnen haben, die zu einer Verdickung der Wand, besonders der Intima führen, in deren Entwicklung degenerative Veränderungen (fettige Entartung mit ihren Folgen), Sklerosierung*

und Verkalkung (mit Einschluss der Verkalkung der Media), aber auch entzündliche und produktive Prozesse auftreten.“ [22] Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurden eine Vielzahl von Tierexperimenten zur Atheroskleroseentstehung durchgeführt. Anitschkow sprach dem Cholesterin die zentrale Rolle bei der Entstehung der fettigen Läsionen zu und postulierte einen infiltrativen Prozess [23]. In den 40er und 50er Jahren des 20. Jahrhunderts begründete Duguid die Verdickung der Intima erstmals mit einer Ablagerung thrombotischen Materials [24]. In den 1970er Jahren richtete sich die Aufmerksamkeit, aufgrund der Fortschritte in der Zytologie, vermehrt auf die zellulären Komponenten und hier v.a. auf die glatten Muskelzellen. Ross schließlich entdeckte den Platelet-derived Growth Factor, der die Migration von glatten Muskelzellen in die Intima bewirkt und welchen er ursprünglich nur mit Thrombozyten in Verbindung brachte. Hierauf fußte er auch seine Response-to-Injury-Theorie [25] der Atheroskleroseentstehung, die er im Laufe der Jahrzehnte immer wieder erweiterte und modifizierte. Er setzte die Grundlage für ein entzündungsbasiertes Erklärungsmodell [26], [27].

1.1.2.3 Epidemiologie

Die Atherosklerose stellt die Hauptursache kardiovaskulärer Erkrankungen dar. Heutzutage werden kardiovaskuläre Ursachen weltweit für circa ein Drittel aller Todesfälle verantwortlich gemacht [2]. In der Global Burden of Disease Study 2017 zählen die koronare Herzkrankheit (KHK) und der Schlaganfall zu den häufigsten Todesursachen, sowohl in Industrie- als auch Entwicklungsländern [2], wenn auch in Industrieländern eine Abnahme der Inzidenz und Sterblichkeit aufgrund von KHK und Schlaganfall zu verzeichnen ist [28]. Im Bericht der Todesursachen des Jahres 2015 des Statistischen Bundesamtes rangieren Erkrankungen des Kreislaufsystems mit 38,5% nach wie vor an erster Stelle. KHK und akuter Myokardinfarkt waren 2015 die häufigsten Todesursachen in Deutschland nach dem International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD)-10-Code [1]. Unter den relevantesten Risikofaktoren für die Disability-Adjusted Life Year-Berechnung in der Global Burden of

Disease Study 2015 tauchen mit erhöhtem Blutdruck, Rauchen, erhöhtem Body-Mass-Index (BMI), erhöhte Nüchtern glukose und erhöhtem Cholesterin wesentliche Risikofaktoren für die Entstehung der Atherosklerose auf [29].

1.1.2.4 Pathogenese

Endotheliale Dysfunktion

Dem Endothel kommt eine Schlüsselposition bei der Entstehung der Atherosklerose zu. Durch vielfältigste Mechanismen moduliert es vaskuläre Komponenten wie Vasomotorik, Permeabilität, Gerinnung, Inflammation und Zellwachstum [17], [30], [31]. Auf eine Reihe schädlicher Stimuli reagiert das Endothel mit Umbauprozessen, welche zu einer Störung der physiologischen Funktion, der sogenannten endothelialen Dysfunktion, führt. Biochemisch ist diese unter anderem mit einer Verminderung der Stickstoffmonoxid (NO)-Konzentration gleichzusetzen. Bei seiner Entdeckung wurde NO noch als Endothelium-derived Relaxing Factor bezeichnet, was auf seinen wichtigsten physiologischen Mechanismus, die Vasodilatation, zurückgeht. [32], [33]

NO wird von der endothelialen NO-Synthase (eNOS) in Endothelzellen selbst gebildet. Stärkste Stimuli der NO-Abgabe sind Adenosindiphosphat und Serotonin, wie sie beispielsweise bei der Aggregation von Thrombozyten anfallen. NO vermittelt über die Aktivierung der zytosolischen Guanylatzyklase die Synthese von zyklischem Guanosinmonophosphat. Hierauf reagiert das Gefäß mit einer Dilatation und folglich Erhöhung des Blutflusses. Die Wirkung von NO wird beispielsweise durch Scherstress an der Gefäßwand [34], Östrogene, Insulin und diätetische Faktoren (z.B. omega3-Fettsäuren, Flavonoide und Polyphenole aus Rotwein, Grünem Tee und dunkler Schokolade) potenziert [35], [36]. Neben NO führen auch die von Endothelzellen gebildeten Moleküle Endothelium-derived Hyperpolarizing Factor und Prostacyclin zu einer Relaxation der glatten Muskelzellen in der Media und folglich einer Dilatation des Gefäßes [17].

NO besitzt, neben der Vorbeugung übermäßiger Gefäßkontraktion, weitere protektive Wirkungen (vgl. Abb. 2). So hemmt es die Aggregation von Thrombozyten [37], die Proliferation von glatten Muskelzellen in der Gefäßwand [38] und die Oxidation von LDL [39]. Weiter verhindert es die Expression von Adhäsionsmolekülen (z.B. Vascular-Cell Adhesion Molecule (VCAM)), was eine reduzierte Bindung und Penetration von Monozyten zur Folge hat [35].

Fällt also die protektive Wirkung von NO weg, ist der Weg frei für die inflammatorische Antwort, die schlussendlich zur Atherosklerose führt [40].

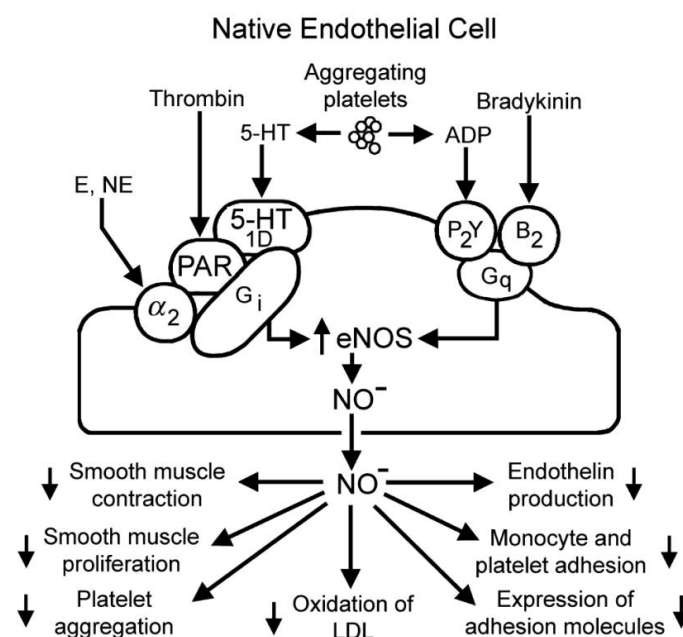


Abbildung 2: NO-Signalkaskade

die zur Abgabe von NO und davon vermittelten physiologischen Wirkungen führt.

5-HT: Serotonin; **ADP:** Adenosindiphosphat; **B:** Bradykininrezeptor; **E:** Epinephrin/Adrenalin; **eNOS:** endotheliale NO-Synthase; **G:** Guanosintriphosphat-bindendes Protein; **NE:** Norepinephrin/Noradrenalin; **NO:** Stickstoffmonoxid; **P:** Purinrezeptor; **PAR:** Protease-aktivierter Rezeptor

Eine NO-Verminderung resultiert einerseits aus einer reduzierten Bildung, andererseits aus einem erhöhten Verbrauch, oder aus beidem. Superoxid-Anionen, also freie Sauerstoffradikale (*engl.:* Reactive Oxygen Species (ROS)), die durch verschiedene Enzyme im Endothel anfallen, führen direkt durch Reaktion mit NO zu Peroxynitrit und somit zu einem Verbrauch von NO. Die Produkti-

on von ROS nimmt mit dem Alter zu. Weiter führen im Alter unterschiedliche Mechanismen zur weniger NO-Wirkung am Endothel: erhöhte Arginase-Aktivität (Arginin ist gemeinsames Substrat mit der eNOS), insgesamt reduzierte eNOS-Expression und insgesamt geringere Enzymaktivität [35]. Rauchen, oxidierte Low-Density Lipoproteinen (LDLs) sowie Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Homozysteinämie [41], Hypercholesterinämie und arterielle Hypertonie [42] reduzieren die Abgabe von NO aus dem Endothel [35].

Auch werden infektiöse Ursachen, wie z.B. Zytomegalie-Virus oder Chlamydia pneumoniae, für die Initiierung bzw. Unterstützung des pro-inflammatorischen Prozesses diskutiert [26], [43]. Ein endgültiger Beweis in vivo steht allerdings noch aus [44].

Die entzündliche Phase

Als Folge der endothelialen Dysfunktion wird ein proinflammatorischer Zustand erreicht. Durch die gestörte Endothelbarriere gelangen, v.a. bei Hyperlipidämie, Lipoproteine in den subendothelialen Raum. Dort akkumuliert LDL-Cholesterin und wird von Enzymen und ROS oxidativ modifiziert, man spricht dann von oxLDL [45], [46]. Gemeinsam mit der Verminderung von NO ist es dafür verantwortlich, dass die Endothelzellen vermehrt Leukozytenadhäsionsmoleküle exprimieren. Darunter finden sich P- und E-Selektine, Intercellular Adhesion Molecule-1 und v.a. VCAM-1, sowie C-C-Chemokine Rezeptor-2 [24]. Diese binden selektiv Monozyten und T-Lymphozyten. Außerdem regt oxLDL Endothelzellen zur Sekretion von Monocyte Colony-stimulating Factor und Monocyte Chemotactic Protein-1 an [47], [48]. Aufgrund von Chemokinen, v.a. oxLDL und Monocyte Chemotactic Protein-1 [49], [50], welches von Monozyten selbst, Endothel- und glatten Muskelzellen sezerniert wird, migrieren die Leukozyten in die Intima (vgl. Abb. 3). Dort differenzieren sich die Monozyten durch Monocyte Colony-stimulating Factor in sessile Gewebsmakrophagen um. Monocyte Colony-stimulating Factor führt auch zur Expression von sog. Scavenger-Rezeptoren, hier Scavenger-Rezeptor-A und CD36 [51], und sog. Toll-like-Rezeptoren [52]. Mit den Scavenger-Rezeptoren ist es den Makrophagen möglich oxLDL-Cholesterin aufzunehmen. Im Gegensatz zum nativen LDL-Rezeptor

werden die Scavenger-Rezeptoren aber nicht mit steigendem intrazellulären Cholesterin herunter reguliert [27]. Aufgrund der in der Histologie gut sichtbaren Fettvakuolen werden die Gewebsmakrophagen als "Schaumzellen" bezeichnet. Diese bilden die charakteristischen Zellen der atherosklerotischen Frühläsion, welche auch fatty streak-Läsion genannt wird. Über die Toll-like-Rezeptoren können die Makrophagen Lipopolysaccharide, Hitzeschockproteine und oxLDL binden und so weitere Entzündungsmediatoren, wie z.B. Interleukin-12 für die T-Zell-Aktivierung, freisetzen. Gleichzeitig exprimieren sie Major Histocompatibility Complex-Klasse-II-Proteine, die für die Antigenpräsentation und Aktivierung von T-Helferzellen nötig sind [52]. Aktivierte Typ 1-T-Helferzellen produzieren eine Reihe inflammatorischer Zytokine, wie Interferon- γ und Tumornekrosefaktor- α (TNF α) und exprimieren CD40-Ligand auf ihrer Oberfläche. Hiermit ist wiederum eine Verstärkung der Makrophagenaktivierung, sowie z.B. die Sekretion von Matrix-Metalloproteasen möglich [52], [53], [54]. Außerdem stimulieren T-Zellen über den CD40-Mechanismus Endothelzellen zur verstärkten Expression von Adhäsionsmolekülen. Allerdings geben T-Helferzellen mit Interleukin-10 und Transforming Growth Factor β auch anti-inflammatorische Zytokine ab [52].

Die fehlende Down-Regulation der LDL-Aufnahme in Makrophagen führt zu einem „Überfressen“ und schlussendlich zu Apoptose. Der zurückbleibende Lipiddetritus bildet den Ursprung für den lipidreichen Kern der Läsion [50].

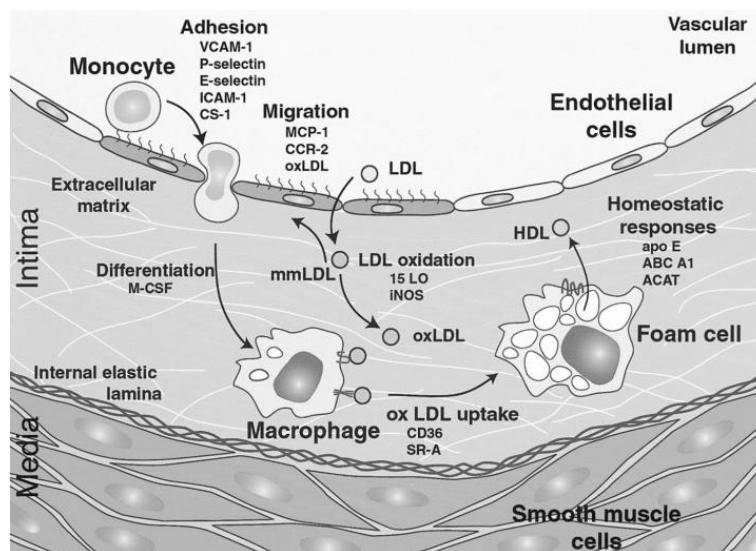


Abbildung 3: Beginnende entzündliche Phase und Bildung von fatty streak-Läsionen

Mit Hilfe von High-Density Lipoproteinen (HDLs) haben (Gewebs-)Makrophagen die Möglichkeit überschüssiges Cholesterin nach intraluminal abzugeben, welches dann zurück zur Leber transportiert wird. Dieser Vorgang wird als reverser Cholesterintransport bezeichnet [55], [56]. Dies erklärt - zumindest teilweise - die inverse Beziehung von HDL-Konzentration und Atheroskleroserisiko [56].

Progression der Läsion

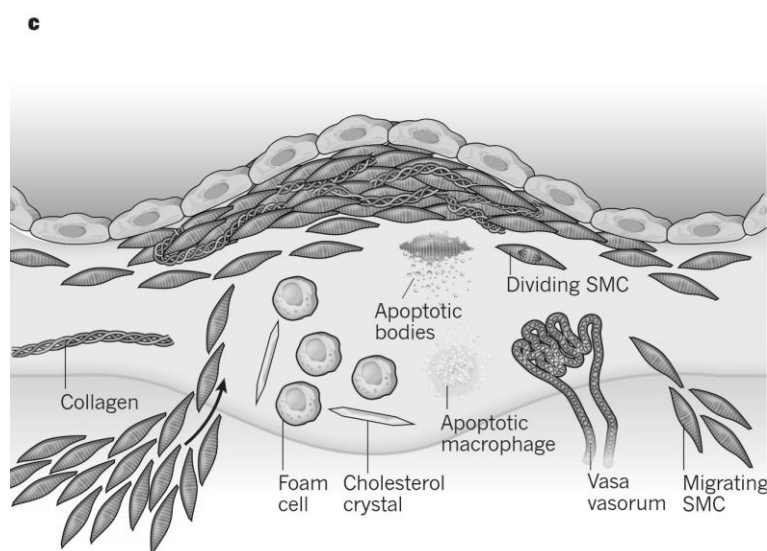


Abbildung 4: Progression der atherosklerotischen Läsion

Im weiteren Verlauf migrieren weitere glatte Muskelzellen aus der Media in die Intima. Dieser Vorgang wird von NO und Transforming Growth Factor β gesteuert [40], [57]. Außerdem sind Interleukin-1 β , TNF- α , Interferon- γ und Macrophage Migration Inhibitory Factor beteiligt [58]. Interleukin-10 hingegen reduziert die Akkumulation der glatten Muskelzellen in der Intima [58]. Die von Makrophagen sezernierten Matrix-Metalloproteasen können durch Auflösen der Basalmembran ein erleichtertes Wandern der glatten Muskelzellen ermöglichen [59]. In der Intima produzieren sie extrazelluläre Matrix, welche aus Proteoglykanen, Kollagen und Elastin besteht [60]. Sie bilden somit eine Art „fibröse Kappe“, um den Lipidkern und apoptotisches Material vor Kontakt mit Blutbestandteilen und folgender Gerinnung abzusichern [57], [59], [61]. Dies

kann primär also als schützende Tendenz gewertet werden. In diesem Stadium spricht man bei der Läsion auch von einer „atherosklerotischen Plaque“ und der Läsionskern wird auch als „Atherom“ bezeichnet. Allerdings exprimieren die glatten Muskelzellen genauso wie Gewebsmakrophagen Scavenger-Rezeptoren, nehmen oxLDL auf und werden zu Schaumzellen [58], [62]. Da diese in der Folge kaputt gehen, bildet sich der Lipidkern zunehmend in einen nekrotischen Kern mit Zellrückständen und Cholesterinkristallen um (vgl. Abb. 4) [60].

Oft kalzifizieren die Plaques. Die Wahrscheinlichkeit der Kalzifizierung steigt mit zunehmendem Alter [63], [64]. Läsionen mit großen Kalkablagerungen scheinen eher mit stabiler Angina pectoris, weniger kalzifizierte Plaques mit akutem Koronarsyndrom einherzugehen [65].

In fortgeschrittenen Läsionen finden sich häufig auch Neovaskularisationen aus den Vasa vasorum der Adventitia (vgl. Abb. 4). Dabei spielt Hypoxie, die mit der Plaquedicke (verminderte Sauerstoffzufuhr) und dem Ausmaß der Entzündung (erhöhter Sauerstoffbedarf) korreliert, über den Hypoxia-inducible Factor die Hauptrolle [66]. Die Neovaskularisationen scheinen eine tragende Rolle bei der Unterhaltung der Inflammation zu erfüllen [63]. Außerdem führen Hämorrhagien aus den unreifen Gefäßen, vermittelt über die Erythrozytenmembranreste, zu einer weiteren Progression und Destabilisierung der Läsion [67], [68].

In den Randgebieten der Läsion, der sog. „Schulterregion“ sammeln sich die aktivierten Immunzellen und sezernieren proinflammatorische Zytokine, die die Gewebestruktur der Läsion weiter abschwächen und vergrößern. Makrophagen degradieren die Läsion durch Phagozytose, Sekretion von proteolytischen Enzymen und Matrix-Metalloproteasen weiter [69]. Auch spielen aktivierte Mastzellen bei der Sekretion von Matrix-Metalloproteasen eine große Rolle. Die inflammatorische Aktivität wird überwiegend über den CD40-Mechanismus mediiert, welcher nicht nur zur Sekretion von Matrix-Metalloproteasen, sondern auch von Tissue Factor (*dt.*: Gewebefaktor, synonym: Faktor III, Gewebethromboplastin) und damit erhöhter Thrombogenität führt [70]. Außerdem sind sie über die Fas-Rezeptor/Fas-Ligand-Interaktion oder Sekretion von TNF- α an der

Apoptose von glatten Muskelzellen in der Schulterregion der Plaque beteiligt [54], [71]. Beim Fas-Rezeptor oder CD95 handelt es sich um einen Rezeptor aus der TNF-Rezeptor-Familie, sein natürlicher Ligand, der Fas-Ligand, gehört zu der TNF-Superfamilie der Zytokine. So kommt es in der Schulterregion zu einem „Übergewicht“ an proinflammatorischen Zellen gegenüber den stabilisierenden glatten Muskelzellen. Auch hindern diese, vermittelt über Interferon- α , die glatten Muskelzellen an der Kollagensynthese [72]. Diese Konstellation begünstigt eine Plaqueruptur [73]. Insgesamt lassen sich also 3 Kriterien für ein erhöhtes Rupturrisiko definieren: (1) Größe des Lipidkerns, (2) Entzündung mit Plaquedegradation und (3) gestörte oder fehlende Regenerationstendenz der glatten Muskelzellen [69]. Zu der ungünstigen Gewebekonstellation im Schulterbereich einer atherosklerotischen Läsion kommt außerdem die Tatsache, dass der mechanische Stress in dieser Region am höchsten ist [74], [75].

Komplikationen

Komplizierend kann sich an der atherosklerotischen Läsion ein aufsitzender Thrombus mit konsekutiver Lumeneinengung bilden. Dabei kommen zwei Mechanismen als Ursache in Frage: eine Endotheldenudation, also Endothelerosion mit Freilegung der subendothelialen Schichten, oder die Plaqueruptur [76].

Rupturiert eine Plaque und/oder kommt das Blut mit den thrombogenen Bestandteilen (Tissue Factor, Kollagen, etc.) in Kontakt wird der extrinsische Weg der Gerinnungskaskade aktiviert [40], [76]. Die Gerinnungsreaktion hängt dabei von folgenden Faktoren ab: den Gerinnungssubstraten (z.B. Tissue Factor), lokaler Flussbehinderungen (z.B. Stenosen) und systemischer Gerinnungsneigung [69]. Aufgrund von Thrombozytenaktivierung und Thrombinformation, sowie Ausdehnung des Thrombus ins Gefäßlumen kann es zu einem plötzlichen Verschluss kommen [77]. Die Thrombusbildung läuft dabei in mehreren Schritten ab: nach Freiliegen des Lipidkerns lagern sich überwiegend Thrombozyten in der Plaque selbst und dem Lipidkern an. Beim Fortschreiten und „Hineinwachsen“ ins Lumen erhöht sich der Fibringehalt, wobei die Oberfläche weiterhin von aktivierten Thrombozyten bedeckt wird (vgl. Abb. 5). Aufgrund des per-

sistierenden, antegraden Flusses kann es zu Mikroembolien in den distalen Gefäßabschnitten kommen. Schlussendlich werden Erythrozyten in das Fibringeflecht eingewoben. [76]

Die intermittierend auftretenden Episoden bei instabiler Angina pectoris werden pathophysiologisch verschiedenen möglichen Szenarien, wie Zu-/Abnahme des Thrombus, Vasokonstriktion und/oder Mikroembolien im distalen Gefäßabschnitt zugeschrieben [76].

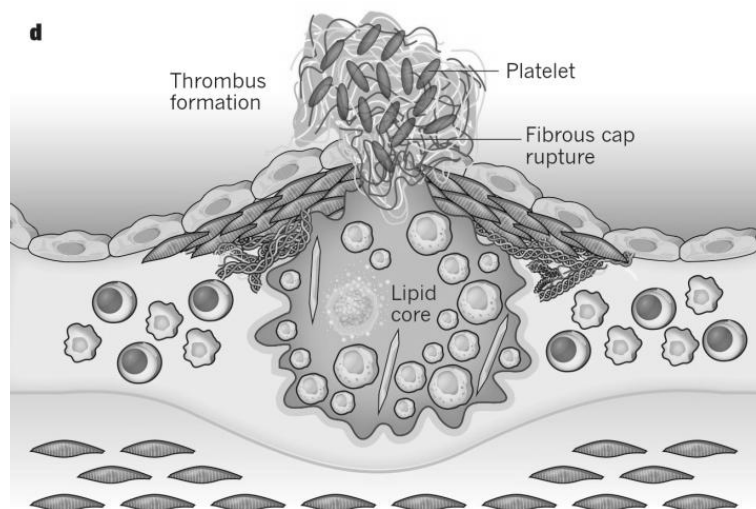


Abbildung 5: Plaquethrombose

1.1.2.5 Lokalisation

Die vorangegangenen Überlegungen führen zu der Erkenntnis, dass eine Vielzahl von Faktoren die Entstehung von atherosklerotischen Läsionen zu beeinflussen scheint.

Mit den allgemein bekannten CVRF (vgl. 1.3) ist nicht zu erklären, dass in manchen Gefäßabschnitten atherosklerotische Läsionen häufiger auftreten als in anderen. Bestimmte Abschnitte im arteriellen Gefäßsystem, wie z.B. Abzweigungen, Bifurkationen und Biegungen, sind anfälliger für atherosklerotische Manifestationen. Dies liegt daran, dass an solchen Stellen der laminare Blutfluss gestört ist und turbulente Strömungen auftreten. In der Folge verringert sich der Scherstress auf das Endothel, welcher normalerweise durch Inhibition von Proliferation, Gerinnung und Entzündung atheroprotektiv wirkt [34]. Über Mechanotransduktion, d.h. die Überführung in ein biochemisches Signal, wird die Funktion der Endothelzellen, insbesondere über Genregulation, beeinflusst. [78]. Die Verringerung des Scherstress bedeutet eine Verminderung des verfügbaren NO im Endothel und den daraus resultierenden, anti-atherosklerotischen Eigenschaften (vgl. 1.1.2.4) [34], [79]. Zu den gefährdeten Regionen zählen: Karotisbifurkation, Koronararterien, infrarenale Aorta abdominalis und Beinarterien [80].

Generell muss aber festgehalten werden, dass die Atherosklerose eine systemische Erkrankung darstellt und daher jeden Bereich im arteriellen Gefäßsystem betreffen kann.

1.1.2.6 Morphologie

Die Morphologie atherosklerotischer Läsionen ist vielfältig und reicht von anpassungsbedingtem Dickenwachstum der Intima-Media im Frühstadium bis hin zu komplizierten, vulnerablen Plaques im Endstadium. In den 90er Jahren veröffentlichte das American Heart Association's (AHA's) Committee on Vascular Lesions erstmals eine einheitliche, numerische Einteilung atherosklerotischer Läsionen, basierend auf histologischen Eigenschaften (vgl. Tab. 1 und Abb. 6) [81]–[83]. Die Typ-VII- und Typ-VIII-Läsionen wurden als eigenständige Stadien aufgenommen, da deren Entstehung nicht zwingend die Einlagerung von Lipiden und der Folgen voraussetzt. So führt beispielsweise eine Verminderung der Fettanteile von Typ-IV- und Typ-V-Läsionen zu dem morphologischen Bild der Typen VII und VIII [84].

Generell kann man festhalten, dass Läsionen der Stadien I - III äußerst selten klinische Manifestationen zeigen. Läsionen der Stadien IV - VI können, müssen aber nicht, klinisch relevant werden [84].

Die Mehrzahl der Läsionen, die klinischen Manifestationen bzw. tödlichen Verläufen zugrunde liegen, wurden pathologisch als Typ-VI-Läsionen identifiziert [84]. Für die Bezeichnung „vulnerable Plaque“ gibt es momentan noch keine einheitliche histologische Beschreibung. Sogenannte thin-cap fibroatheroma (*dt.*: Fibroatherom mit dünner Kappe) und stark kalzifizierte Plaques gehen aber mit einem erhöhten Rupturrisiko einher [85].

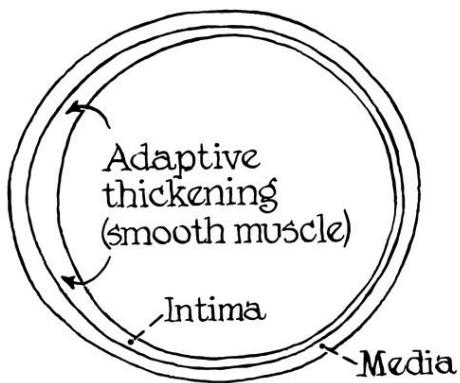
Abb. 7 verdeutlicht die Zusammenhänge und Entwicklungsschritte atherosklerotischer Läsionen. Die Frühformen, also Typ-II- und Typ-III-Läsionen, sind prinzipiell reversibel. Sie treten, bei entsprechender Risikokonstellation auch schon im Kinder- und Jugendalter auf [82].

Es sei nochmals betont, dass es keineswegs einer sukzessiven Evolution der Läsion bedarf. Vielmehr können einzelne Stadien übersprungen werden.

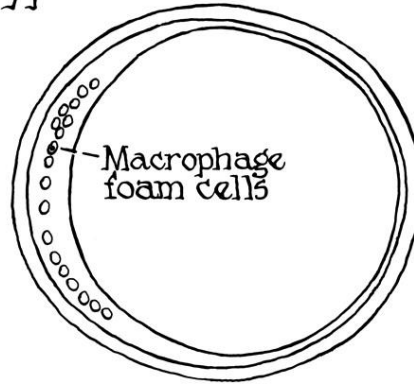
Tabelle 1: Einteilung atherosklerotischer Läsionen der AHA, modifiziert nach Stary

Läsionstyp (AHA)	alternative Bezeichnung	histologische Charakteristika
Frühläsion		
I	Initiale Läsion	Intimaverdickung, Ansammlung von Lipoproteinen, gruppierte Makrophagen mit Fetttröpfchen, einzelne Schaumzellen
II	fatty streak-Läsion	mehrschichtige Ansammlung von Schaumzellen, glatte Muskelzellen mit Fetttröpfchen, vereinzelt T-Lymphozyten
III	Präatherom (Übergangsstadium)	zusätzlich extrazelluläre Lipidpools unterhalb der Schaumzellschicht
Fortgeschrittene Läsion		
IV	Atherom	Extrazelluläre Lipidpools konfluieren zu einem sog. Lipid-/Atheromkern, Kappe aus verdickter Intima, strukturelle Desorganisation in der Intima
V	Fibroatherom	Bindegewebsneubildung (Kollagen), Intimakappe durch Bindegewebe ersetzt, vermehrt glatte Muskelzellen
Va	multilaminäres Fibroatherom	mehrschichtige Anordnung, durch Bindegewebe getrennter Atheromkern
VI	komplizierte Läsion	jede andere Läsion (typischerweise Typ-V-Läsion) mit Oberflächendefekt (Fissur), Hämorrhagie oder Thrombus
VII (ehem. Vb)	verkalktes Fibroatherom	Kalzifizierungen im Lipidkern oder sonstigen Teilen der Läsion
VIII (ehem. Vc)	Fibroma	wenig Lipidanteile

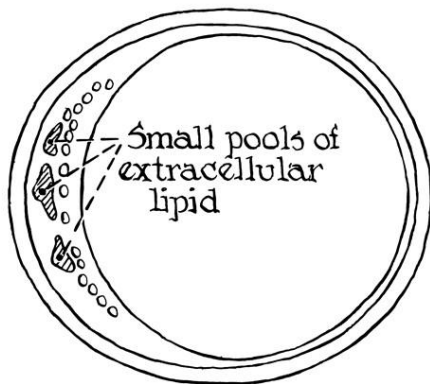
Coronary artery at lesion-prone location



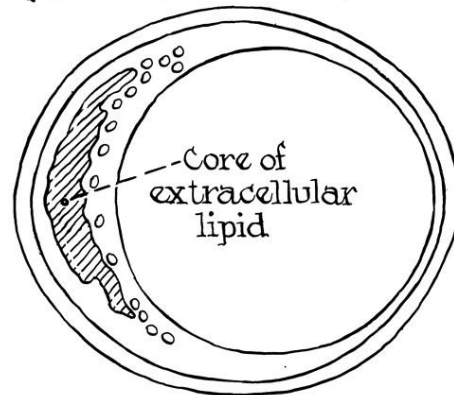
Type II lesion



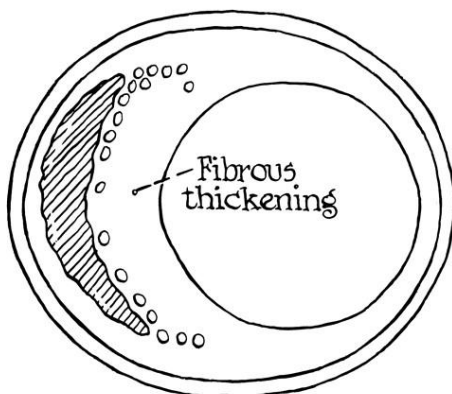
Type III (preatheroma)



Type IV (atheroma)



Type V (fibroatheroma)



Type VI (complicated lesion)

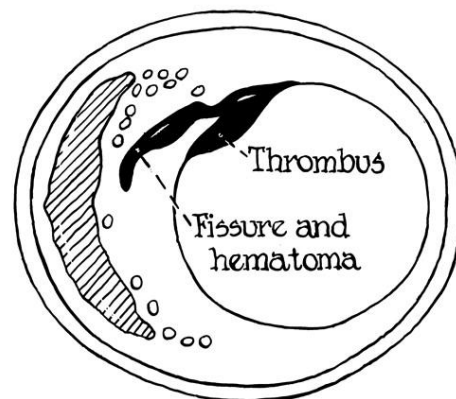


Abbildung 6: Die 6 Stadien atherosklerotischer Läsionen einer Koronararterie nach Stary et al.

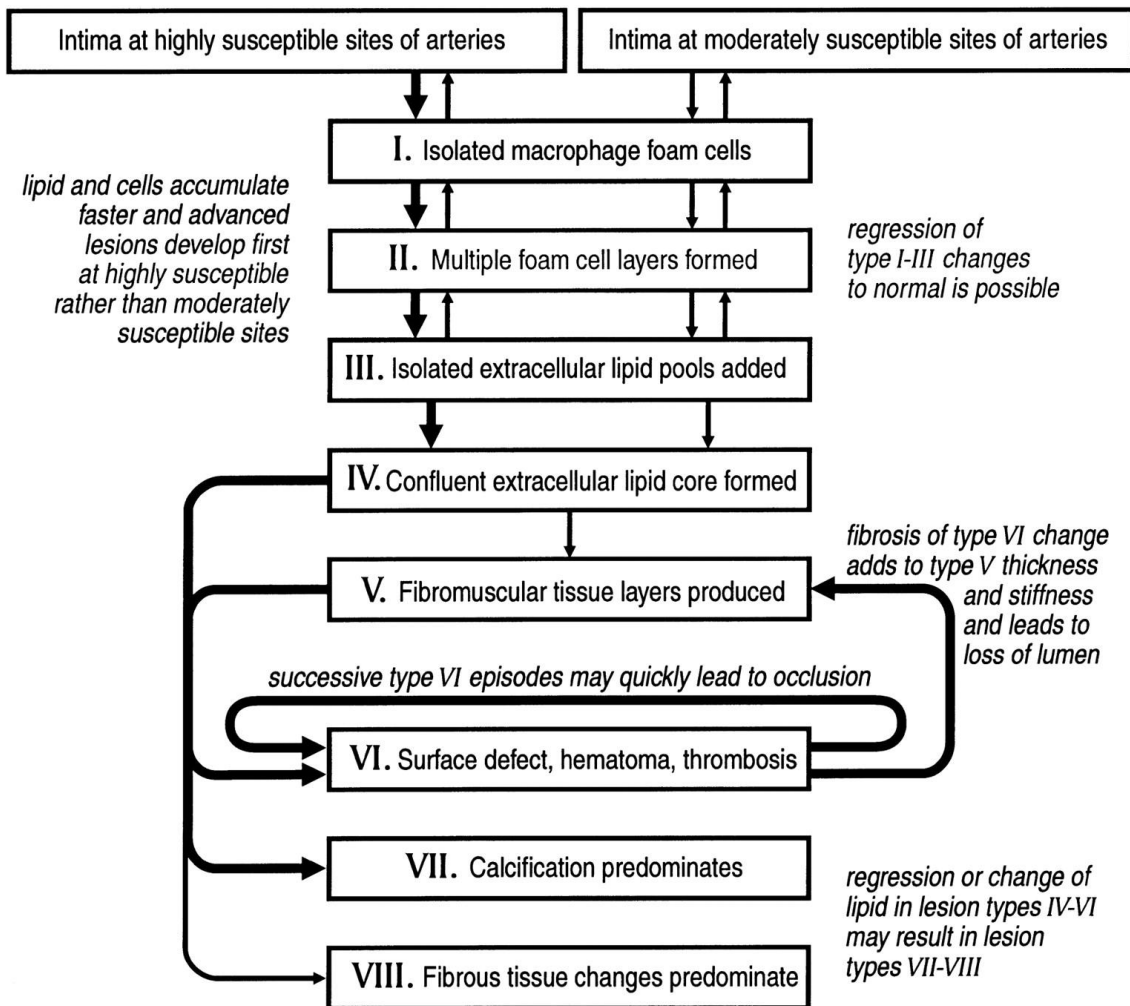


Abbildung 7: Evolution und Zusammenhänge atherosklerotischer Läsionen nach Stary et al.

1.2 Der Intima-Media-Komplex

Im Kontext der Atherosklerose kommt der Intima sowie der Media besondere Bedeutung zu. Diese beiden Schichten lassen sich mit dem Ultraschall darstellen. Die Messungen korrelieren sehr gut mit der tatsächlichen histologischen Gefäßwanddicke [86]–[89]. Der erhobene Wert wird als Intima-Media-Dicke (*engl.*: intima-media thickness (IMT)) bezeichnet. Die IMT der Carotiden wird cIMT abgekürzt (*engl.*: Carotid Intima-Media Thickness).

1.2.1 Intima-Verdickung

Eine Verdickung des Intima-Media-Komplexes wird initial mit einer physiologischen Anpassung der Arterienwand auf pathogene Stimuli, wie beispielsweise mechanische Belastung, erklärt [83].

Während sich manche atherosklerotischen Läsionen aus Xanthomen (Plasmalipoproteineinlagerungen) in der Intima entwickeln, bilden sich die meisten Läsionen auf dem Boden schon vorhandener Intima-Zellmassen und damit -verdickungen [83], [90]. Dies belegen Studien, die die Bildung von atherosklerotischen Läsionen mit präexistenten Zellmassen in der Intima in Verbindung bringen [91]. Außerdem korreliert das Muster der Prädilektionsstellen atherosklerotischer Läsionen bei Erwachsenen mit der Verteilung physiologisch-normaler Zellmassenverbände in der Intima bei Jugendlichen [92], [93]. Diese Zellverbände in der Intima bestehen zu 90% aus monoklonalen, glatten Muskelzellen und zu ca. 10% aus Zellen monozytären Ursprungs [91], [92].

1.2.2 Intima-Media-Komplex als Frühmarker von Atherosklerose

Die cIMT kann also zur Darstellung struktureller Veränderungen der Arterienwand, welche im Frühstadium der atherosklerotischen Progression auftreten, verwendet werden. Diese Veränderungen sind teilweise Jahre vor manifester ASCVD nachweisbar [94], [95].

Die cIMT gilt als guter prädiktiver Parameter für klinische Endpunkte der Atherosklerose, wie beispielsweise Myokardinfarkt und Schlaganfall [9], [96]–[100]. Einer Zunahme um 0,1mm wird eine 10-15%ige Risikoerhöhung für Herzinfarkt und eine 13-18%ige Risikozunahme für Schlaganfall zugeschrieben [9]. Neuere Meta-Analysen zeigen aber, dass eine Kombination der cIMT mit gängigen Modellen zur Vorhersage des kardiovaskulären Risikos, wie z.B. dem Framingham Risiko-Score [101], keine zusätzliche Verbesserung der Risikostratifizierung erreicht [100].

Die cIMT korreliert gut mit anderen CVRF [102]–[106]. Zunehmendes Alter gilt als harter Parameter für eine Zunahme der IMT in der Arteria carotis communis (ACC) [107], [108]. In unterschiedlichen Studien liegen die Werte für die lineare jährliche Zunahme, über beide Geschlechter gemittelt, zwischen 0,007 - 0.1 mm [107], [109], [110]. Eine günstige Beeinflussung des Lebensstils geht mit einer teilweisen Abnahme der cIMT einher [111]. Außerdem ergibt sich ein Zusammenhang mit Gefäßveränderungen an anderer Stelle, wie KHK und pAVK [99], [108], [112].

Weiter müssen allerdings verschiedene Manifestationsarten der Atherosklerose im Ultraschall unterschieden werden: IMT, Stenose und Plaque [113]. Diese repräsentieren verschiedene Stadien, treten primär an anderen Prädilektionsstellen auf und gehen mit unterschiedlichen Determinanten und Zusammenhängen einher [105], [114]. Die IMT der ACC korreliert gut mit arterieller Hypertonie und zerebrovaskulären Erkrankungen als klinischem Endpunkt, während Plaqueformationen in der Karotisbifurkation und der Arteria carotis interna eher mit Hyperlipidämie und Myokardinfarkt zusammenhängen [115].

Sofern vorhanden, stellt allerdings die Plaquegröße bzw. das Plaquevolumen einen besseren Parameter zur Einschätzung des kardiovaskulären Risikos als die cIMT dar [105], [116]. Eine Plaque ist als ein in das Gefäßlumen hineinragender Wandanteil definiert, der wenigstens 0,5 mm bzw. 50% der umgebenden IMT umfasst, oder absolut 1,5 mm oder mehr vom Media-Adventitia-Übergang aus gemessen aufweist [117].

1.2.3 Sonographie des Intima-Media-Komplexes

Erstmals wurde in den 1980er Jahren die sonographische Darstellung des Intima-Media-Komplexes *in vitro* beschrieben [86]. In den Folgejahren etablierte sich die Methode auch *in vivo* [118]. Es wurde gezeigt, dass das Verfahren bei Messung eines Segmentes der ACC, sowie Beachtung einiger Regeln und automatisierten Bildanalyseprogrammen mit hoher Inter- und Intra-Untersucher-Reliabilität reproduzierbar ist [119]–[123].

Es erweist sich als problematisch, dass der Intima nicht direkt ein sonomorphologisches Korrelat zugeordnet werden kann. Allerdings führen auch Strukturen unterhalb der Auflösungsgrenze, so z.B. die Intima, zu einem Ultraschallecho [124].

Abb. 8 zeigt, wie das Ultraschallbild des Gefäßanschnitts zu interpretieren ist. Im hochauflösenden Bild ergeben sich typischerweise 7 Echozonen. Je zwei echoreiche und eine echoarme Zone als Korrelat für die Gefäßwand und eine breite echoarme Zone, die das Gefäßlumen darstellt. Bei den echoreichen Zonen kann der schallkopfnaher Impedanzsprung ("leading-edge") und der schallkopferne ("far-edge") unterschieden werden. Im Gegensatz zur "far-edge", welche durch verschiedene Faktoren, wie Bildqualität, Zusammensetzung des Gewebes und Geräteeinstellungen (z.B. Gain), beeinflussbar ist, lässt sich die "leading-edge" unabhängig darstellen.

Hieraus lässt sich schließen, dass ein verlässliches Messen der cIMT an der schallkopfnahen Wand nicht ohne Weiteres möglich ist [88], [118], [124]. Allerdings sollte das typische Bandenmuster der schallkopfnahen Wand trotzdem mit abgebildet werden, um so eine möglichst hohe Bildqualität zu erlangen (Gefäßdurchmesser und Schallwinkel) [124].

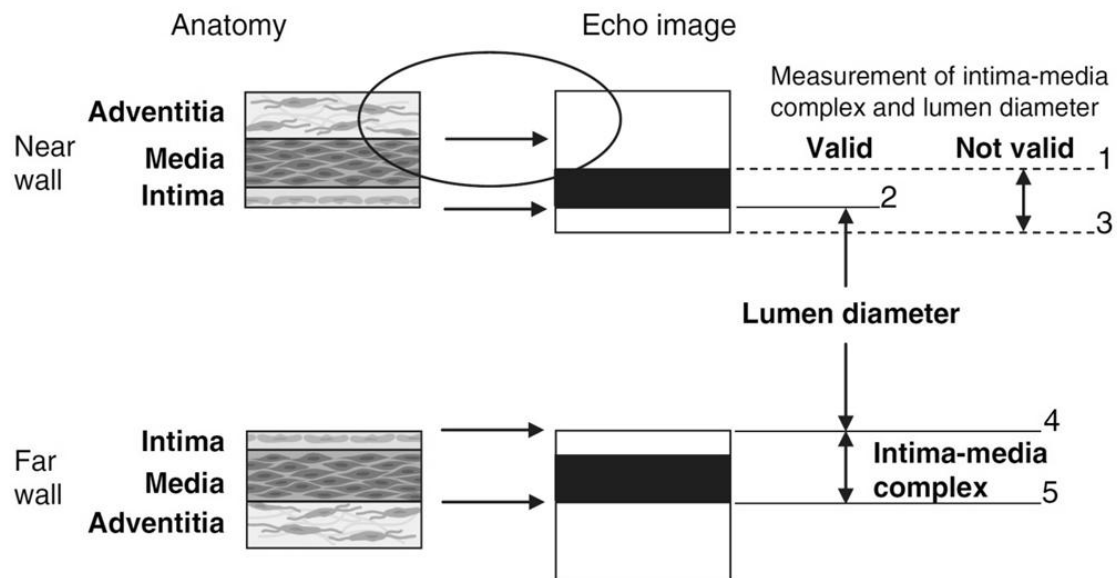


Abbildung 8: Illustration der Korrelation zwischen Anatomie und Ultraschallbild

- 1: "far-edge" des Adventitia-Echos der schallkopfnahen Wand
- 2: "leading-edge" des Intima-Lumen-Übergangs
- 3: "far-edge" des Intima-Lumen-Übergangs der schallkopfnahen Wand
- 4: "leading-edge" des Intima-Lumen-Übergangs der schallkopffernen Wand
- 5: "leading-edge" des Adventitia-Echos der schallkopffernen Wand.

Messprinzip des Intima-Media-Komplexes

- schallkopferne Gefäßwand
- "leading-edge" des Intima-Lumen-Impedanzsprungs (4 in Abb. 8) zu "leading-edge" des Media-Adventitia-Übergangs (5 in Abb. 8).

Die Messung ist in einem möglichst geraden Segment der ACC am verlässlichsten [120] und zwar vorzugsweise in einem Segment von 10 mm Länge, welches sich nach proximal an den Bulbus caroticus anschließt [11].

In Querschnittsstudien wurden Normalverteilungen der cIMT hinsichtlich Alter und Geschlecht definiert [125]–[127]. Dabei ist mit zunehmendem Alter eine Zunahme der cIMT vergesellschaftet. Bei Männern stellt sich die cIMT im Vergleich zu Frauen gleichen Alters dicker dar. [125]

Physiologischerweise ist die IMT der linken ACC stärker als die der rechten [128]–[131]. Die Ursache ist noch nicht vollständig geklärt. Biochemische Ein-

flüsse wie Lipid- und Glukosekonzentration werden diskutiert [131]. Die unterschiedlichen anatomischen Gegebenheiten der rechten und linken ACC scheinen als plausibelste Erklärung zu dienen: die linke ACC entspringt direkt aus dem Aortenbogen, die rechte aus dem Truncus brachiocephalicus. Daraus lassen sich Seitenunterschiede im Druckverhältnis und der Einwirkung von lokalem Scherstress ableiten [130].

2008 veröffentlichte die American Society of Echocardiography eine Leitlinie zur Messung der cIMT [11]. Dort steht in der Einleitung: *„Die Messung der cIMT im B-mode-Ultraschall ist eine nichtinvasive, sensitive und reproduzierbare Technik zur Identifizierung und Quantifizierung subklinischer Gefäßerkrankungen und zur Evaluation des kardiovaskulären Risikos.“* Außerdem ist die Ultraschalluntersuchung zur Erhebung der cIMT ein günstiges, schnelles und schmerzloses Verfahren ohne Strahlenexposition.

Zusammenfassend ist also eine standardisierte Messung und Darstellung der cIMT in einem nicht invasiven oder belastenden Verfahren mittels konventionellem, hochauflösendem Ultraschall möglich. Zuletzt wurde das standardisierte Vorgehen 2011 im sog. „Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus“ aktualisiert [117]. Die Messung eignet sich mitunter zur Untersuchung asymptomatischer Individuen in Forschung und Klinik, z.B. als Surrogatparameter für kardiovaskuläre Endpunkte [132]–[135] oder als Verlaufs- und Kontrollparameter bei Patienten mit kardiovaskulärem Risikoprofil ohne manifeste Atherosklerose [136].

1.3. Risikofaktoren der Atherosklerose

In der Literatur werden eine Vielzahl von kardiovaskulären Risikofaktoren (CVRF) diskutiert, die die Entstehung von atherosklerotischen Läsionen begünstigen [137]. Auch wird zwischen „modifizierbaren“ und „unbeeinflussbaren“ Risikofaktoren unterschieden:

Tabelle 2: „Unbeeinflussbare“ und „modifizierbare“ CVRF

„unbeeinflussbare“ CVRF		- Alter
		- Geschlecht
		- positive Familienanamnese
„modifizierbare“ CVRF	„konventionelle“ oder „Haupt-Risikofaktoren“ [69]	- arterielle Hypertonie
		- Dyslipidämie
		- Rauchen
	weiterhin Anwendung finden:	- Diabetes mellitus
		- Übergewicht / Adipositas
		- Hyperhomozysteinämie
	Gegenstand der momentanen Forschung: Ihre Aussagekraft bleibt bisher unklar [68].	- körperliche Inaktivität
		- erhöhtes C-reaktives Protein (CRP)
		- erhöhtes Lipoprotein (a)
		- erhöhtes Fibrinogen

Eine Behandlung der „modifizierbaren“ Risikofaktoren trägt generell zu einer Reduktion des kardiovaskulären Risikos bei [138].

In der Folge werden die CVRF nochmals eingehender beschrieben:

1.3.1 Alter

Das Alter stellt einen unbeeinflussbaren Risikofaktor dar. Das Risiko der Atheroskleroseentstehung steigt mit zunehmendem Alter an [139].

1.3.2 Geschlecht

Das männliche Geschlecht erhöht das Risiko für die Entstehung und Progression kardiovaskulärer Erkrankungen [139].

Allerdings steigt das Erkrankungsrisiko für Frauen nach der Menopause stärker an, als bei Männern derselben Altersgruppe. Diese Tatsache beruht auf dem Wegfall der atheroprotektiven Wirkung des Östrogens durch Reduktion der Lipidablagerungen [140], [141]. Bei schon etablierten Läsionen führt Östrogen allerdings zu erhöhtem Plaquerupturrisiko und folgender Gerinnung [140]. Frauen zeigen schwächere Symptome und werden erst bei fortgeschrittener Erkrankung diagnostiziert. Das Outcome nach eingetretener kardiovaskulärer Erkrankung ist bei Frauen schlechter [141].

Auch beeinflusst das Geschlecht die Bedeutung anderer CVRF. So verlieren Frauen mit manifestem Diabetes mellitus ihren „Geschlechtervorteil“, was KHK als Todesursache betrifft [142], [143]. Das kardiovaskuläre Risiko steigt bei Männern mit Diabetes mellitus um das Doppelte gegenüber Individuen ohne Diabetes mellitus, bei Frauen sogar um das Dreifache [144]. Neuere Meta-Analysen ordnen bei jeweils bekanntem Diabetes mellitus Frauen im Vergleich zu Männern ein um 27% höheres Schlaganfall- und um 40% höheres KHK-Risiko zu [145].

1.3.3 Positive Familienanamnese

Kardiovaskuläre Erkrankungen in der Familienanamnese sind ein unabhängiger Risikofaktor für Atherosklerose [146], v.a. bei Auftreten erster Manifestationen in jüngerem Alter [147]. Hierbei spielt es keine Rolle, ob die Belastung von mütterlicher oder väterlicher Linie stammt [148].

1.3.4 Arterielle Hypertonie

Die arterielle Hypertonie stellt einen unabhängigen CVRF dar. Ab einem Blutdruck von 115/75 mmHg besteht bereits ein linearer Zusammenhang: je höher der Blutdruck, desto höher das Risiko für die Entstehung von ASCVD. Ab einem Alter von 40 Jahren geht eine Erhöhung des systolischen Drucks um 20 mmHg mit einer doppel so hohen Sterberate aufgrund von KHK sowie mehr als doppelt so hohen Sterberate aufgrund von Schlaganfall einher [149], Ähnliches gilt für den diastolischen Druck [150]. Ein Absenken des systolischen [151], sowie des diastolischen Drucks [152], geht mit einer deutlichen kardiovaskulären Risikoreduktion einher. Dabei scheint die Art der Blutdrucksenkung eher eine untergeordnete Rolle zu spielen [153].

1.3.5 Dyslipidämie

Unter Dyslipidämie versteht man eine Vielzahl von Veränderungen bzw. Störungen des Fettstoffwechsels. Diese können sich als Erhöhung des Gesamtcholesterins, LDL-Cholesterins, der Triglyceride oder als Verminderung von HDL-Cholesterin sowie als gestörtes Verhältnis der Fraktionen manifestieren.

Schon in den 1930er Jahren wurden erhöhte Cholesterinspiegel in Zusammenhang mit Atherosklerose gebracht. Diese These wurde über groß angelegte Studien, hierunter die Framingham Heart Study und der Multiple Risk Factor Intervention Trial, in den Folgejahrzehnten gestützt [154], [155].

Ein erhöhtes LDL-Cholesterin über 100 mg/dl geht mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einher [156]. Je höher das LDL-Cholesterin, desto höher das

Risiko [157]. Gleichzeitig führt eine Reduktion des LDL-Cholesterins zu einer Verringerung des Auftretens kardiovaskulärer Ereignisse [158], [159]. Nach aktuellen Leitlinien wird zur Therapiesteuerung des LDL-Cholesterins zuerst eine kardiovaskuläre Risikostratifizierung vorgenommen. Patienten mit bekannter ASCVD zählen beispielsweise zu der der höchsten Risikogruppe. Das Therapieziel in dieser Risikokategorie wird dann für die Sekundärprophylaxe mit > 50% LDL-Cholesterin-Reduktion vom Ausgangswert und/oder Werten < 55 mg/dl angegeben. Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus > 10 Jahren ohne Organfolgeerkrankungen fallen in die zweithöchste Risikokategorie. Hier werden LDL-Cholesterin-Werte < 70 mg/dl und eine Reduktion um > 50% angestrebt [160].

Auch eine Hypertriglyceridämie stellt ein erhöhtes Risiko dar [161], [162].

Zwischen HDL-Cholesterin und dem kardiovaskulären Risiko zeigt sich ein inverser Zusammenhang [161], [163]–[165].

Das Verhältnis aus Gesamt-Cholesterin und HDL-Cholesterin gilt als Messwert mit der höchsten Vorhersagekraft das kardiovaskuläre Risiko betreffend [166].

Außerdem werden erhöhtem Lipoprotein (a), erhöhtem Apolipoprotein B (in LDL-Cholesterin) und verringertem Apolipoprotein A1 (in HDL-Cholesterin) proatherogene Eigenschaften zugeschrieben [156].

Neuere Studien zeigen, dass das Verhältnis Apolipoprotein B/Apolipoprotein A1 sonstigen Lipid-Parametern in Bezug auf die kardiovaskuläre Risikostratifizierung überlegen ist [167].

1.3.6 Rauchen

Nikotinkonsum bzw. Rauchen stellt einen unabhängigen modifizierbaren CVRF dar [168]. Dem Rauchen werden proinflammatorische und -thrombotische Effekte, oxidative Eigenschaften, Beeinträchtigung endothelialer Funktion durch Verminderung der NO-Konzentration sowie verstärktes Plaquewachstum zugeschrieben [169], [170].

Laut dem Systemic Coronary Risk Evaluation-Projekt verdoppelt sich das 10-Jahres-Sterberisiko aufgrund kardiovaskulärer Ereignisse, unabhängig von anderen CVRF, bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern [171]. Das Risiko vergrößert sich mit zunehmender Exposition [169], [172], [173]. Passivrauchen ist ebenso mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko vergesellschaftet [172], [173].

Zu beachten ist außerdem, dass der Anteil an Raucherinnen weltweit weiter ansteigt [168], v.a. in den Entwicklungsländern. Rauchende Frauen haben, unabhängig von anderen CVRF, im Vergleich zu rauchenden Männern ein um 25% erhöhtes Risiko für eine KHK [174].

Eine Aufgabe des Rauchens erwirkt eine deutliche Risikoverminderung [175], [176]. Hierbei wird durch die Aufgabe des Rauchens nach Herzinfarkt eine ähnliche Risikoreduktion der Sterblichkeit erreicht, wie mit gängigen Maßnahmen der akuten Versorgung eines Herzinfarkts [177].

In der Atherosclerosis Risk in Communities-Studie konnte ein klarer Zusammenhang zwischen Aktiv- und Passivrauchen und einer Zunahme der Intima-Media-Dicke gezeigt werden [170], [178].

1.3.7 Übergewicht / Adipositas

Übergewicht und Adipositas erhöhen das kardiovaskuläre Risiko [179], [180]. Dabei ist bereits das Übergewicht ein unabhängiger Risikofaktor für Herz- und Kreislauferkrankungen. Das Risiko steigt mit dem Körpergewicht und ist bei Weißen gegenüber Schwarzen erhöht [179]. Trotz geschlechterspezifischer Fettverteilungsformen wird ein Geschlechterunterschied nicht festgestellt [181].

Das kardiovaskuläre Risiko hängt allerdings nicht unbedingt von der absoluten Fettmasse ab, sondern vielmehr vom Fettverteilungstyp [182], [183]. Der Phänotyp des "viszeralen Fettes" begünstigt beispielsweise kardiovaskuläre Erkrankungen [184] und geht mit einer Zunahme der cIMT einher [185]. Dieser Zusammenhang wird auf die metabolische Aktivität, v.a. proinflammatorischer Art, zurückgeführt [186]. Das Taille-Hüft-Verhältnis (*engl.*: Waist-to-hip Ratio

(WHR)) als Messparameter für viszerales Fett zeigt einen signifikanteren Zusammenhang mit kardiovaskulären Ereignissen als der BMI [187].

1.3.8 Hyperhomozysteinämie

Erst 1969 fiel auf, dass bei Patienten, die an Homozystinurie leiden, schon im frühen Kindesalter atherosklerotische Veränderungen auftreten. Diese Veränderungen wurden auf die erhöhten Blutspiegel von Homozystein bzw. dessen Metaboliten zurückgeführt [188].

Neuere Metaanalysen benennen Hyperhomozysteinämie als unabhängigen CVRF [189], [190]. Eine Verminderung der Homozysteinspiegel geht allerdings nur bedingt mit einer Risikoreduktion kardiovaskulärer Ereignisse einher [190], [191].

1.3.9 Körperliche Inaktivität

Eine verringerte physische Aktivität ist mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko vergesellschaftet [192]. Inwiefern sie aber einen unabhängigen Risikofaktor darstellt, ist unklar. Gesichert ist allerdings der positive Einfluss von körperlicher Betätigung auf einige der o.g. CVRF [193].

1.3.10 Psychosozialer Stress

Das Vorhandensein bestimmter psychosozialer Stressoren (z.B. finanziell, im Arbeitsumfeld) erhöht das kardiovaskuläre Risiko [194].

1.3.11 Das metabolische Syndrom

Unter dem "metabolischen Syndrom" versteht man das gleichzeitige Auftreten von spezifischen kardiovaskulären Risikofaktoren. Nach aktueller Definition der International Diabetes Federation werden dazu gezählt: (stammbetonte) Adipositas, gestörter Lipidstoffwechsel (erniedrigtes HDL-Cholesterin, erhöhte Trigly-

ceride), erhöhter Blutdruck und erhöhte Nüchtern glukose bzw. manifester Diabetes mellitus [195]. Die Wahrscheinlichkeit der Entwicklung einer Atherosklerose potenziert sich beim Vorliegen mehrerer Risikofaktoren [196].

1.4 Diabetes mellitus und Atherosklerose

Tabelle 3: Definitionen in Zusammenhang mit Diabetes mellitus

Kriterien für die Diagnose eines Diabetes mellitus

1. HbA1c \geq 6,5 %
oder
2. Nüchtern glukose (FPG) \geq 126 mg/dl (7,0 mmol/l), wobei "nüchtern" als Verzicht auf Kalorienaufnahme > 8 Stunden definiert ist
oder
3. 2h-Glukose \geq 200 mg/dl (11,1 mmol/l) während eines oralen Glukosetoleranztests (oGTT) nach WHO-Standard
oder
4. zufällig festgestellte Plasmaglukose \geq 200 mg/dl (11,1 mmol/l), einhergehend mit typischen Symptomen einer Hyperglykämie oder hyperglykämischer Krise

Kriterien eines „Prädiabetes“ bzw. „intermediate Hyperglycemia“

1. gestörte Nüchtern glukose (IFG) von 100-125 mg/dl (5,6 - 6,9 mmol/l)
oder
2. beeinträchtigte Glukosetoleranz (IGT) mit 2h-Glukose zwischen 140-199 mg/dl (7,8 - 11,0 mmol/l) im oGTT
oder
3. HbA1c von 5,7-6,4 %

1.4.1 Epidemiologie

Die Prävalenz von Diabetes mellitus nimmt in den westlichen Ländern weiter zu [4]. Diabetes mellitus ist ein unabhängiger CVRF [197], [198]. Das attributive Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen von Diabetes mellitus ist in den letzten Jahrzehnten gestiegen, während das anderer CVRF gefallen ist [5]. Bei Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus stellen ASCVD die Haupttodesursache dar [199]. Verglichen mit Individuen ohne Diabetes mellitus steigt das Risiko für

Myokardinfarkt und Schlaganfall bei Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus um das 2-3fache [144], [197]. Die Diagnose eines Diabetes mellitus geht mit einer erhöhten Prävalenz anderer CVRF wie arterieller Hypertension, Übergewicht und Hyper-/Dyslipoproteinämie einher [5], [200]. Auch scheint der Diabetes mellitus Einfluss auf anderweitige Krankheitsbilder (z.B. Leberzellkarzinom) mit konsekutiv erhöhter Mortalität zu haben [201]. Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose eines Diabetes mellitus Typ 2 liegen in 40-60% der Fälle bereits verschiedenste Organfolgeerkrankungen vor [202].

Die Hyperglykämie ist ein gut untersuchter sowie etablierter CVRF, auch bei Individuen ohne Beeinträchtigung des Glukosestoffwechsels [203]–[205]. Bereits eine IFG [206] und v.a. gestörte 2h-Glucose [207], [208], also prädiabetische Vorstufen, korrelieren mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko [209], [210]. Schon in der Phase des Prädiabetes lässt sich eine gestörte endotheliale Vasodilatation feststellen [211], [212], welche in der Frühphase in der Pathogenese der Atherosklerose auftritt (vgl. 1.1.2.4).

Pathophysiologisch ist der „Prädiabetes“ mit Zuständen der Insulinresistenz sowie β -Zell-Dysfunktion zu erklären. Mit einer jährlichen Rate von 5-10% geht ein Prädiabetes in einen manifesten Diabetes mellitus über, mit ebensolcher Proportion allerdings bei entsprechender Intervention auch zurück zur Normoglykämie [213]. Nicht zwangsläufig folgt dem Zustand der Insulinresistenz also die Entwicklung eines manifesten Diabetes mellitus [214], allerdings weisen 80-90% der Menschen mit Diabetes mellitus Typ 2 ihrerseits eine Insulinresistenz auf [215]. Aber auch bei normoglykämien Individuen mit Erkrankungen des Fettstoffwechsels, wie z.B. Hyper-triglyceridämie oder Adipositas, lassen sich Zustände der Insulinresistenz nachweisen [216].

Bereits die dem manifesten Diabetes mellitus vorausgehenden Zustände der Insulinresistenz und β -Zell-Dysfunktion führen ihrerseits zu einem erhöhten atherosklerotischen Risiko [217]–[221]. Bestimmte Phänotypen der Insulinresistenz wie z.B. nichtalkoholische Fettlebererkrankung oder gesteigertes viszerales Fettgewebe korrelieren direkt mit dem Auftreten von Atherosklerose [222]–

[224]. Bei Patienten mit IGT konnten durch intensive Lebensstil-Änderung die prädiabetischen Kriterien bzw. die Insulinresistenz verbessert werden [213], [225].

1.4.2 Insulinresistenz

Die Leber spielt in der Regulation der Glukose-Homöostase eine zentrale Rolle, bedingt durch Glukoseaufnahme, Synthese von Glykogen und Triglyceriden, sowie Glykogenolyse und Glukoneogenese [226]. Sie ist nicht nur ein wesentliches Zielorgan von Insulin, dieses wird auch hepatisch degradiert. Unter hepatischer Insulinresistenz versteht man u.a. die Einschränkung des Insulins, die Glukoneogenese in der Leber trotz erhöhter Serum-Glukosewerte zu unterdrücken [227]. Im Zustand der „kompletten Insulinresistenz“ und faktisch Ausfall des kompletten Insulinrezeptor (IR)-Signalwegs findet sich ein Nebeneinander von gesteigerter Glukoneogenese und aktivierter Lipogenese [228]. Im Falle von Diabetes mellitus Typ 2 und koexistierender Adipositas kommt es allerdings paradoxerweise zum ungleich schwerwiegenderen Zustand der „selektiven Insulinresistenz“, gekennzeichnet durch Hyperglykämie und Steatosis [229]. Vermittelt wird dies durch die ungleiche Verteilung der Insulin-Signalwege in der Leber. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass ein Insulinrezeptor-Substrat 2 (IRS-2)-Verlust zu „selektiver“, ein IRS-1- bzw. Verlust beider Expressionswege zu „totaler Insulinresistenz“ führt. IRS-1 wird überwiegend in der perivenösen Zone, dem Hauptort der Lipogenese, IRS-2 sowohl perivenös, als auch periportal, der Zone der Glukoneogenese, exprimiert. Bei Hyperinsulinämie wird die IRS-2-Expression unterdrückt, wohingegen IRS-1 recht unbeeinflusst bleibt. Hieraus lässt sich ableiten, dass es beim Vorgang der „selektiven Insulinresistenz“ aufgrund der unterschiedlichen Verteilung bzw. Wirksamkeit der Insulin-Signalwege in der Leber unter Hyperinsulinämie sowohl zu gesteigerter Glukoneogenese und Hyperglykämie, aber auch zu erhöhter Lipogenese und Steatosis kommt [230]–[232].

Adipositas korreliert gut mit der Entwicklung einer Insulinresistenz [233], [234]. Insulin erhöht den Blutfluss im Fettgewebe [235]. In Fettgewebe, v.a. dem vis-

zeralen Fett, finden sich eine vermehrte Anzahl an Makrophagen, speziell CD11c-positiven Zellen. Diesen wird eine Zunahme der Insulinresistenz über die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen, wie z.B. TNF- α und Interleukin-6 zugeschrieben [236]–[238]. Zudem beeinflusst Fettgewebe die systemische Endothelfunktion durch die Sekretion von inflammatorischen Zytokinen, wie z.B. TNF- α , IL-6, Leptin und Resistin [239]. Leptin hemmt nicht nur das Appetitempfinden und steigert den Energieaufwand, sondern stimuliert auch proinflammatorische Immunzellen, steigert die Bildung von ROS in Endothelzellen und begünstigt die Bildung von Schaumzellen [240], [241]. Auch beispielsweise erhöhte Resistin-Konzentrationen, wie beim Menschen mit Prädiabetes nachweisbar, sind mit kardiovaskulären Ereignissen vergesellschaftet [242]–[244].

Die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems bei Adipositas führt Aldosteron-vermittelt über eine Degradation von IRS-1, sowie durch vermehrte Expression des Insulin-like Growth Factor-1-Rezeptors zu Insulinresistenz [245]–[247].

Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass bereits bei Prädiabetes durch die gesteigerte metabolische Aktivität v.a. des viszeralen Fettgewebes und daraus resultierender Inflammation die Entwicklung von Insulinresistenz sowie endothelialer Dysfunktion vermittelt wird [248].

1.4.3 Insulin-Clearance

Im Rahmen der Insulinresistenz kommt es kompensatorisch zu einer Hyperinsulinämie [249]. Diese hyperinsulinämischen Zustände sind sowohl einer gesteigerten Insulin-Sekretion, allerdings auch verminderter Insulin-Clearance zuzuschreiben [250], [251], welche sogar als erster Ausgleichsmechanismus einer erhöhten Insulinresistenz aufzutreten scheint [218], [219], [252]–[255]. Die Insulin-Clearance wird als stärkster Einflussfaktor der Nüchterninsulin-Level angesehen und zwar unabhängig von Insulinresistenz, Insulin-Sekretion, Adipositas und Nüchtern glukose [251]. Schon 1949 wurde erstmals über den Zusammenhang zwischen Diabetes mellitus und gestörter Insulin-Clearance berichtet [256].

1.4.3.1 Physiologie der Insulin-Clearance

Insulin wird von den β -Zellen des Pankreas pulsatil sezerniert und erreicht über das Pfortadersystem und Lebersinusoidale die Hepatozyten [257]. Es kann sowohl von Leber und Nieren abgebaut bzw. ausgeschieden werden, wobei der Leber eine deutlich größere Bedeutung zukommt. Auch „peripher“ wird Insulin z.B. in Skelettmuskelzellen, Adipozyten und anderen Ziel-Zellen des Insulins verstoffwechselt [258], [259]. Unter normalen physiologischen Bedingungen werden ca. 80% des sezernierten Insulins während des First pass-Effekts durch die Leber „gecleared“ [258]. Die Halbwertszeit von Insulin im Pfortadersystem beträgt hierbei 3-5 min [258]. In Studien konnte gezeigt werden, dass Änderungen der Insulin-Clearance etwa 25% der Schwankungen der Plasma-Insulinkonzentrationen ausmachen können [260].

Als Hauptmechanismus der hepatischen Insulin-Clearance fungiert eine rezeptorvermittelte Aufnahme in Hepatozyten, gefolgt von der Degradation (vgl. Abb. 9).

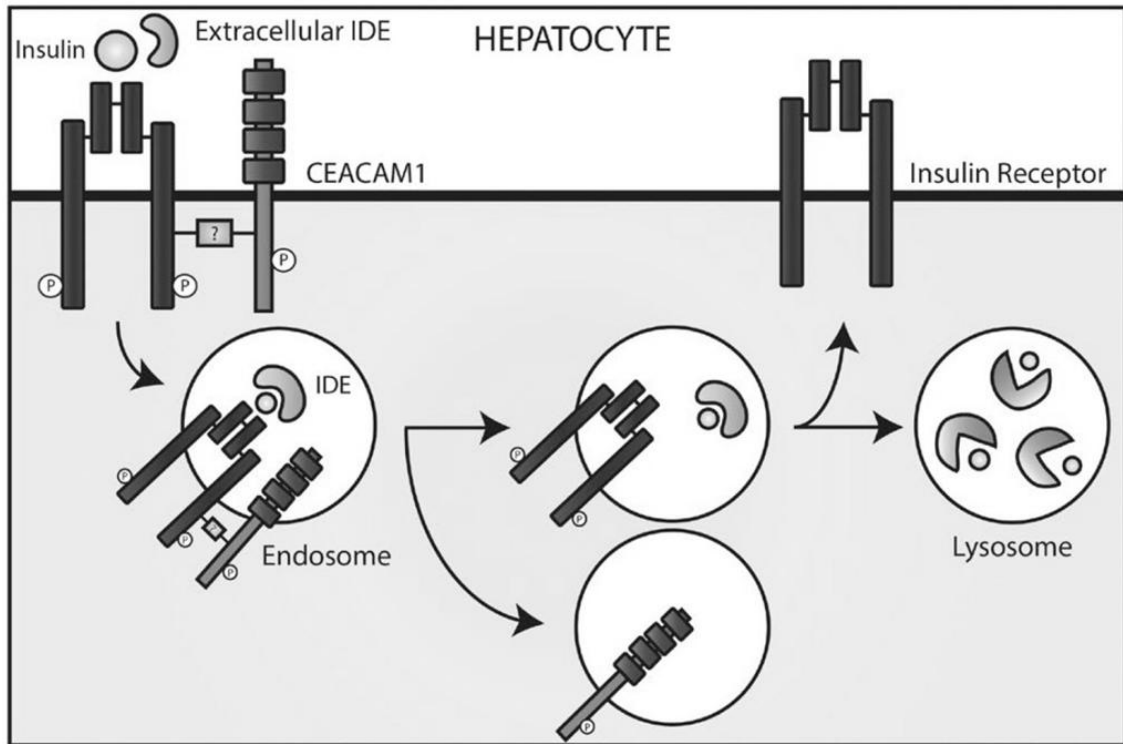


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Insulin-Clearance in der Leber

IDE: Insulin-degrading Enzym

Insulin bindet an Mikrovilli der Hepatozyten an den IR. In der Leber wird das transmembranöse Carcinoembryonic Antigen-related Cell Adhesion Molecule 1 (CEACAM1)-Glykoprotein in hoher Zahl exprimiert. Die pulsatile Insulin-Sekretion im Pankreas induziert den CEACAM1-Promotor, um über eine verstärkte Transkription die Expression von CEACAM1 an der Membran zu erhöhen [261]. Der IR phosphoryliert CEACAM1, was zu einer schnellen und effektiven Endozytose von Insulin führt [262]. Nach Verankerung in clathrin-coated pits (*dt.*: clathrin-beschichteten Vertiefungen) wird der Komplex in clathrin-vermittelter Endozytose in die Hepatozyten aufgenommen. Eine Abnahme des oberflächlichen IR ist die Folge. Unter normalen Bedingungen wird der IR schnell recycelt und zurück an die Plasmamembran gebracht [263]. Ob auch der IR in den Lysosomen abgebaut wird, hängt von Wirkungsdauer und Sättigungsdosierung von Insulin ab [264].

Der Abbauprozess von Insulin beginnt bereits vor der Internalisierung an der Membran mit dem Einwirken von extrazellulärem Insulin-degrading Enzym

[258]. Nach Aufnahme in die Endosomen wird Rezeptor-gebundenes Insulin erneut vom Insulin-degrading Enzym, welches aus dem Zytoplasma in die Endosomen aufgenommen wird, abgebaut [265]. Ein Ansäuern des Milieus im Endosom verursacht eine komplette Dissoziation von vollständigem Insulin bzw. den Abbau-Resten vom Rezeptor [266], [267]. Im Lysosom werden diese schlussendlich komplett proteolysiert [258].

Exenatid, ein Glucagon-like Peptide 1-Rezeptoragonist oder Inkretinmimetikum, hält physiologische Insulinkonzentrationen trotz stimulierender Wirkung auf die Insulinsekretion aufrecht, indem es parallel die Insulin-Clearance steigert. Es bindet an eine Untereinheit des CEACAM1-Promotors und regt diesen zur Transkription an [268]. Auch wird die CEACAM1-Transkription in vivo durch die verstärkte pulsatile Insulin-Sekretion unter Exenatid verstärkt [269].

1.4.3.2 Einflussfaktoren auf die Insulin-Clearance

Eine reduzierte Insulin-Clearance lässt sich bereits in gesunden Individuen mit erhöhtem Diabetes mellitus-Risiko nachweisen [270], ebenso bei übergewichtigen Jugendlichen [271]. Parameter verminderter Insulin-Clearance hängen gut mit unterschiedlichen Komponenten des Metabolischen Syndroms, einschließlich dessen Manifestationsrisikos, sowie Markern der Insulinsensitivität und -sekretion zusammen [272]. Bei Zunahme des Körpergewichts lässt sich eine signifikante Abnahme der Insulin-Clearance, bei Abnahme des Körpergewichts entsprechend allerdings auch eine Zunahme der Insulin-Clearance feststellen [253], [273], [274]. Die Insulin-Clearance korreliert auf inverse Art und Weise mit einer Insulinresistenz (gemessen als steady-state Plasmaglukose-Konzentration während eines Insulin-Suppressionstests) [275], [276]. Eine Steatosis hepatis korreliert mit der Entwicklung einer verminderten Insulin-Clearance sowie einer β -Zell-Dysfunktion, unabhängig von Übergewicht, auch bei Individuen ohne manifesten Diabetes mellitus [258], [277]–[279]. In vitro konnte klar gezeigt werden, dass die Insulin-Clearance in Triglycerid-beladenen Hepatozyten im Vergleich zu Hepatozyten ohne Triglycerid-Ansammlung signifikant vermindert ist [280]. Nach 12-wöchiger Behandlung mit dem Insulin-Sensitizer Rosiglitazon, verbesserte sich nicht nur die Insulin-Sensitivität (Abfall der steady-state Plasmaglukose), sondern war auch eine Verringerung der Insulin-Sekretion und Plasmainsulin-Konzentration sowie eine signifikante Zunahme der Insulin-Clearance zu verzeichnen [281]. Ebenso verminderte Rosiglitazon den intrahepatischen Triglycerid-Gehalt [282]. Ob die Zunahme der Insulin-Clearance nun Folge der Abnahme an hepatischem Triglycerid-Gehalt, oder als Konsequenz der verbesserten Insulinresistenz zu sehen ist, bleibt unklar.

Zuletzt konnte in Studien gezeigt werden, dass Salsalat, ein nicht-steroidales Antirheumatikum welches aus 2 gekoppelten Salizylsäure-Molekülen besteht, signifikant den Blutzucker, sowie HbA1c senkt [283]. Nach Behandlung mit Salsalat wurde kein Effekt auf die Insulin-Sekretion, wohl aber eine Abnahme der Insulin-Clearance festgestellt. Der genaue Mechanismus bleibt unklar.

Aus den Ergebnissen der Studien mit Rosiglitazon und Salsalat lässt sich ableiten, dass sehr wohl ein direktonaler Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und Insulin-Clearance besteht: Insulin-Sensitivität beeinflusst Insulin-Clearance, aber Insulin-Clearance verändert Insulin-Sensitivität nicht [275]. Trotz valider Daten, welche einen starken Zusammenhang zwischen reduzierter Insulin-Clearance und metabolischen Erkrankungen aufzeigen, bleibt unklar, wie die ursächliche Verbindung zwischen Insulinresistenz und ihrem Hauptkennzeichen, der Hyperinsulinämie, aussieht [266].

1.4.3.3 Zusammenhänge von Insulin-Clearance und Insulinresistenz

Verminderte Insulin-Clearance als Folge

Bei normalgewichtigen Gesunden konnte gezeigt werden, dass eine verminderte Insulin-Clearance als kompensatorischer Mechanismus zu einer konstanten Glukose-Aufnahme in den Skelettmuskel beitragen kann, wenn dieser bereits eine wenig verminderte Insulin-Sensitivität aufweist [284].

Die zugrunde liegenden physiologischen Vorgänge sind aktuell noch nicht vollständig geklärt. Diskutiert werden genetische Disposition [285], [286], metabolische Parameter, wie z.B. Hyperglykämie und freie Fettsäuren [287], [288]. Studien konnten zeigen, dass freie Fettsäuren nicht nur die Entwicklung von Insulinresistenz im Muskel [289], sondern auch eine verringerte Insulin-Clearance vermitteln [290]. Außerdem scheinen freie Fettsäuren wesentlich an der intrahepatischen Lipid-Akkumulation beteiligt zu sein [291]. Steatosis korreliert gut mit verminderter Insulin-Clearance und hepatischer Insulinresistenz [279].

Auch Muskelaktivität, wie z.B. beim aeroben Training, könnte eine verbindende Rolle einnehmen. Bekannt ist die Tatsache, dass regelmäßiges Training die Insulin-Sensitivität im Skelettmuskel verbessert [292]. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass Training sowohl zu erhöhter Insulin-Clearance als auch verstärkter Expression des Insulin-degrading-Enzyms in Leber und Skelettmuskel führt [293]. So scheint also aerobes Training nicht nur die Insulin-Sensitivität im Muskel, sondern auch die Insulin-Clearance zu steigern [284].

Verminderte Insulin-Clearance als Ursache

Es konnte in verschiedenen (Tiermodell-) Studien gezeigt werden, dass eine verminderte Insulin-Clearance ursächlich zu einem insulinresistenten Zustand beizutragen scheint. So fördert das CEACAM1-Glykoprotein die rezeptorvermittelte Aufnahme und Abbau von Insulin in Hepatozyten (vgl. 1.4.3.1). Eine Inaktivierung von CEACAM1 auf Leberebene, ebenso wie eine komplette Null-Mutation, führen zu verminderter hepatischer Insulin-Clearance, verursachen einen Zustand chronischer Hyperinsulinämie, sowie in der Folge Insulinresistenz und Adipositas [294]. Zusätzlich konnte durch fettreiche Diät ausgelöst, verminderten CEACAM1-Levels, sowie dadurch herbeigeführter reduzierter Insulin-Clearance, Hyperinsulinämie und Insulinresistenz, durch Leberspezifische CEACAM1-Überexpression entgegengewirkt werden [295], [296]. Die Entwicklung einer Insulinresistenz durch verminderte Insulin-Clearance wäre also via Hyperinsulinämie zu erklären. Hier sind hauptursächlich die limitierte pulsatile Insulin-Sekretion, Insulin-stimulierte Fett-Akkumulation, reduzierte Adipogenese von braunem Fettgewebe, Downregulation des Insulinrezeptors [297] und Post-Rezeptor-Mechanismen, z.B. Serin-Threonin-Phosphorylierung durch Insulin-stimulierte Kinasen, wie Erk oder S6K zu nennen [298], [299].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass es pathophysiologisch Ansätze gibt, die die Entwicklung einer Insulinresistenz als Folge einer verminderten Insulin-Clearance erklären. Dahingegen scheinen die Zusammenhänge einer verminderten Insulin-Clearance ausgehend von einer Insulinresistenz -nach wie vor- recht unklar. Letztlich bleibt unsicher, ob sich eine verminderte Insulin-Clearance als Folge einer veränderten Insulin-Sensitivität entwickelt oder die Ursache für einen schlussendlich insulinresistenten Zustand darstellt.

1.4.4 Pathophysiologische Zusammenhänge zwischen Diabetes mellitus, Hyperinsulinämie und Atherosklerose

Insulin wirkt an Gefäßen des Skelett- und Herzmuskels als Dilatator [300], [301]. Durch Stimulation des IR, durch Aktivierung des IRS-1, der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K), durch Phosphorylierung von Akt (Protein-kinase B) und folgender Phosphorylierung der eNOS vermittelt Insulin einen vasodilatatorischen Effekt [302]–[306]. Ebenso führt die Aktivierung des IRS/PI3K/Akt-Pathways zu einer gesteigerten Bildung von Vascular Endothelial Growth Factor [307], Hämoxxygenase-1 (HO-1) [308], sowie zu einer Reduktion von VCAM-1. Über diesen Stoffwechselweg vermittelt Insulin also einen anti-atherosklerotischen Effekt durch Vasodilatation, Reduktion von oxidativem Stress [309], Inflammation und Apoptose endothelialer Zellen [310] sowie verminderter Monozytenadhäsion (vgl. Abb. 10).

Als Gegenmechanismus stimuliert Insulin die Bildung von Endothelin-1 (ET-1) [302] und Plasminogenaktivatorinhibitor Typ 1 über den Mitogen-activated Protein (MAP)-Kinase-Mechanismus [306], [311]. Hieraus resultiert eine pro-atherosklerotische Aktivität vermittelt durch Vasokonstriktion und antifibrinolytischer Stoffwechsellage (vgl. Abb. 10).

Eine zunehmende Insulinresistenz des Endothels führt zu einer Down-Regulation von IRS-1 und -2 sowie konsekutiv einer verminderten Phosphorylierung von Akt und eNOS, wohingegen der ET-1-Stoffwechselweg unbeeinträchtigt bleibt [312], [313]. Dieser Zustand am Endothel wird auch als „selektive Insulinresistenz“ bezeichnet.

Hieraus resultiert eine Verstärkung und Beschleunigung der Atherosklerose-Entwicklung, was bei sog. Endothelial Insulin Receptor and Apolipoprotein E Knockout (EIRAKO)-Mäusen gezeigt werden konnte, welche die Eigenschaften ApoE-null und Knockout für das Insulinrezeptor-Gen in Endothelzellen aufzeigten. Dieser Effekt war unabhängig von Plasma-Insulinkonzentrationen, Fettstoffwechseleränderungen, Insulin-Sensitivität, Glukosetoleranz oder arteriellem Blutdruck. Allerdings konnte gezeigt werden, dass bei EIRAKO-Mäusen die Expression von VCAM-1 gesteigert wurde und so zu einer verstärkten Leukozytenadhäsion und -einwanderung ins Endothel führte [314].

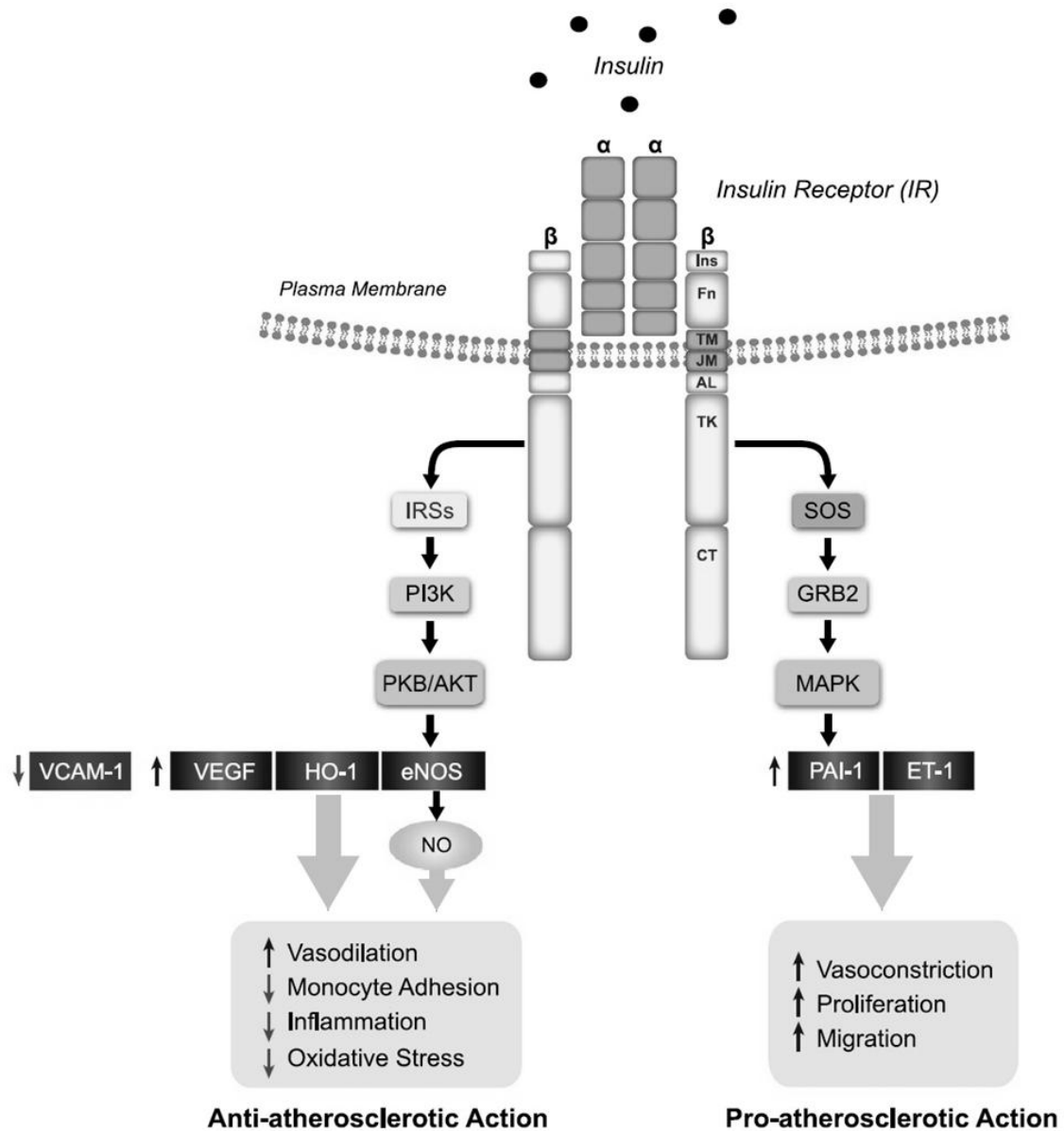


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Insulin-Signalwegs in Endothelzellen

AL: Activation Loop; **CT:** Carboxy-terminal Tail; **eNOS:** endotheliale NO-Synthase; **ET-1:** Endothelin-1; **Fn:** Fibronectin Type-Domänen; **GRB2:** Growth Factor Receptor-bound Protein 2; **HO-1:** Hämoxxygenase-1; **Ins:** Insert in Fn; **IRS:** Insulinrezeptor-Substrat; **JM:** Juxtamembran-Domäne; **MAPK:** Mitogen-activated Protein-Kinase; **NO:** Stickstoffmonoxid; **PAI-1:** Plasminogenaktivatorinhibitor Typ 1; **PI3K:** Phosphatidylinositol-3-Kinase; **PKB/AKT:** Proteinkinase B; **SOS:** „Son of Sevenless“, Guanine-nucleotide Exchange Factor; **TK:** Tyrosine-Kinase-Domäne; **TM:** Transmembran-Domäne; **VCAM-1:** Vascular-Cell Adhesion Molecule-1; **VEGF:** Vascular Endothelial Growth Factor.

Endothelzellen nehmen Glukose über den Insulin-unabhängigen Glukose-Transporter 1 nach intrazellulär auf. Dort wird überschüssige Glukose über den Polyol-Stoffwechselweg zu Fructose und stark glykierenden Metaboliten abgebaut [315]. Durch verschiedene Reaktionen ohne Beteiligung von Enzymen, wie Oxidation, Dehydration und Kondensation, entwickeln sich sogenannte Advanced Glycation Endproducts (AGEs) [316]. Über AGEs und dessen Rezeptor wird die Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Endotheloberfläche zur Migration und Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen vermittelt [317]. Zudem stimulieren AGEs Monozyten zur Sekretion der inflammatorischen Zytokine, z.B. TNF- α und IL-6 [318]. Nicht nur oxLDL, sondern auch durch AGEs und Glykierung modifiziertes LDL wird vom SR auf Makrophagen erkannt und regt diese zur Schaumzell-Bildung an [319].

1.4.5 Pathophysiologische Zusammenhänge zwischen Insulin- und Fettstoffwechsel

Auch lässt sich ein Zusammenhang von Insulin-Sekretion und Fettstoffwechsel beschreiben. In physiologischer Situation werden Insulinrezeptoren, CEACAM1 und Fettsäure-Synthase in Hepatozyten stark exprimiert. Als Folge der pulsati- len Insulin-Sekretion und hohen Insulin-Konzentration im Pfortadersystem bin- det internalisiertes, phosphoryliertes CEACAM1 an die Fettsäure-Synthase, welche hierauf vom Insulin-IR-Komplex getrennt wird. Physiologischerweise resultiert daraus nicht nur eine Destabilisierung des Insulin-IR-Komplexes, son- dern auch in einer Reduktion der hepatischen De-novo-Lipogenese [320], [321]. Im Gegensatz dazu führen eine verminderte pulsatile Insulin-Sekretion bzw. chronische Hyperinsulinämie über eine Abnahme der CEACAM1-Expression zu verminderter hepatischer Insulin-Clearance (vgl. 1.4.3.1), sowie über ein Sterol Regulatory Element Binding Protein und konsekutiver Aktivierung von Choleste- rin- und Triglycerid-Synthese, z.B. über die Fettsäure-Synthase, zu hepatischer Steatose und viszeraler Fettakkumulation [297], [322], [323]. Zwischen Ausmaß des Verlusts an hepatischer CEACAM1-Aktivität und Schweregrad der Steatose besteht ein linearer Zusammenhang [324]. Im Vergleich zu Menschen mit nied- rigem BMI oder WHR lässt sich bei übergewichtigen Menschen ein intrinsischer Verlust an hepatischem CEACAM1 feststellen [325].

1.4.6 Diabetes mellitus und der Intima-Media-Komplex

Im Vergleich zu Individuen ohne Diabetes mellitus zeigt sich bei Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus eine signifikante Zunahme der cIMT, die unabhängig vom Alter besteht [109], [185], [326]–[330]. Der Diabetes mellitus geht klar mit einem verstärkten Risiko der Atherosklerose der Carotiden einher [331]. Erhöhte Nüchtern glukose und Insulinlevel sind mit einer Zunahme der cIMT vergesellschaftet [332]–[335]. Die cIMT ist bereits im frühen Stadium eines Diabetes mellitus signifikant verdickt, hierbei fungiert die Dyslipidämie als relevanter Ko-Risikofaktor [7]. Auch gehen höhere, aber noch normwertige HbA1c-Werte, d.h. HbA1c < 6,5%, mit einer Zunahme der cIMT einher, sogar bei Individuen ohne gestörte Glukosetoleranz [8], [336]. Diese Korrelation zwischen HbA1c und cIMT scheint beim Gesunden im Vergleich zu Nüchtern glukose und 2h-Glukose stärker ausgeprägt [337]. In einem klinisch gesunden und relativ jungen Probandenkollektiv konnte gezeigt werden, dass, unabhängig vom Alter, erhöhte postprandiale Blutzuckerwerte, erhöhte periphere und hepatische Insulinresistenz, sowie β -Zell-Dysfunktion mit einer signifikanten Zunahme der cIMT, jedoch innerhalb des Normbereichs, einhergeht [338]. Auch scheint ein schwacher Zusammenhang zwischen erhöhter Nüchtern glukose und verdickter cIMT bei Gesunden zu bestehen [339].

2. Probanden, Material und Methodik

2.1 Probanden und Studiendesign

Die folgenden Querschnitts-Analysen sind Daten der Tübingener Lebensstil-Interventions-Programm-Studie (TULIP), welche Individuen mit erhöhtem Risiko für Diabetes mellitus Typ 2 erfasst. Die TULIP-Studie ist als longitudinale Diabetespräventionsstudie im Jahr 2003 konzipiert und initiiert worden. Zum Ziel hat sie u.a. eine Früherkennung von Vorstufen des Diabetes mellitus Typ 2 sowie von Folge- bzw. Begleiterkrankungen.

Am Untersuchungstag erschienen die Probanden nüchtern, definiert als eine mindestens 10-stündige Nahrungskarenz. Alle Probanden unterzogen sich einer körperlichen Untersuchung. Es wurde der Blutdruck an beiden Armen und anthropometrische Kenngrößen, wie Bauch-/Hüftumfang, Größe und Gewicht gemessen. Laboruntersuchungen inkl. oGTT sowie eine Messung der cIMT mittels Ultraschall wurden dementsprechend nüchtern durchgeführt. Ebenso wurde mit einer kernspintomographischen Untersuchung der Leberfettgehalt bestimmt.

Daten von 754 Probanden wurden ausgewertet, wovon 87 Personen aufgrund von unvollständigen Messwerten des oGTT (n=11) oder fehlenden Blutdruckwerten (n=76) ausgeschlossen wurden. Die Daten von 667 Individuen wurden für die endgültige Auswertung verwendet (vgl. Tab. 8).

Nach schriftlicher Aufklärung gaben alle Probanden ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Das Ethik-Komitee der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen genehmigte das Studienprotokoll (Projekt-Nummer 42/2003: „Prävention des Typ 2 Diabetes und seiner Gefäßkomplikationen“).

2.1.1 Einschlusskriterien

Als Einschlusskriterien wurden folgende Bedingungen festgelegt, wovon mindestens ein Kriterium erfüllt sein musste:

- positive Familienanamnese hinsichtlich Diabetes mellitus Typ 2
- BMI > 27 kg/m²
- bereits diagnostizierte IGT oder Gestationsdiabetes in der Vorgeschichte

2.1.2 Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterien wurden folgende Bedingungen festgelegt:

- bekannter Diabetes mellitus
- bekannte manifeste kardiovaskuläre Gefäßerkrankung, z.B. KHK und cAVK/pAVK
- akute Erkrankung
- Schwangerschaft und/oder Stillzeit

2.2 Methoden

2.2.1 Klinische Untersuchung

2.2.1.1 Körpergröße, Körpergewicht, Body-Mass-Index (BMI)

Bei sämtlichen Patienten wurde die Körpergröße im Stehen (ohne Schuhe) gemessen. Mit einer geeichten Personen-Standwaage (seca deutschland, Hamburg, Deutschland) wurde das Körpergewicht bestimmt.

Der BMI wurde nach folgender Formel berechnet [340]:

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

Tabelle 4: Einteilung bzw. Bewertung des BMI

BMI [kg/m²]	Interpretation
< 18,5	Untergewicht
18,5 - 24,9	Normalgewicht
25 - 29,9	Übergewicht
30 - 34,9	Adipositas Grad I
35 - 39,9	Adipositas Grad II
> 40	extreme Adipositas Grad III

2.2.1.2 Bauchumfang, Hüftumfang, Waist-to-Hip-Ratio (WHR)

Nach WHO-Kriterien wurde der Bauchumfang beim entkleideten, stehenden Patienten als Umfang zwischen unterster Rippe und Cristae iliacae mit einem flexiblen Maßband gemessen. Der Hüftumfang wurde als Umfang des Gesäßes ungefähr auf Höhe der Trochanteren definiert.

Die WHR errechnet sich als Quotient aus beiden Messwerten nach folgender Formel:

$$\text{WHR} = \frac{\text{Bauchumfang in m}}{\text{Hüftumfang in m}}$$

Der Normwert für die WHR liegt bei < 1,0 bei Männern und < 0,85 bei Frauen.

2.2.1.3 Arterieller Blutdruck

Der arterielle Blutdruck wurde beim sitzenden Probanden an beiden Oberarmen gemessen. Dabei wurde die Auskultationsmethode nach Riva-Rocci [341] verwendet. Die Messung wurde auf Herzhöhe vorgenommen. Vor der Messung wurde eine Ruheperiode eingehalten und körperliche Aktivität vermieden.

Tabelle 5: Einteilung der arteriellen Hypertonie nach aktueller ESC-Leitlinie

	systolischer Druck [mmHg]		diastolischer Druck [mmHg]
optimal	< 120	und	< 80
normal	120-129	und/oder	80-84
hoch-normal	130 - 139	und/oder	85 - 89
Hypertension Grad 1	140 - 159	und/oder	90 - 99
Hypertension Grad 2	160 - 179	und/oder	100 - 109
Hypertension Grad 3	≥ 180	und/oder	≥ 110
isolierte systolische Hypertonie	≥ 140	und	< 90

2.2.2 Ultraschall-Untersuchung

Der Untersucher war zum Zeitpunkt der Ultraschall-Messung weder über die klinischen, noch laborchemischen Ergebnisse der Probanden im Bilde. Die Darstellung und Messung der cIMT wurde im B-Bild mit einem hochauflösenden Linearschallkopf (10-13 MHz; AU5 Harmonic, ESAOTE BIOMEDICA, Hallbergmoos, Deutschland) durchgeführt.

Die Ultraschalluntersuchung fand jeweils in den frühen Morgenstunden vor Beginn des oGTT statt.

Ablauf

- Vorbereitung:
 - Abdunkeln des Untersuchungsraumes.
 - Der Patient liegt in Rückenlage mit leicht rekliniertem Kopf. Dieser ist zur kontralateralen Seite der Messung gedreht.
 - Das Anlegen eines Elektrokardiogramms erlaubt die genaue zeitliche Abstimmung der Messzeitpunkte auf die Herzaktion. Das Messen der cIMT erfolgte in der Systole (R-Zacke) [124]. Außerdem kann so die Messung des Gefäßdurchmessers standardisiert werden.
- Aufsuchen der ACC in Transversalebene.
 - Scannen der ACC auf: Lumeneinengungen, Plaques, intakte Gefäßwand.
- Darstellung in Longitudinalebene.
 - Aufsuchen eines parallelen Gefäßabschnitts mind. 0,5 cm proximal des Bulbus caroticus mit typischem Muster und horizontale Darstellung im Bildschirm.
 - mind. 3-malige Messung der cIMT (vgl. 1.2.3) an der schallkopffernen Wand auf einer Länge von 1 cm (vgl. Abb. 11) [121], [342].
 - mind. 3-malige Messung des Gefäßdurchmessers jeweils in Systole und Diastole zwischen den "leading-edges" der Intima-Lumen-Übergänge
- Durchführung des Verfahrens jeweils dreimal an jeder Seite.

Das Verfahren entspricht der erneuerten Fassung des „Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus“ von 2011 [117] und deckt sich mit der Leitlinie der American Society of Echocardiography zur Messung der cIMT von 2008 [11]. Aus den erhobenen Werten wurde seitenbezogen jeweils der Mittelwert gebildet, da dieser eine verlässlichere Aussage zulässt [343]. Aus den beiden Mittelwerten wurde ein gemeinsamer gebildet, wissend, dass die IMT der linken ACC physiologischerweise dicker als die rechte ist [128]. Dies entspricht der Empfehlung der American Society of Echocardiography aus der Leitlinie zur Messung der cIMT von 2008 [11]. Die Darstellung der cIMT als mean-mean, d.h. gemeinsamer Mittelwert aus den Mittelwerten von je 3 bilateralen Messungen, erhöht aufgrund der Vielzahl an Messungen die Reproduzierbarkeit, lässt aber eine schlechtere Aussage zu Veränderungen im Verlauf zu. Für diese Zielsetzung würde sich die Darstellung als mean-maximum, d.h. gemeinsamer Mittelwert der bilateralen Maximalmessungen, empfehlen, welche allerdings aufgrund der punktuellen Messwerten weniger reproduzierbar ist [11].



Abbildung 11: cIMT-Messung mittels Ultraschall

2.2.3 Magnetresonanztomographie

Der Gehalt an Leberfett wurde mittels Magnetresonanz-Protonenspektroskopie bestimmt. Die Magnetresonanz-Bildgebung und Messungen der Magnetresonanz-Protonenspektroskopie wurden an einem 1,5 Tesla Ganzkörper-Tomographen (Magnetom Sonata; Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland) ebenfalls in den frühen Morgenstunden nach einer nächtlichen Nahrungskarenz durchgeführt. Der Gehalt an Leberfett wird in Prozent (%) angegeben.

2.3 Laboruntersuchungen

Bei allen Probanden wurden nach einer mindestens 10-stündigen, nächtlichen Nahrungskarenz venöse Blutproben aus den Ellbeugenvenen entnommen.

2.3.1 Oraler Glukosetoleranztest (oGTT)

Bei allen Probanden wurde vormittags ein oGTT durchgeführt (vgl. Tab. 6). Zur Minimierung der zirkadianen Stoffwechselschwankungen wurden zwischen 7:30 Uhr und 9:30 Uhr die Nüchternwerte abgenommen und der oGTT begonnen. Die Probanden wurden dazu angehalten, in den Wochen vor dem Test ihre Ernährungsgewohnheiten beizubehalten und unmittelbar vor dem Test eine 10-stündige Nahrungskarenz einzuhalten. Es wurde die Glukoselösung von 75 g Glukose in 300 ml Flüssigkeit (Dextro O.G.T. ®, Hoffmann- La Roche AG) verwendet.

Blutentnahmen wurden jedoch zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 90 und 120 min durchgeführt.

Zur Auswertung des oGTT wurden die Richtlinien der WHO und der American Diabetes Association herangezogen. [344]

Tabelle 6: WHO-Standard des 75g-oralen Glukosetoleranztests (oGTT)

Durchführung der Untersuchung am Morgen
<ul style="list-style-type: none">• nach einer 8-12-stündigen Abstinenz von Nahrung, Nikotin und Alkohol• im Sitzen oder Liegen (ohne Muskelbewegung), kein Rauchen vor oder während der Untersuchung
Zum Zeitpunkt 0 min: Trinken von 75g Glukose (oder einer äquivalenten Menge an hydrolysiertes Stärke), gelöst in 250-300 ml Wasser, in 5 min
<ul style="list-style-type: none">• bei Kindern 1,75g/kg (max. 75g)• venöse Blutentnahmen zum Zeitpunkt 0 und 120 min• saubere Probenverarbeitung und -aufbewahrung

2.3.2 Gemessene Laborparameter

Für die Bestimmung der Plasmaglukose wurde die Glukose-Oxidase-Methode verwendet (Yellow Springs Instrument Co., Inc., Yellow Springs, Ohio). Sie wird in mmol/l angegeben.

Konzentrationen von Plasmainsulin und C-Peptid wurden mit einem Chemilumineszenz-Assay für ADVIA Centaur® XPT Immunoassay System (Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland) bestimmt. Sie werden in pmol/l angegeben.

Die Serum-Proinsulin-Konzentrationen wurde über ein Enzyme-linked Immunosorbent Assay (IBL, Hamburg, Deutschland) in einem BEP 2000 Advanced® System (Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland) bestimmt. Sie wird ebenfalls in pmol/l angegeben.

Glykiertes Hämoglobin (HbA1c) wurde mit einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gemessen (Tosoh 2.2 HLC-723 G8; Tosoh Bioscience, Tokyo, Japan) und wird in Prozent (%) angegeben.

Gesamtcholesterin, HDL und LDL, sowie Serum-Triglyceride wurden aus Plasma mit dem ADVIA® Chemistry XPT System (Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland) bestimmt. Ebenso wurde das hochsensitive C-reaktive Protein (hsCRP) gemessen. Die Angabe erfolgt jeweils in mg/dl.

2.3.3 Berechnete Laborparameter

Homeostasis Model Assessment Test of Insulin Resistance (HOMA-IR)

Zur Ermittlung der Insulinresistenz gilt der hyperinsulinäme, euglykämische "Clamp"-Test als Goldstandard [345]. Er lässt Aussagen über die Sensitivität der β -Zellen des Pankreas auf den Blutzuckerspiegel sowie über die Insulinsensitivität des peripheren Gewebes zu. Aufgrund wiederholter Blutentnahmen zum Monitoring der Blutkonzentrationen, sowie Bolusgaben bzw. kontinuierlichen Infusionen von Glukose und Insulin ist er in der Durchführung sehr aufwändig.

Der HOMA-IR stellt ein gutes Maß für die Insulin-Sensitivität, vergleichbar mit Ergebnissen aus der "Clamp"-Technik, dar [346].

Der HOMA-IR wurde aus den Werten des oGTT nach Matthews et al. berechnet [347].

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Nüchterninsulin } [\mu\text{U/ml}] \times \text{Nüchternglukose } [\text{mmol/l}]}{22,5}$$

Bei Angabe der Nüchternglukose in mg/dl wird mit 405, statt mit 22,5 dividiert.

Tabelle 7: Bewertung des HOMA-IR

HOMA-IR	Interpretation
≤ 1	normal
> 2	Hinweis auf eine Insulinresistenz
$> 2,5$	Insulinresistenz sehr wahrscheinlich
> 5	Durchschnittswert bei Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus Typ-2

Insulin-Sensitivity-Index

Der Insulin-Sensitivity-Index wurde nach Vorlage von Matsuda und De Fronzo berechnet [348]. In dieser Studie wird die Bezeichnung Insulinresistenz (ISI-Mats) verwendet.

$$\text{ISI-Mats} = \frac{10000}{\sqrt{(\text{FPG} \times \text{FPI}) \times (\text{mGlc} \times \text{mIns})}}$$

FPG [mg/dl]= fasting plasma glucose

FPI [μ U/ml]= fasting plasma insulin

mGlc [mg/dl]= Mittelwert (Glc₀, Glc₃₀, Glc₆₀, Glc₉₀, Glc₁₂₀)

mIns [μ U/ml]= Mittelwert (Ins₀, Ins₃₀, Ins₆₀, Ins₉₀, Ins₁₂₀)

Bei einem ISI-Mats von $\leq 2,5$ geht man von einer gestörten Insulin-Sensitivität, also höherer Insulinresistenz, aus [349].

Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR)

Unter Verwendung der Modification of Diet in Renal Disease (MDRD)-Formel wurde die glomeruläre Filtrationsrate abgeschätzt [350]. Sie wird in ml/min/1,73m² der Körperoberfläche angegeben.

$$4\text{-v-MDRD} = 186,3 \times \left(\frac{S_{\text{Cr}}}{88,4}\right)^{-1,154} \times \text{Alter}^{-0,203} \times (0,742 \text{ bei Frauen}) \\ \times (1,21 \text{ bei schwarzer Hautfarbe})$$

S_{Cr}[μ mol/l]= Serum-Kreatinin

Alter [Jahre]

Insulin-Clearance

Mit Hilfe der linearen Trapezregel, hier $0,5 \times (0,5 \times c_0 + c_{30} + c_{60} + c_{90} + 0,5 \times c_{120})$, wurde die Area Under the Curve (AUC) mit c =Konzentration für die Parameter Glukose, Insulin und C-Peptid über die gesamte Zeit ($t=120$ min) des

oGTT angegeben. Die $AUC_{\text{Insulin}(0-30)}/AUC_{\text{Glukose}(0-30)}$ wurde folgendermaßen berechnet: $(I_0+I_{30})/(G_0+G_{30})$, analog dazu auch die $AUC_{\text{C-Peptid}(0-30)}/AUC_{\text{Glukose}(0-30)}$ [351].

Die Nüchtern-Insulinclearance wurde aus $C\text{-Peptid}_0/\text{Insulin}_0$ und die Glukose-stimulierte bzw. Gesamt-Insulinclearance aus $AUC_{\text{C-Peptid}(0-120)}/AUC_{\text{Insulin}(0-120)}$ über die Gesamt-Zeit des oGTT berechnet. Die Angabe erfolgt in AU, d.h. arbitrary unit.

Weitere Parameter

Der Insulinogen-Index-1 wurde aus $(\text{Insulin}_{30}-\text{Insulin}_0)/(\text{Glukose}_{30}-\text{Glukose}_0)$, der Insulinogen-Index-2 aus $(\text{Insulin}_{30}-\text{Insulin}_0)/\text{Glukose}_{30}$ berechnet [352], [353].

Aus Insulinogen-Index1/ Insulin_0 wurde der sog. Oral Disposition Index berechnet, welcher ein Maß für die an Insulin-Sensitivität angepasste β -Zell-Funktion darstellt [354], [355].

2.4 Statistische Auswertung

Normalverteilte Daten werden als Mittelwerte mit Standardabweichungen dargestellt, sofern nicht anderweitig angegeben. Vor der Analyse wurden die Datensätze, welche nicht normalverteilt waren, logarithmisch umgeformt (Shapiro-Wilk W-Test), um einer Normalverteilung nahezukommen. Um Gruppen zu vergleichen wurde der Zweistichproben-t-Test angewendet. Es wurde eine multivariate, lineare Regressionsanalyse durchgeführt, um Kovariaten zu bereinigen und um unabhängige Zusammenhänge zu identifizieren. Effektgrößen wurden als standardisierte beta-Koeffizienten bzw. Regressionskoeffizienten (β_{st}) angegeben.

Ergebnisse der schrittweisen multivariaten Regressionsanalyse mit fünffachem Kreuzvalidierungsverfahren werden als k-fach r^2 angegeben.

Alle numerischen Variablen wurden als kontinuierliche Variablen verwendet und alle t-Tests als zweiseitige Student-t-Tests durchgeführt.

Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant bewertet.

Für die Analysen wurde die Statistik-Software JMP[®] 13.0 (SAS Institute, Cary, NC) verwendet.

3. Ergebnisse

3.1 Anthropometrische und metabolische Daten der gesamten Studienpopulation

In Tabelle 8 sind sämtliche anthropometrische und metabolische Daten der Studienpopulation aufgeführt. In eckigen Klammern [] stehen die Einheiten, respektive die Anzahl an Probanden. Die Charakteristika der Gesamtpopulation, sowie dann aufgetrennt nach Geschlecht, sind jeweils als Median \pm Standardabweichungen angegeben. Die Spalte „Bereich“ erfasst die Größe des Bereichs, in dem die Messwerte des jeweiligen Parameters liegen.

Bei einer Gesamtpopulation von 667 Probanden entfallen 250 auf das männliche und 417 auf das weibliche Geschlecht. Das Altersmittel beträgt über die gesamte Population $44,1 \pm 12,4$ Jahre, wobei zwischen den Geschlechtern kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen ist.

Von den 667 Probanden wiesen 31 die Kriterien eines Diabetes mellitus auf. Bei 215 Probanden waren Auffälligkeiten im Sinne einer IFG oder IGT bzw. beiden parallel zu sehen und entsprachen daher den Kriterien eines Prädiabetes [356]. Eine geschlechtsspezifische Auftrennung ist in Tab. 8 aufgelistet.

Es fallen relevante Unterschiede zwischen den Geschlechtern in Größe und Gewicht, sowie Bauchumfang und WHR auf. Ebenso lassen sich bei RR_{sys} und RR_{diast} sowie HOMA-IR und ISI-Mats signifikante Geschlechtsunterschiede feststellen. Die Männer zeigen hier die „metabolisch schlechteren“ Werte auf. Der BMI bleibt ohne signifikanten Unterschied zwischen Frauen und Männern.

Relevante geschlechtsspezifische Unterschiede lassen sich auch bei der Nüchtern glukose und -insulin, der Gesamt-Insulinclearance, den Triglyceriden, dem HDL-Cholesterin, sowie dem Leberfettgehalt nachweisen. Beim hsCRP weisen die Männer signifikant höhere Werte auf. Auch die eGFR zeigt eine geschlechtsspezifische Signifikanz mit höheren Werten bei den Männern.

Zwischen den Geschlechtern finden sich weiter keine signifikanten Unterschiede beim HbA1c, Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin und Rauchen.

Tabelle 8: Anthropometrische und metabolische Daten der gesamten Studienpopulation

	Gesamt- population [n=667]	Bereich	Männer [n=250]	Frauen [n=417]	p-Wert nach ANOVA *
Alter [Jahren]	44,1 ± 12,4	14-74	44,7 ± 12,9	43,7 ± 12,1	0,32
Größe [cm]	171,1 ± 9,0	148 - 199	179,0 ± 6,7	166,3 ± 6,4	< 0,0001
Gewicht [kg]	89,7 ± 19,0	45,5 - 189,9	99,2 ± 19,2	84,1 ± 16,5	< 0,0001
BMI [kg/m²]	30,5 ± 5,8	17,1 - 63,7	30,9 ± 5,7	30,4 ± 5,8	0,27
Bauchumfang [cm]	98,2 ± 14,4	56 - 171	105,9 ± 13,7	93,5 ± 12,8	< 0,0001
Waist-to-Hip-Ratio (WHR)	0,9 ± 0,1	0,6 - 1,2	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1	< 0,0001
RR_{syst} [mmHg]	127,5 ± 17,7	82 - 186	131,3 ± 16,6	125,3 ± 18,0	< 0,0001
RR_{diast} [mmHg]	79,9 ± 11,4	49 - 125	81,3 ± 11,9	79,0 ± 11,0	0,01
Nüchtern-glukose [mmol/l]	5,3 ± 0,6	4,17 - 7,72	5,4 ± 0,6	5,3 ± 0,5	< 0,0001
120min-Glukose oGTT [mmol/l]	7,0 ± 2,0	3,4 - 15,56	7,1 ± 2,0	6,9 ± 2,0	0,41
Nüchterninsulin [pmol/l]	55,7 ± 38,1	6 - 303	61,0 ± 44,5	52,5 ± 33,3	0,006
Nüchternproinsulin [pmol/l]	5,5 ± 6,3	0,64 - 63	6,1 ± 6,1	5,1 ± 6,5	0,06
Nüchtern-Insulinclearance [pmol/l]	13,2 ± 5,2	4,58 - 41	13,0 ± 5,3	13,2 ± 5,2	0,53
Gesamt-Insulinclearance [AU]	6,7 ± 2,5	2,17 - 22,56	6,3 ± 2,5	6,9 ± 2,5	0,006
Insulin-Sensitivität (ISI-Mats), oGTT-abhängig [AU]	15,4 ± 9,5	1,84 - 87,17	14,4 ± 9,9	16,1 ± 9,2	0,01
HOMA-IR	2,2 ± 1,7	0,2 - 16,0	2,5 ± 2,1	2,1 ± 1,4	0,003
HbA1c [%]	5,6 ± 0,5	4,1 - 7,3	5,6 ± 0,5	5,6 ± 0,4	0,84
Oral Disposition Index	2,8 ± 3,9	0,2 - 77,1	2,5 ± 2,5	2,9 ± 4,5	0,12
Gesamtcholesterin [mg/dl]	196,3 ± 37,3	94 - 350	196,2 ± 35,6	196,3 ± 38,3	0,87
Triglyceride [mg/dl]	126,4 ± 78,5	31 - 871	150,4 ± 98,7	112,1 ± 59,1	< 0,0001
LDL-Cholesterin	122,4 ±	27 - 263	125,7 ±	120,5 ±	0,06

[mg/dl]	33,2		32,0	33,8	
HDL-Cholesterin [mg/dl]	52,1 ± 12,9	27 - 110	45,5 ± 8,5	56,0 ± 13,5	< 0,0001
hsCRP [mg/dl]	0,3 ± 0,3	0,01 - 2,31	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,4	< 0,0001
IL-6 [pg/ml] [n=196]	1,15 ± 1,95	0,02 - 24	0,05 - 24	1,02 ± 1,08	0,21
Geschätzte GFR [ml/min/1,73m²]	84,3 ± 18,9	49,3 - 177,7	87,4 ± 17,7	82,4 ± 19,3	0,0008
cIMT [mm]	0,57 ± 0,13	0,28 - 1,04	0,59 ± 0,13	0,55 ± 0,12	0,0003
Leberfettgehalt [%] [n=484]	6,6 ± 6,9	0,09 - 37,55	8,6 ± 7,3	5,4 ± 6,3	< 0,0001
VAT%BWT [%] [n=503]	3,6 ± 1,8	0,4 - 10,2	5,0 ± 1,8	2,8 ± 1,3	< 0,0001
Raucher [ja/nein]	92 / 559 [14,1 %]		38 / 204 [15,7 %]	54 / 355 [13,2 %]	0,38 (Pearson)
NGT / IFG / IGT / IFG+IGT / Diabetes mellitus	421 / 88 / 67 / 60 / 31		143 / 40 / 23 / 29 / 15	278 / 48 / 44 / 31 / 16	

* = p-Level für Unterschied zwischen Frauen und Männern (Zweistichproben-t-Test)

In Tabelle 9 sind die Messungen der cIMT, getrennt nach Geschlecht und Altersklassen, aufgeführt.

Die cIMT steigt mit zunehmendem Alter an. Außerdem zeigt sich bei Männern im Vergleich zu Frauen entsprechend in den jeweiligen Altersgruppen ein höherer Messwert der cIMT.

Tabelle 9: cIMT-Messungen nach Altersklassen

Altersklassen [Jahre]	Gesamtpopulation [n=667]			Frauen [n=417]			Männer [n=250]		
	n	cIMT [mm]	90%- Quantil	n	cIMT [mm]	90%- Quantil	n	cIMT [mm]	90%- Quantil
18-29	n=112	0,46 (0,08)	0,57	n=68	0,44 (0,07)	0,54	n=44	0,47 (0,09)	0,62
30-39	n=114	0,51 (0,08)	0,62	n=73	0,49 (0,07)	0,58	n=41	0,54 (0,08)	0,65
40-49	n=188	0,57 (0,10)	0,69	n=127	0,56 (0,10)	0,68	n=61	0,59 (0,10)	0,75
50-59	n=176	0,62 (0,11)	0,76	n=107	0,61 (0,10)	0,75	n=69	0,63 (0,12)	0,80
60-69	n=72	0,70 (0,13)	0,89	n=39	0,69 (0,12)	0,87	n=33	0,72 (0,13)	0,90
> 70	n=3	0,85 (0,22)	1,04	n=1	0,61 (--)	--	n=2	0,97 (0,10)	1,04

3.2 Univariate Analyse möglicher demographischer und metabolischer Einflussfaktoren auf den Intima-Media-Komplex

Zuerst wurde eine univariate Analyse durchgeführt, um mögliche Einflussfaktoren auf die cIMT zu ermitteln. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Signifikante Korrelationen mit verbreiteter cIMT ließen sich bei erhöhtem Alter, Bauchumfang, BMI, WHR, Blutdruck und Dyslipidämie nachweisen. Hinsichtlich der Dyslipidämie bestanden Positiv-Korrelationen von Triglyceriden, Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin sowie eine Negativ-Korrelation beim HDL-Cholesterin. Leberfett sowie Gehalt des viszeralen Fettes bezogen auf das Körpergewicht zeigten ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang.

Weiter ließ sich feststellen, dass die Nüchtern glukose und Insulinämie positiv, der ISI-Mats negativ mit der cIMT korreliert. Der HOMA-IR hing signifikant mit der cIMT zusammen. Für den Oral Disposition Index ließ sich eine Negativ-Korrelation identifizieren.

Die Gesamt-Insulin clearance zeigte eine negative Korrelation, wohingegen das Verhältnis mit der Nüchtern-Insulin clearance mit $p=0,05$ keine statistische Signifikanz erreichte.

Hinsichtlich unspezifischer, inflammatorischer Marker konnte für hsCRP und IL-6 eine signifikante Korrelation gezeigt werden. Für $TNF\alpha$ dahingegen nicht.

Für die eGFR ließ sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zeigen ($p=0,27$).

Tabelle 10: Univariate Analyse möglicher demographischer und metabolischer Einflussfaktoren auf die cIMT

Variable	β_{st}	p-Wert
Alter	0,63	< 0,0001
BMI	0,27	< 0,0001
Bauchumfang	0,37	< 0,0001
WHR	0,32	< 0,0001
RR _{syst}	0,37	< 0,0001
RR _{diast}	0,28	< 0,0001
Nüchtern glukose	0,31	< 0,0001
Nüchtern insulin	0,20	< 0,0001
Nüchtern proinsulin	0,03	0,39
Nüchtern-Insulinclearance	-0,08	0,05
Gesamt-Insulinclearance	-0,17	< 0,0001
Insulin-Sensitivität (ISI-Mats)	-0,28	< 0,0001
HOMA-IR	0,24	< 0,0001
HbA1c	0,27	< 0,0001
Oral Disposition Index	-0,22	< 0,0001
Gesamt-Cholesterin	0,21	< 0,0001
Triglyceride	0,18	< 0,0001
LDL-Cholesterin	0,18	< 0,0001
HDL-Cholesterin	-0,12	0,003
hsCRP	0,10	0,013
IL-6	0,15	0,04
TNF α	0,08	0,25
eGFR	-0,04	0,27
Leberfettgehalt	0,30	< 0,0001
VAT%BWT	0,48	< 0,0001

3.3 Multivariate Regressionsanalysen mit Intima-Media-Komplex als unabhängige Variable

Zur Identifizierung von unabhängigen Einflüssen auf die cIMT wurde dann eine schrittweise multivariate Regressionsanalyse mit der cIMT als abhängiger Variablen durchgeführt. Das vorwärtsgerichtete, schrittweise Regressionsmodell mit fünffacher Kreuzvalidierung identifizierte Alter, Gesamt-Insulinclearance, RR_{sys} , BMI, Geschlecht und Nüchtern-Insulinclearance als Einflussfaktoren der cIMT. Nach dem Alter war die Gesamt-Insulinclearance die stärkste Determinante, sogar noch vor den bekannten traditionellen Risikofaktoren wie RR_{sys} und BMI. In Tabelle 11 sind die Ergebnisse nach ihrer Signifikanz in Bezug auf die cIMT aufgelistet.

Tabelle 11: Schrittweise multivariate Regressionsanalyse mit cIMT als unabhängiger Variablen

Variable	k-fach r^2	p-Wert
Alter	0,3936	< 0,0001
Gesamt-Insulinclearance	0,4588	< 0,0001
RR_{sys}	0,4768	< 0,0001
BMI	0,4832	0,002
Geschlecht	0,4852	0,013
Nüchtern-Insulinclearance	0,4845	0,030
HbA1c	0,4833	0,06
Proinsulin120/Insulin120	0,4840	0,23
hsCRP	0,4831	0,32
Proinsulin0/Insulin0	0,4833	0,42
$AUC_{\text{Insulin}}(0-120)$	0,4836	0,37
Nüchternglukose	0,4819	0,41
Insulinogen-Index 2	0,4717	0,50
$AUC_{\text{C-Peptid}}(0-30)/AUC_{\text{Glukose}}(0-30)$	0,4713	0,70
ISI-Mats	0,4710	0,49

Auf Grundlage dieser Ergebnisse wurde eine statistische Auswertung als multiple lineare Regressionsanalyse mit den signifikanten Variablen konfiguriert. Im Modell, welches Alter, Nüchtern- und Gesamt-Insulinclearance, RR_{sys} , BMI und Geschlecht beinhaltete, zeigte die Gesamt-Insulinclearance eine klare unabhängige Korrelation mit der cIMT (vgl. Abb. 12 und Tab. 12). Alter und Gesamt-Insulinclearance waren die Merkmale, welche statistisch am stärksten mit vergrößerter cIMT einhergingen, sogar nach zusätzlichem Abgleich mit weiteren CVRF und Entzündungsparameter, wie LDL-Cholesterin, Rauchen und hsCRP (vgl. Tab. 13).

Als nächsten Schritt wurden Analysen hinsichtlich der Insulin-Clearance in Subgruppen durchgeführt: neu diagnostizierter Diabetes mellitus (n=31), IFG (n=88), IGT (n=67), IFG und IGT (n=60) und in der Gruppe mit NGT (n=421) durch. In univariaten Analysen ließen sich in den Subgruppen mit NGT ($\beta_{\text{st}}=-0,11$; $p=0,03$) und neu diagnostiziertem Diabetes mellitus ($\beta_{\text{st}}=-0,39$; $p=0,03$), sowie in der Subgruppe mit IFG ($\beta_{\text{st}}=-0,27$; $p=0,01$) signifikante Korrelationen zwischen cIMT und der Gesamt-Insulinclearance nachweisen. Die Subgruppen mit IGT und parallel IFG und IGT blieben ohne statistische Signifikanz ($p=0,16$ bzw. $p=0,23$). In der schrittweisen Regressionsanalyse war die Gesamt-Insulinclearance sowohl in der Subgruppe mit NGT ($r^2=0,4301$; $p<0,0001$) als auch mit neu diagnostiziertem Diabetes mellitus ($r^2=0,2828$; $p=0,0378$) als unabhängige Determinante der cIMT zu identifizieren. In der Subgruppe mit IFG war dieser Zusammenhang nicht signifikant. Nach Ausschluss der Probanden mit neu diagnostiziertem Diabetes mellitus (n=33) wurden sowohl das Alter ($r^2=0,3995$; $p<0,0001$) als auch die Gesamt-Insulinclearance ($r^2=0,4685$; $p<0,0001$) als stärkste und unabhängigste Einflussfaktoren der cIMT im vorwärtsgerichteten, schrittweisen Regressionsmodell ermittelt.

Zudem konnten Geschlecht und Leberfettgehalt als mögliche Einflussfaktoren der o.g. Ergebnisse ausgeschlossen werden. Zwischen Geschlecht und Gesamt-Insulinclearance konnte keine Interaktion auf die cIMT nachgewiesen werden ($p=0,91$). Weder unkorrigiert ($p=0,72$) noch bereinigt um Alter und Ge-

schlecht ($p=0,24$) konnte zwischen Leberfettgehalt und Gesamt-Insulinclearance ein Zusammenhang auf die cIMT festgestellt werden. Passend dazu blieb die Korrelation zwischen Gesamt-Insulinclearance und cIMT weiter bestehen, nachdem für Leberfettgehalt, Alter und Geschlecht bereinigt wurde ($\beta_{st}=-0,25$, $p<0,0001$). Nach Erweiterung der oben beschriebenen schrittweisen multivariaten Regressionsanalyse mit cIMT als abhängiger Variablen (vgl. Tab. 11) um den Leberfettgehalt, ließ sich hier keine Korrelation nachweisen ($r^2=0,5147$, $p=0,5307$).

Außerdem konnte kein Zusammenhang zwischen eGFR und cIMT ermittelt werden. Weder in der gesamten Population, noch nach Ausschluss von Probanden mit eingeschränkter Nierenfunktion ($n=48$), d.h. $eGFR < 60$ ml/min/1,73m², wurde eine statistische Signifikanz erreicht ($p=0,27$ bzw. $p=0,8$). Auch konnte keine Korrelation zwischen eGFR und Gesamt-Insulinclearance mit der cIMT nachgewiesen werden ($p=0,25$).

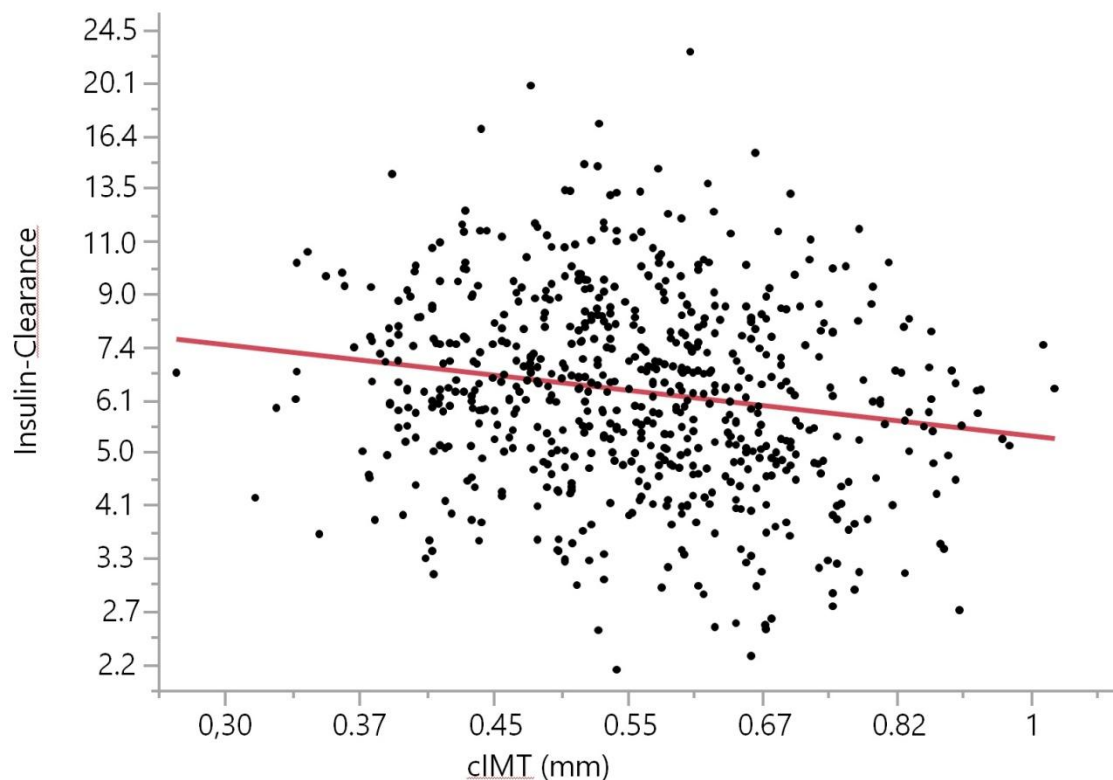


Abbildung 12: Lineare Korrelation von Insulin-Clearance und cIMT

Tabelle 12: Multiple lineare Regressionsanalyse mit cIMT als abhängiger Variable

Variable	Schätzer (β_{st})	Standardfehler	p-Wert
Alter	0,60	0,02	< 0,0001
Geschlecht	-0,08	0,01	0,001
BMI	0,11	0,04	0,001
RR _{sys} t	0,12	0,05	0,001
Gesamt-Insulinclearance	-0,16	0,02	< 0,0001

Tabelle 13: Erweiterte multiple lineare Regressionsanalyse mit cIMT als abhängiger Variable

Variable	Schätzer (β_{st})	Standardfehler	p-Wert
Alter	0,62	0,02	< 0,0001
Geschlecht	-0,09	0,01	0,003
BMI	0,08	0,04	0,017
RR _{sys} t	0,11	0,05	0,001
Gesamt-Insulinclearance	-0,16	0,02	< 0,0001
LDL-Cholesterin	-0,01	0,02	0,71
hsCRP	0,06	0,01	0,06
Rauchen	0,01	0,01	0,98

4. Diskussion

Wie eingangs beschrieben war es Ziel dieser Arbeit glykämische Parameter und Insulinindizes auf ihren relativen Beitrag zu subklinischer Atherosklerose zu untersuchen. Gesichert ist, dass ein Diabetes mellitus zu den wichtigsten Risikofaktoren für die Entstehung aber auch Progression kardiovaskulärer Folgeerkrankungen zählt.

Es gilt auch als gesichert, dass die Insulinresistenz eine maßgebliche Rolle in der Entwicklung eines manifesten Diabetes mellitus einnimmt. Inwiefern allerdings die Insulin-Clearance, als Modulator der Insulin-Homöostase, überhaupt ein nennenswerter Stellenwert hinsichtlich Atherosklerose zugedacht werden kann, ist nicht hinreichend bekannt.

Ein erster Blick richtet sich in dieser Arbeit auf bekannte Risikofaktoren im Zusammenhang mit subklinischer Atherosklerose und folgend auf den Parameter Insulin-Clearance.

4.1 Charakterisierung der Studienpopulation

Die signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern in Größe und Gewicht, sowie Bauchumfang und WHR lassen sich plausibel mit den unterschiedlichen geschlechtsspezifischen Konstitutionen, besser dem androiden Fettverteilungstyp erklären. Dazu passt auch der erhöhte Anteil an viszeralem Fettgewebe und höherem Leberfettgehalt bei den Männern.

Ergänzend lässt sich feststellen, dass bei Männern die Parameter, welche zur Diagnose eines "Metabolischen Syndroms" beitragen, häufiger auftraten als bei Frauen. Zu den Parametern gehören: (stammbetonte) Adipositas (hier als WHR oder BMI gemessen), gestörter Lipidstoffwechsel (erniedrigtes HDL-Cholesterin, erhöhte Triglyceride), erhöhter Blutdruck und erhöhte Nüchternblutglukose bzw. manifester Diabetes mellitus. Die geschlechtsspezifische Signifikanz der eGFR mit höheren Werten bei den Männern ist über die erhöhte Muskelmasse zu erklären.

Passend zu vorangegangenen Untersuchungen zeigt sich auch in dieser Population ein Unterschied bzgl. der cIMT zwischen den Geschlechtern, d.h. erhöhte Messwerte bei den Männern [125]–[127]. Außerdem decken sich die Ergebnisse mit der Tatsache, dass die cIMT vom Alter abhängig ist und mit der Alterung zunimmt [126], [127].

Im Vergleich zu der Arbeit von Randrianarisoa et al. [125] lassen sich hier durchweg höhere Werte feststellen. Dies liegt mutmaßlich am Risiko-Probandenkollektiv der aktuellen Arbeit, da in der Arbeit von Randrianarisoa et al. zur cIMT-Normwertermittlung sämtliche Individuen mit Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankung ausgeschlossen wurden.

4.2 Klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren

In der univariaten Analyse ließen sich zahlreiche Risikofaktoren identifizieren, welche eine statistische Signifikanz hinsichtlich des Einflusses auf die cIMT zeigten. Dazu zählen anthropometrische Charakteristika wie Alter, BMI, Bauchumfang, WHR sowie arteriellem Blutdruck. Ebenso konnte ein Zusammenhang mit einer Vielzahl an metabolischen Parametern, wie Nüchtern glukose und -insulin, HbA1c, Dyslipidämie, HOMA-IR, ISI-Mats, Insulin-Clearance und hsCRP nachgewiesen werden. Auch vermehrter Leberfettgehalt und der Anteil des viszeralen Fettes am Körpergewicht gingen mit erhöhter cIMT einher.

Wie in vorangegangenen Publikationen bereits beschrieben, waren auch in dieser Probandengruppe multivariat klassische CVRF, wie Alter, RR_{sys} , Geschlecht und BMI mit erhöhter cIMT vergesellschaftet [97], [106], [107], [357]. Diese zeigten sowohl in der univariaten Analyse als auch im schrittweisen Regressionsmodell eine klare Signifikanz. Es lässt sich also festhalten, dass diese Risikofaktoren unabhängig von anderen Einflussfaktoren mit subklinischer Atherosklerose vergesellschaftet zu sein scheinen.

Im Gegensatz dazu wurde die Nüchtern glukose nicht zu den wichtigsten Kovariablen im Endmodell der schrittweisen Analyse gerechnet. Diese Tatsache war insofern überraschend, da erhöhte Blutzuckerwerte nicht nur zu den Hauptfaktoren für kardiovaskuläres Risiko bei Patienten mit Diabetes mellitus gezählt werden, sondern auch bei Personen mit normaler Glukosetoleranz als Vorhersageparameter von Relevanz zu sein scheinen [208], [209], [358]. Allerdings zeigen Untersuchungen auch, dass die Korrelation von kardiovaskulärem Risiko und HbA1c ausgeprägter als der Zusammenhang mit Nüchtern glukose oder 2h-Glukose ist [186], [337]. Dies legt die Vermutung nahe, dass eher über längere Zeit bestehende Hyperglykämie als akut erhöhte Blutzuckerwerte zu proatherogener Stoffwechsellage führen. Pathophysiologisch lässt sich diese Situation über die AGEs erklären: überschüssige Glukose wird über den Polyol-Stoffwechselweg zu Fructose und stark glykierenden Metaboliten abgebaut [315] und ohne enzymatischen Einfluss entwickeln sich AGEs [316]. AGEs vermitteln die Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Endotheloberfläche zur Migration und Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen [317]. Zudem stimulieren AGEs Monozyten zur Sekretion der inflammatorischen Zytokine [318] und regen zur Schaumzell-Bildung an [319].

Es lässt sich also die Hypothese aufstellen, dass die Verbindung zwischen erhöhter Nüchtern glukose und Atherosklerose sekundärer Genese ist. Es kommen demnach Störfaktoren infrage, welche die Korrelation bewirken. Temelkova-Kurktschiev et al. postulierte bereits 1998, dass die Korrelation von Nüchtern glukose und Atheroskleroserisiko nicht kausaler Natur, sondern durch sonstige assoziierte Risikofaktoren bedingt sei. [339]. Ähnlich wie in dieser vorliegenden Arbeit konnten sie zeigen, dass die Nüchtern glukose im univariaten Modell sehr gut mit der cIMT korreliert, sich diese Korrelation aber nach Alters- und Geschlechtsanpassung nicht mehr signifikant darstellt und die Nüchtern glukose im multivariaten Modell ebenfalls nicht als unabhängiger Einflussfaktor identifiziert wird [339]. Pathophysiologisch lässt sich zusätzlich zu den o.g. Überlegungen noch anführen, dass auch eine Beeinflussung via beginnender Insulinresistenz am Endothel, als bekannte Veränderung bei erhöhter Nüch-

ternglukose und/oder IGT, und daraus folgender proinflammatorischer Stoffwechsellage zu pro-atherogenen Verschiebungen führen.

In Bezug auf den proinflammatorischen Einfluss bei der Entstehung der Atherosklerose ließen sich im univariaten Modell signifikante Zusammenhänge von hsCRP und IL-6 mit der cIMT nachweisen. Diese blieben allerdings im schrittweisen Modell und den multivariaten Analysen ohne Signifikanz. Denkbar wäre also, dass die systemischen Inflammationsparameter nicht in einem direktonalen Zusammenhang stehen, sondern ggf. über weitere Mechanismen, v.a. lokal am Endothel, die Entstehung von subklinischer Atherosklerose beeinflussen oder lediglich ein Spiegelbild der „kardiovaskulären inflammatorischen Vorgänge“ sind.

4.3 Insulin-Clearance

Es fand sich eine Beziehung zwischen reduzierter Insulin-Clearance und cIMT, also eine potentielle Beziehung zwischen Insulin-Clearance und subklinischer Atherosklerose [359]. Dieser Zusammenhang ließ sich sowohl in der univariaten als auch in der schrittweisen multivariaten Regressionsanalyse nachweisen. Die Korrelation von Insulin-Clearance und cIMT ist daher als unabhängig von anderen, teils klassischen CVRF zu betrachten. Auch nach Erweiterung der multivariaten Analyse um zusätzliche klassische CVRF blieb die Insulin-Clearance als unabhängiger Parameter der cIMT bestehen. Nach dem Alter war die Insulin-Clearance der Parameter, welcher am stärksten mit vergrößerter cIMT einherging. Eine Beeinflussung durch das Geschlecht, welches als bekannte Kenngröße der cIMT bekannt ist, konnte ausgeschlossen werden.

Nach Analyse der Zusammenhänge in den verschiedenen Subgruppen bzgl. der Glukose-Toleranz zeigte sich die Gesamt-Insulin-clearance in den Subgruppen mit NGT, mit neu diagnostiziertem Diabetes mellitus und mit IFG als unabhängiger Einflussfaktor hinsichtlich der cIMT. Dieser Zusammenhang blieb in den Subgruppen mit NGT und neu diagnostiziertem Diabetes mellitus auch in der schrittweisen Analyse signifikant. Ebenso blieb die Korrelation von Insulin-Clearance und cIMT in der Gesamtpopulation nach Ausschluss der Probanden

mit neu diagnostiziertem Diabetes mellitus bestehen. Eine absolut verlässliche Aussage der Korrelation in den einzelnen Subgruppen lässt sich allerdings aufgrund der teils kleinen Anzahl von Probanden in den Subgruppen nicht treffen. Da sowohl die Subgruppen mit neu diagnostiziertem als auch ohne Diabetes mellitus signifikante Zusammenhänge aufwiesen, lässt sich ableiten, dass die Verbindung nicht vom Glukosestoffwechsel abzuhängen scheint.

Eine Erklärung für die Korrelation von Insulin-Clearance und cIMT lässt sich eventuell aus der Tatsache ableiten, dass die Insulin-Clearance im Körper an unterschiedlichen Stellen stattfindet. Obwohl auch die Niere zur Insulin-Clearance beizutragen scheint [258], ließ sich in dieser Arbeit keine Beeinflussung durch die Nierenfunktion, hier mittels eGFR dargestellt, nachweisen. Weder konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen eGFR und cIMT, noch eine Korrelation zwischen eGFR und Gesamt-Insulinclearance mit der cIMT nachgewiesen werden.

In der Literatur wird die Leber als wichtigstes Organ für den Abbau von Insulin bzw. für den Prozess der Insulin-Clearance angegeben [258], [297]. Ältere Arbeiten machen Lebererkrankungen, wie z.B. einer Zirrhose, eine reduzierte Leberfunktion, sowie portosystemische Shunts für eine reduzierte Insulin-Clearance verantwortlich [258], [360]. Dies ließ sich aus den erhobenen Daten nicht gegenprüfen. In neueren Nagetier-Studien kristallisiert sich die pathophysiologische Verbindung zwischen Atherosklerose und Insulin-Clearance der Leber wie folgt heraus: Das CEACAM1-Glykoprotein wird in den Hepatozyten stark exprimiert und ist gemeinsam mit dem IR für die Internalisierung und Degradierung von Insulin v.a. in Hepatozyten verantwortlich [297]. Ein kompletter CEACAM1-Knockout führt zu Hyperinsulinämie und ist gleichzeitig durch endotheliale Dysfunktion und Plaquebildung gekennzeichnet [294], [361]. [294]. Im Vergleich zu Menschen mit niedrigem BMI oder WHR lässt sich bei übergewichtigen Menschen ein intrinsischer Verlust an hepatischem CEACAM1 feststellen [325]. Anders angegangen konnte verminderten CEACAM1-Levels, die durch fettreiche Diät ausgelöst worden waren sowie dadurch herbeigeführter reduzier-

ter Insulin-Clearance, Hyperinsulinämie und Insulinresistenz, durch Leberspezifische CEACAM1-Überexpression entgegengewirkt werden [295], [296]. Über die chronische Hyperinsulinämie lässt sich gut die Entwicklung einer Insulinresistenz ableiten, hauptsächlich sind hier die limitierte pulsatile Insulinsekretion, Insulin-stimulierte Fett-Akkumulation, reduzierte Adipogenese von braunem Fettgewebe und Downregulation des Insulinrezeptors zu nennen [297]. Eine Abnahme der CEACAM1-Expression führt ebenfalls zu hepatischer Insulinresistenz mit vermehrter Steatosis hepatis und viszeraler Fettsakkumulation, was wiederum mit proinflammatorischer und pro-atherogener Stoffwechsellage vergesellschaftet ist. In dieser Studie konnte die unabhängige Korrelation von Insulin-Clearance und cIMT nicht durch den Leberfettgehalt erklärt werden, auch wenn frühere Studien eine klare Korrelation von Steatosis und Insulin-Clearance identifizieren konnten [279]. Dies könnte die Überlegung stützen, dass die Insulin-Clearance nicht als die Folge der Steatosis hepatis, sondern eine Störung der Insulin-Homöostase als deren Ursache anzusehen ist.

Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass es einen gemeinsamen Pathomechanismus gibt, welcher gleichzeitig zu Atherosklerose führt und eine reduzierte Insulin-Clearance in der Leber vermittelt. Weiter ist physiologisch auch noch nicht sicher geklärt, ob die reduzierte Insulin-Clearance als Ursache oder als Folge des insulinresistenten Zustands fungiert.

Auch das „periphere Gewebe“, z.B. Skelettmuskelzellen und Adipozyten, spielen eine wichtige Rolle in der Regulation der Insulin-Clearance [258], [259]. Eine reduzierte Insulin-Clearance führt zu erhöhten zirkulierenden Insulinkonzentrationen [258]. An der Gefäßwand besitzt Insulin sowohl pro-, als auch anti-atherogene Wirkungseigenschaften (vgl. 1.4.4). Die Signalkaskade über PI3K und NO mündet aufgrund von Vasodilatation [302]–[306], Reduktion von oxidativem Stress [309], Inflammation und Apoptose endothelialer Zellen [310] sowie verminderter Monozytenadhäsion unter physiologischen Bedingungen in einer anti-atherogenen Wirkung. Über den MAPK-Stoffwechselweg durch Vaskonstriktion, Proliferation von Perizyten und glatten Muskelzellen, sowie Che-

motaxis inflammatorischer Zellen wird eine pro-atherogene Situation geschaffen [306], [311]. Im Zustand der chronischen Hyperinsulinämie geht man heutzutage von einem Ungleichgewicht hin zum MAPK-Weg und somit pro-atherosklerotischer Stoffwechsellage aus [303], [312], [362]. Dieser Zustand am Endothel wird auch als „selektive Insulinresistenz“ bezeichnet.

Gut geklärt ist auch die Tatsache, dass eine Insulin-vermittelte Vasodilatation im Skelettmuskel bzw. im Insulin-sensitiven, „gesunden“ Gewebe nicht nur zu einem besseren Ansprechverhalten von Insulin, im Sinne von z.B. Glukoseaufnahme, führt, sondern auch zu einer verbesserten Insulin-Sensitivität [363], [364]. Ebenso zeigen Untersuchungen, dass im Zustand der Insulinresistenz ein verzögerter transkapillärer Transport, sowie eine verspätet einsetzende Insulin-Antwort nachzuweisen ist [365]. Es muss also davon ausgegangen werden, dass eine Veränderung des Gefäßtonus zu einer zusätzlichen Reduktion der Insulin-Clearance führt.

In früheren Publikationen war eine Korrelation von Insulin-Clearance und der cIMT bereits diskutiert worden [366]. Das Probandenkollektiv war hinsichtlich Ein-/Ausschlusskriterien recht ähnlich mit dem Kollektiv dieser Arbeit und bot ein erhöhtes Risiko für Diabetes mellitus, v.a. aufgrund familiärer Belastung. Die Fallzahl lag mit 270 Individuen allerdings in der Studie deutlich niedriger und auffallend waren die im Vergleich mit dieser Arbeit deutlich höher angegebenen cIMT-Werte. Die Insulin-Clearance wurde per Glukose-"Clamp"-Verfahren berechnet. In univariaten Analysen bestätigten sich ebenso klassische Determinanten der Atherosklerose. Im multivariaten Regressions-Modell, welches Insulin-Clearance, Alter, BMI, Bauchumfang, RR_{syst} , RR_{diast} , Triglyceride, HDL-Cholesterin, Nüchtern- und 2h-Glukose, Nüchtern- und 2h-Plasmainsulin, Insulin-stimulierte Glukoseabnahme und Geschlecht enthielt, ließ sich eine signifikante Korrelation von cIMT und Insulin-Clearance nachweisen. Ebenfalls auffallend war der wohl nicht signifikante Zusammenhang von cIMT mit RR_{syst} im multivariaten Modell. Die Ergebnisse der aktuellen Arbeit führen die beobachtete Verbindung zwischen Insulin-Clearance und kardiovaskulärem Risiko we-

sentlich weiter aus. Systematisch wurde in dieser Arbeit der relative Beitrag einer Vielzahl glykämischer Parameter und früher Insulinindizes zur subklinischen Atherosklerose untersucht und dies unter Hinzunahme von klassischen Atherosklerose-Risikofaktoren. Dies wurde in der Publikation von Marini et al. in dieser Weise so nicht untersucht worden. Die Ergebnisse deuten auf eine von anderen wichtigen metabolischen und kardiovaskulären Risikofaktoren, wie z.B. LDL-Cholesterin und Rauchen, unabhängige Korrelation hin.

Erhöhte Nüchtern glukose und die Entwicklung eines manifesten Diabetes mellitus gelten als etablierte Risikomarker hinsichtlich der Entwicklung einer Atherosklerose [254]. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie weisen darauf hin, dass auch eine gestörte Insulin-Clearance als Frühmarker von Gefäßschäden dienen kann. Auf pathophysiologischer Ebene geht die reduzierte Insulin-Clearance dem manifesten Diabetes mellitus voraus [367], [368]. Aufgrund einer zunehmenden Insulinresistenz kommt es kompensatorisch zur Hyperinsulinämie. Dies ist insofern interessant, da die Abnahme der Insulin-Clearance als erster Kompensationsmechanismus zum Erreichen der Hyperinsulinämie aufzutreten scheint [218], [254]. Es ließe sich also postulieren, dass die Insulin-Clearance nicht nur als Frühmarker von Gefäßschäden, sondern auch eines Diabetes mellitus fungieren kann.

4.4 Limitationen und Stärken

Limitierend lässt sich anführen, dass die Insulin-Clearance aus den Daten eines oGTT berechnet wurde. Hierbei wurden die Werte einmalig erhoben. Kurzfristige intra-individuelle Schwankungen, z.B. abhängig vom Lebensstil, wurden so nicht abgebildet. Allerdings wäre im Hinblick auf die klinische Verwendung der Insulin-Clearance eine Bestimmung mittels aufwändiger und invasiver Glukose-„Clamp“-Technik, welche als Gold-Standard zur Erfassung der Insulin-Dynamik gilt, aufgrund der Komplexität in groß angelegten Studien oder im klinischen Alltag nicht pragmatisch. Die Erhebung der Daten mittels oGTT lässt sich im klinischen Alltag deutlich einfacher realisieren. Ob sich die Verwendung der Insulin-Clearance als Indikator für eine Frühatherosklerose klinisch etabliert,

muss weiter untersucht werden. Aufgrund der Tatsache, dass sie einen funktio- nellen Parameter darstellt, müssen Beeinflussungen und Störungen bei den Untersuchungsbedingungen bedacht werden. Zudem stehen aktuell keine kla- ren Normwerte zur genauen Einordnung bzw. Klassifizierung der Messwerte der Insulin-Clearance zur Verfügung. Daher bleibt zu hoffen, dass in Zukunft evidenzbasierte Untersuchungen durchgeführt werden, die eine standardisierte Erhebung und Einteilung von Messwerten, möglichst auch im klinischen Alltag, erlauben.

Eine weitere Limitation der Studie ergibt sich aus der Tatsache, dass es sich um eine Querschnittsanalyse an einem Studienkollektiv handelt. Es wird also eine empirische Untersuchung zu einem einzigen definierten Zeitpunkt durchge- führt. Dies bietet weder die Möglichkeit Informationen bezüglich intra- individueller Entwicklungsverläufe zu sammeln, noch lässt sich eine Aussage hinsichtlich der zeitlichen Abfolge im Sinne von klinischen kardiovaskulären Endpunkten ableiten. Aufgrund des Querschnitts-Designs verbieten sich eben- so klare Rückschlüsse auf die Kausalität zwischen Insulin-Clearance und Athe- rosklerose. Nichtsdestotrotz können verschiedene, auch pathophysiologische Erklärungsmodelle die Kausalität plausibel begründen. Die Erforschung der kla- ren Kausalität bietet sicherlich die Möglichkeit für weitere Arbeiten.

Eine große Stärke dieser Arbeit liegt in der gut charakterisierten Studienpopula- tion, die ein Diabetes mellitus-Risiko aufweist, jedoch ohne Zeichen einer kardiovaskulären Erkrankung. Dennoch sollten die Ergebnisse in einem ähnlich charakterisierten Patientenkollektiv bestätigt und in prospektiven Studien wei- terverfolgt werden [359].

5. Zusammenfassung

In einem Kollektiv von 754 metabolisch umfassend charakterisierten Probanden mit erhöhtem Risiko für Diabetes mellitus wurden die Zusammenhänge verschiedener Kenngrößen des Lipid-, Glukose- und insbesondere des Insulinstoffwechsels sowie der Körperfettverteilung (speziell Leberfett - erfasst mittels Kernspinspektroskopie) mit dem anerkannten Parameter einer subklinischen Atherosklerose (Intima-Media-Dicke der Arteria carotis communis - cIMT) als intermediärem vaskulärem Endpunkt untersucht. Hierbei ließ sich insbesondere die Gesamt-Insulinclearance, unabhängig von anderen untersuchten proatherogenen Risikofaktoren, als aussagekräftiger Risikoparameter für eine erhöhte cIMT identifizieren. Die pathophysiologischen Zusammenhänge mit den aktuell gültigen Theorien zur Pathogenese der Atherosklerose werden dargestellt. Von besonderer Bedeutung scheint hier der multivariat unabhängige und pathogenetisch begründbare Zusammenhang von den mituntersuchten traditionellen Risikofaktoren in dieser frühen Phase der Glukosestoffwechselstörung zu sein.

Die Studiendaten geben damit ein deutliches Signal eine reduzierte Insulin-Clearance zusätzlich zu den traditionellen Risikoparametern mit einzubeziehen, um Individuen mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen zu identifizieren und evtl. hieraus therapeutische Ansätze zur Atheroskleroseprävention zu erarbeiten. Aufgrund der Zusammenhänge von verminderter Insulin-Clearance und Insulinresistenz mag die verminderte Insulin-Clearance auch als früher prädiktiver Marker eines manifesten Diabetes mellitus fungieren, was in weiteren Studien untersucht werden sollte.

Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden in nachfolgender Publikation veröffentlicht (akzeptiert vom Journal am 17.12.2020, Druck-/Online-Version am 31.12.2020):

- Journal: Scientific Reports
- Autoren: Elko Randrianarisoa, Angela Lehn-Stefan, Anja Hieronimus, Robert Wagner, Jakob Maucher, Kilian Rittig, Bernd Balletshofer, Andreas L. Birkenfeld, Andreas Peter, Norbert Stefan, Hans-Ulrich Haering, Andreas Fritsche, Martin Heni
- Titel: Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus
- doi: 10.1038/s41598-020-80581-x
- Zitierweise: E. Randrianarisoa *et al.*, “Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 22453, Dec. 2020.

Literaturverzeichnis

- [1] Statistisches Bundesamt, "Statistisches Bundesamt Gesundheit Todesursachen in Deutschland Gestorbene in Deutschland an ausgewählten Todesursachen," *Fachserie 12, R. 4*, p. 44, 2015.
- [2] GBD 2017 Causes of Death Collaborators, "Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017.," *Lancet (London, England)*, vol. 392, no. 10159, pp. 1736–1788, 2018.
- [3] World Health Organization, "Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020," Geneva, 2013.
- [4] C. C. Cowie *et al.*, "Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in adults in the U.S. population: National Health And Nutrition Examination Survey 1999-2002," *Diabetes Care*, vol. 29, no. 6, pp. 1263–8, Jun. 2006.
- [5] C. S. Fox, "Cardiovascular disease risk factors, type 2 diabetes mellitus, and the Framingham Heart Study," *Trends Cardiovasc. Med.*, vol. 20, no. 3, pp. 90–5, Apr. 2010.
- [6] G. a. Roth, G. Nguyen, M. H. Forouzanfar, A. H. Mokdad, M. Naghavi, and C. J. L. Murray, "Estimates of global and regional premature cardiovascular mortality in 2025," *Circulation*, vol. 132, no. 13, pp. 1270–82, Sep. 2015.
- [7] T. S. Temelkova-Kurktschiev *et al.*, "Increased intimal-medial thickness in newly detected type 2 diabetes: risk factors," *Diabetes Care*, vol. 22, no. 2, pp. 333–8, Feb. 1999.
- [8] T. Bobbert, K. Mai, A. Fischer-Rosinsky, A. F. H. Pfeiffer, and J. Spranger, "A1C is associated with intima-media thickness in individuals with normal glucose tolerance," *Diabetes Care*, vol. 33, no. 1, pp. 203–4, Jan. 2010.
- [9] M. W. Lorenz, H. S. Markus, M. L. Bots, M. Rosvall, and M. Sitzer, "Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis," *Circulation*, vol. 115, no. 4, pp. 459–67, Jan. 2007.
- [10] P. K. Shah, "Screening asymptomatic subjects for subclinical atherosclerosis: can we, does it matter, and should we?," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 56, no. 2, pp. 98–105, Jul. 2010.
- [11] J. H. Stein *et al.*, "Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular," *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, vol. 21, no. 2, pp. 93–111; quiz 189–90, Feb. 2008.
- [12] W. C. Aird, "Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms," *Circ. Res.*, vol. 100, no. 2, pp. 158–73, Feb. 2007.
- [13] R. F. Furchgott and J. V. Zawadzki, "The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine," *Nature*, vol. 288, no. 5789, pp. 373–6, Nov. 1980.
- [14] P. M. Vanhoutte, "Endothelium and control of vascular function. State of the Art lecture," *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)*, vol. 13, no. 6 Pt 2, pp. 658–67, Jun. 1989.
- [15] J. R. Vane, E. E. Anggård, and R. M. Botting, "Regulatory functions of the vascular endothelium," *N. Engl. J. Med.*, vol. 323, no. 1, pp. 27–36, Jul. 1990.
- [16] Y. Higashi, "Assessment of endothelial function. History, methodological aspects, and clinical perspectives," *Int. Heart J.*, vol. 56, no. 2, pp. 125–34, 2015.
- [17] C. Puissant *et al.*, "La fonction endothéliale: rôle, méthodes d'évaluation et limites [Endothelial function: role, assessment and limits]," *J. Mal. Vasc.*, vol. 39, no. 1, pp. 47–56, Feb. 2014.
- [18] G. A. Fishbein and M. C. Fishbein, "Arteriosclerosis: rethinking the current classification," *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 133, no. 8, pp. 1309–16, Aug. 2009.
- [19] World Health Organization, "Classification of atherosclerotic lesions. Report of a Study Group," *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.*, vol. 143, pp. 1–20, 1958.
- [20] D. L. Kasper, A. S. Fauci, S. L. Hauser, D. L. Longo, J. L. Jameson, and J. Loscalzo, *Harrison's Principles of Internal Medicine: Volumes 1 and 2*, 19/E. New York: McGraw-Hill Medical, 2015.
- [21] P. Libby *et al.*, "Atherosclerosis," *Nat. Rev. Dis. Prim.*, vol. 5, no. 1, p. 56, 2019.

- [22] H. Cramer, "Beiträge zur Atherosklerosefrage mit besonderer Berücksichtigung der Beziehungen zwischen Tuberkulose und Atherosklerose," *Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.*, vol. 230, no. 1, pp. 46–67, 1921.
- [23] L. M. Buja, "Nikolai N. Anitschkow and the lipid hypothesis of atherosclerosis," *Cardiovasc. Pathol.*, vol. 23, no. 3, pp. 183–4, 2014.
- [24] J. B. Duguid, "Thrombosis as a factor in the pathogenesis of coronary atherosclerosis," *J. Pathol. Bacteriol.*, vol. 58, pp. 207–12, Apr. 1946.
- [25] R. Ross and J. A. Glomset, "The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts)," *N. Engl. J. Med.*, vol. 295, no. 8, pp. 420–5, Aug. 1976.
- [26] D. Syverson von Gemmingen-Guttenberg, "Dissertation - Theorien zur Pathogenese der Arteriosklerose - zur Erlangung des akademischen Grades Doctor medicinae," Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin, 2013.
- [27] D. Steinberg, "Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime," *Nat. Med.*, vol. 8, no. 11, pp. 1211–7, Nov. 2002.
- [28] W. Herrington, B. Lacey, P. Sherliker, J. Armitage, and S. Lewington, "Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease," *Circ. Res.*, vol. 118, no. 4, pp. 535–46, Feb. 2016.
- [29] GBD 2015 Risk Factors Collaborators, "Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015," *Lancet (London, England)*, vol. 388, no. 10053, pp. 1659–1724, Oct. 2016.
- [30] S. Sitia *et al.*, "From endothelial dysfunction to atherosclerosis," *Autoimmun. Rev.*, vol. 9, no. 12, pp. 830–4, Oct. 2010.
- [31] T. Strisciuglio *et al.*, "Endothelial dysfunction: its clinical value and methods of assessment," *Curr. Atheroscler. Rep.*, vol. 16, no. 6, p. 417, Jun. 2014.
- [32] R. F. Furchgott, "Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle," *Circ. Res.*, vol. 53, no. 5, pp. 557–73, Nov. 1983.
- [33] R. F. Furchgott, "Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide," *Biosci. Rep.*, vol. 19, no. 4, pp. 235–51, Aug. 1999.
- [34] K. S. Cunningham and A. I. Gotlieb, "The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis," *Lab. Invest.*, vol. 85, no. 1, pp. 9–23, Jan. 2005.
- [35] P. M. Vanhoutte, H. Shimokawa, E. H. C. Tang, and M. Feletou, "Endothelial dysfunction and vascular disease," *Acta Physiol. (Oxf.)*, vol. 196, no. 2, pp. 193–222, Jun. 2009.
- [36] D. A. Chistiakov, V. V. Revin, I. A. Sobenin, A. N. Orekhov, and Y. V. Bobryshev, "Vascular endothelium: functioning in norm, changes in atherosclerosis and current dietary approaches to improve endothelial function," *Mini Rev. Med. Chem.*, vol. 15, no. 4, pp. 338–50, 2015.
- [37] A. Wolf *et al.*, "Dietary L-arginine supplementation normalizes platelet aggregation in hypercholesterolemic humans," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 29, no. 3, pp. 479–85, Mar. 1997.
- [38] R. H. Böger, S. M. Bode-Böger, S. Kienke, A. C. Stan, R. Nafe, and J. C. Frölich, "Dietary L-arginine decreases myointimal cell proliferation and vascular monocyte accumulation in cholesterol-fed rabbits," *Atherosclerosis*, vol. 136, no. 1, pp. 67–77, Jan. 1998.
- [39] N. Hogg, B. Kalyanaraman, J. Joseph, A. Struck, and S. Parthasarathy, "Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis," *FEBS Lett.*, vol. 334, no. 2, pp. 170–4, Nov. 1993.
- [40] R. Ross, "Atherosclerosis--an inflammatory disease," *N. Engl. J. Med.*, vol. 340, no. 2, pp. 115–26, Jan. 1999.
- [41] G. R. Upchurch *et al.*, "Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase," *J. Biol. Chem.*, vol. 272, no. 27, pp. 17012–7, Jul. 1997.
- [42] A. Swei, F. Lacy, F. A. DeLano, and G. W. Schmid-Schönbein, "Oxidative stress in the Dahl hypertensive rat," *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)*, vol. 30, no. 6, pp. 1628–33, Dec. 1997.
- [43] D. P. Faxon *et al.*, "Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Executive summary: Atherosclerotic Vascular Disease Conference proceeding for healthcare professionals from a special writing group of the

- American Heart Association," *Circulation*, vol. 109, no. 21, pp. 2595–604, Jun. 2004.
- [44] F. R. Stassen, T. Vainas, and C. a. Bruggeman, "Infection and atherosclerosis. An alternative view on an outdated hypothesis," *Pharmacol. Rep.*, vol. 60, no. 1, pp. 85–92, 2008.
- [45] C. K. Glass and J. L. Witztum, "Atherosclerosis. the road ahead," *Cell*, vol. 104, no. 4, pp. 503–16, Feb. 2001.
- [46] L. Badimon, R. F. Storey, and G. Vilahur, "Update on lipids, inflammation and atherothrombosis," *Thromb. Haemost.*, vol. 105 Suppl, no. S 06, pp. S34-42, May 2011.
- [47] S. Chatterjee and N. Ghosh, "Oxidized low density lipoprotein stimulates aortic smooth muscle cell proliferation," *Glycobiology*, vol. 6, no. 3, pp. 303–11, Apr. 1996.
- [48] S. Yui, T. Sasaki, A. Miyazaki, S. Horiuchi, and M. Yamazaki, "Induction of murine macrophage growth by modified LDLs," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 13, no. 3, pp. 331–7, Mar. 1993.
- [49] M. T. Quinn, S. Parthasarathy, L. G. Fong, and D. Steinberg, "Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 84, no. 9, pp. 2995–8, May 1987.
- [50] P. Libby, "Inflammation in atherosclerosis," *Nature*, vol. 420, no. 6917, pp. 868–74, Dec. 2002.
- [51] Y. Yamada, T. Doi, T. Hamakubo, and T. Kodama, "Scavenger receptor family proteins: roles for atherosclerosis, host defence and disorders of the central nervous system," *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 54, no. 7, pp. 628–40, Jul. 1998.
- [52] G. K. Hansson and P. Libby, "The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 6, no. 7, pp. 508–19, Jul. 2006.
- [53] R. R. S. Packard, A. H. Lichtman, and P. Libby, "Innate and adaptive immunity in atherosclerosis," *Semin. Immunopathol.*, vol. 31, no. 1, pp. 5–22, Jun. 2009.
- [54] J. J. Boyle, "Macrophage activation in atherosclerosis: pathogenesis and pharmacology of plaque rupture," *Curr. Vasc. Pharmacol.*, vol. 3, no. 1, pp. 63–8, Jan. 2005.
- [55] G. F. Lewis and D. J. Rader, "New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport," *Circ. Res.*, vol. 96, no. 12, pp. 1221–32, Jun. 2005.
- [56] A. R. Tall, X. c Jiang, Y. Luo, and D. Silver, "1999 George Lyman Duff memorial lecture: lipid transfer proteins, HDL metabolism, and atherogenesis," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 20, no. 5, pp. 1185–8, May 2000.
- [57] A. C. Newby and A. B. Zaltsman, "Fibrous cap formation or destruction--the critical importance of vascular smooth muscle cell proliferation, migration and matrix formation," *Cardiovasc. Res.*, vol. 41, no. 2, pp. 345–60, Feb. 1999.
- [58] E. W. Raines and N. Ferri, "Thematic review series: The immune system and atherogenesis. Cytokines affecting endothelial and smooth muscle cells in vascular disease," *J. Lipid Res.*, vol. 46, no. 6, pp. 1081–92, Jun. 2005.
- [59] A. Rudijanto, "The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis," *Acta Med. Indones.*, vol. 39, no. 2, pp. 86–93, 2007.
- [60] P. Libby, P. M. Ridker, and G. K. Hansson, "Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis," *Nature*, vol. 473, no. 7347, pp. 317–25, May 2011.
- [61] S. M. Schwartz, R. Virmani, and M. E. Rosenfeld, "The good smooth muscle cells in atherosclerosis," *Curr. Atheroscler. Rep.*, vol. 2, no. 5, pp. 422–9, Sep. 2000.
- [62] R. E. Pitas, "Expression of the acetyl low density lipoprotein receptor by rabbit fibroblasts and smooth muscle cells. Up-regulation by phorbol esters," *J. Biol. Chem.*, vol. 265, no. 21, pp. 12722–7, Jul. 1990.
- [63] E. Falk, "Pathogenesis of atherosclerosis," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 47, no. 8 Suppl, pp. C7-12, Apr. 2006.
- [64] U. Hoffmann, T. J. Brady, and J. Muller, "Cardiology patient page. Use of new imaging techniques to screen for coronary artery disease," *Circulation*, vol. 108, no. 8, pp. e50-3, Aug. 2003.
- [65] J. A. Beckman, J. Ganz, M. A. Creager, P. Ganz, and S. Kinlay, "Relationship of clinical presentation and calcification of culprit coronary artery stenoses," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 21, no. 10, pp. 1618–22, Oct. 2001.
- [66] J. C. Sluimer and M. J. Daemen, "Novel concepts in atherogenesis: angiogenesis and hypoxia in

- atherosclerosis," *J. Pathol.*, vol. 218, no. 1, pp. 7–29, May 2009.
- [67] F. D. Kolodgie *et al.*, "Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma," *N. Engl. J. Med.*, vol. 349, no. 24, pp. 2316–25, Dec. 2003.
- [68] R. Virmani *et al.*, "Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 25, no. 10, pp. 2054–61, Oct. 2005.
- [69] E. Falk, "Stable versus unstable atherosclerosis: clinical aspects," *Am. Heart J.*, vol. 138, no. 5 Pt 2, pp. S421–5, Nov. 1999.
- [70] P. Libby, "Vascular biology of atherosclerosis: overview and state of the art," *Am. J. Cardiol.*, vol. 91, no. 3A, pp. 3A–6A, Feb. 2003.
- [71] M. R. Bennett, "Apoptosis of vascular smooth muscle cells in vascular remodelling and atherosclerotic plaque rupture," *Cardiovasc. Res.*, vol. 41, no. 2, pp. 361–8, Feb. 1999.
- [72] A. Usman, D. Ribatti, U. Sadat, and J. H. Gillard, "From Lipid Retention to Immune-Mediate Inflammation and Associated Angiogenesis in the Pathogenesis of Atherosclerosis," *J. Atheroscler. Thromb.*, vol. 22, no. 8, pp. 739–49, Aug. 2015.
- [73] M. J. Davies, P. D. Richardson, N. Woolf, D. R. Katz, and J. Mann, "Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content," *Br. Heart J.*, vol. 69, no. 5, pp. 377–81, May 1993.
- [74] G. C. Cheng, H. M. Loree, R. D. Kamm, M. C. Fishbein, and R. T. Lee, "Distribution of circumferential stress in ruptured and stable atherosclerotic lesions. A structural analysis with histopathological correlation," *Circulation*, vol. 87, no. 4, pp. 1179–87, Apr. 1993.
- [75] P. D. Richardson, M. J. Davies, and G. V. Born, "Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques," *Lancet (London, England)*, vol. 2, no. 8669, pp. 941–4, Oct. 1989.
- [76] M. J. Davies, "The pathophysiology of acute coronary syndromes," *Heart*, vol. 83, no. 3, pp. 361–6, Mar. 2000.
- [77] E. Falk, P. K. Shah, and V. Fuster, "Coronary plaque disruption," *Circulation*. 1995.
- [78] M. A. Gimbrone and G. García-Cardeña, "Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis," *Cardiovasc. Pathol.*, vol. 22, no. 1, pp. 9–15, Jan. 2013.
- [79] P. F. Davies, "Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology," *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*, vol. 6, no. 1, pp. 16–26, Jan. 2009.
- [80] S. Glagov, C. Zarins, D. P. Giddens, and D. N. Ku, "Hemodynamics and atherosclerosis. Insights and perspectives gained from studies of human arteries," *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 112, no. 10, pp. 1018–31, Oct. 1988.
- [81] H. C. Stary *et al.*, "A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 15, no. 9, pp. 1512–31, Sep. 1995.
- [82] H. C. Stary *et al.*, "A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 14, no. 5, pp. 840–56, May 1994.
- [83] H. C. Stary *et al.*, "A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 12, no. 1, pp. 120–34, Jan. 1992.
- [84] H. C. Stary, "Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 20, no. 5, pp. 1177–8, May 2000.
- [85] J. A. Schaar *et al.*, "Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. Report of a meeting on the vulnerable plaque, June 17 and 18, 2003, Santorini, Greece," *Eur. Heart J.*, vol. 25, no. 12, pp. 1077–82, Jun. 2004.
- [86] P. Pignoli, E. Tremoli, A. Poli, P. Oreste, and R. Paoletti, "Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging," *Circulation*, vol. 74, no. 6, pp. 1399–406, Dec. 1986.
- [87] G. Gamble *et al.*, "B-mode ultrasound images of the carotid artery wall: correlation of ultrasound with histological measurements," *Atherosclerosis*, vol. 102, no. 2, pp. 163–73, Sep. 1993.

- [88] M. Wong, J. Edelstein, J. Wollman, and M. G. Bond, "Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall. Verification of intima-media thickness," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 13, no. 4, pp. 482–6, Apr. 1993.
- [89] A. D. Montauban van Swijndregt *et al.*, "An in vitro evaluation of the line pattern of the near and far walls of carotid arteries using B-mode ultrasound," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 22, no. 8, pp. 1007–15, 1996.
- [90] R. Virmani, F. D. Kolodgie, A. P. Burke, A. Farb, and S. M. Schwartz, "Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 20, no. 5, pp. 1262–75, May 2000.
- [91] D. N. Kim, J. Schmee, K. T. Lee, and W. A. Thomas, "Atherosclerotic lesions in the coronary arteries of hyperlipidemic swine. Part 1. Cell increases, divisions, losses and cells of origin in first 90 days on diet.," *Atherosclerosis*, vol. 64, no. 2–3, pp. 231–42, Apr. 1987.
- [92] S. M. Schwartz, D. DeBlois, and E. R. O'Brien, "The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis," *Circ. Res.*, vol. 77, no. 3, pp. 445–65, Sep. 1995.
- [93] D. Velican and C. Velican, "Atherosclerotic involvement of the coronary arteries of adolescents and young adults," *Atherosclerosis*, vol. 36, no. 4, pp. 449–60, Aug. 1980.
- [94] M. Bernetti, R. Abbate, G. Cerini, G. F. Gensini, L. Poggese, and M. Boddi, "[Carotid and femoral intima-media thickness as an early atherosclerotic marker. Advantages and limits]," *G. Ital. Cardiol. (Rome)*, vol. 12, no. 1, pp. 72–81, Jan. 2011.
- [95] H.-T. Nguyen-Thanh and B. S. Benzaquen, "Screening for subclinical coronary artery disease measuring carotid intima media thickness," *Am. J. Cardiol.*, vol. 104, no. 10, pp. 1383–8, Nov. 2009.
- [96] J. F. Polak, M. J. Pencina, K. M. Pencina, C. J. O'Donnell, P. A. Wolf, and R. B. D'Agostino, "Carotid-wall intima-media thickness and cardiovascular events," *N. Engl. J. Med.*, vol. 365, no. 3, pp. 213–21, Jul. 2011.
- [97] D. H. O'Leary, J. F. Polak, R. A. Kronmal, T. A. Manolio, G. L. Burke, and S. K. Wolfson, "Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group," *N. Engl. J. Med.*, vol. 340, no. 1, pp. 14–22, Jan. 1999.
- [98] L. E. Chambless *et al.*, "Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993," *Am. J. Epidemiol.*, vol. 146, no. 6, pp. 483–94, Sep. 1997.
- [99] G. L. Burke *et al.*, "Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study," *Stroke*, vol. 26, no. 3, pp. 386–91, Mar. 1995.
- [100] S. C. H. van den Oord *et al.*, "Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: systematic review and meta-analysis," *Atherosclerosis*, vol. 228, no. 1, pp. 1–11, May 2013.
- [101] R. B. D'Agostino, S. Grundy, L. M. Sullivan, P. Wilson, and CHD Risk Prediction Group, "Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation," *JAMA*, vol. 286, no. 2, pp. 180–7, Jul. 2001.
- [102] I. Wendelhag, O. Wiklund, and J. Wikstrand, "Arterial wall thickness in familial hypercholesterolemia. Ultrasound measurement of intima-media thickness in the common carotid artery," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 12, no. 1, pp. 70–7, Jan. 1992.
- [103] M. Suurkula, S. Agewall, B. Fagerberg, I. Wendelhag, B. Widgren, and J. Wikstrand, "Ultrasound evaluation of atherosclerotic manifestations in the carotid artery in high-risk hypertensive patients. Risk Intervention Study (RIS) Group," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 14, no. 8, pp. 1297–304, Aug. 1994.
- [104] D. Baldassarre, M. Amato, A. Bondioli, C. R. Sirtori, and E. Tremoli, "Carotid artery intima-media thickness measured by ultrasonography in normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors," *Stroke*, vol. 31, no. 10, pp. 2426–30, Oct. 2000.
- [105] S. Ebrahim *et al.*, "Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women: the British Regional Heart Study," *Stroke*, vol. 30, no. 4, pp. 841–50, Apr. 1999.
- [106] G. Heiss, A. R. Sharrett, R. Barnes, L. E. Chambless, M. Szklo, and C. Alzola, "Carotid atherosclerosis measured by b-mode ultrasound in populations: Associations with cardiovascular risk factors in the aric study," *Am. J. Epidemiol.*, 1991.
- [107] D. H. O'Leary *et al.*, "Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. The CHS Collaborative Research Group," *Stroke*, vol. 23, no. 12, pp. 1752–60,

Dec. 1992.

- [108] P. L. Allan, P. I. Mowbray, A. J. Lee, and F. G. Fowkes, "Relationship between carotid intima-media thickness and symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease. The Edinburgh Artery Study," *Stroke*, vol. 28, no. 2, pp. 348–53, Feb. 1997.
- [109] M. Bauer *et al.*, "The effect of age and risk factors on coronary and carotid artery atherosclerotic burden in males-Results of the Heinz Nixdorf Recall Study," *Atherosclerosis*, vol. 205, no. 2, pp. 595–602, Aug. 2009.
- [110] M. Zureik *et al.*, "Cross-sectional and 4-year longitudinal associations between brachial pulse pressure and common carotid intima-media thickness in a general population. The EVA study," *Stroke*, vol. 30, no. 3, pp. 550–5, Mar. 1999.
- [111] R. A. Markus, W. J. Mack, S. P. Azen, and H. N. Hodis, "Influence of lifestyle modification on atherosclerotic progression determined by ultrasonographic change in the common carotid intima-media thickness," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 65, no. 4, pp. 1000–4, Apr. 1997.
- [112] T. E. Craven *et al.*, "Evaluation of the associations between carotid artery atherosclerosis and coronary artery stenosis. A case-control study," *Circulation*, vol. 82, no. 4, pp. 1230–42, Oct. 1990.
- [113] J. D. Spence, "The importance of distinguishing between diffuse carotid intima-media thickening and focal plaque," *Can. J. Cardiol.*, vol. 24, no. SUPPL.C, pp. 61–64, 2008.
- [114] J. D. Spence and R. A. Hegele, "Noninvasive phenotypes of atherosclerosis: similar windows but different views," *Stroke*, vol. 35, no. 3, pp. 649–53, Mar. 2004.
- [115] S. H. Johnsen and E. B. Mathiesen, "Carotid plaque compared with intima-media thickness as a predictor of coronary and cerebrovascular disease," *Curr. Cardiol. Rep.*, vol. 11, no. 1, pp. 21–7, Jan. 2009.
- [116] Y. Inaba, J. A. Chen, and S. R. Bergmann, "Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: a meta-analysis," *Atherosclerosis*, vol. 220, no. 1, pp. 128–33, Jan. 2012.
- [117] P.-J. Touboul *et al.*, "Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, B," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 34, no. 4, pp. 290–6, 2012.
- [118] I. Wendelhag, T. Gustavsson, M. Suurkula, G. Berglund, and J. Wikstrand, "Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system," *Clin. Physiol.*, vol. 11, no. 6, pp. 565–77, Nov. 1991.
- [119] M. L. Bots, P. G. Mulder, A. Hofman, G. A. van Es, and D. E. Grobbee, "Reproducibility of carotid vessel wall thickness measurements. The Rotterdam Study," *J. Clin. Epidemiol.*, vol. 47, no. 8, pp. 921–30, Aug. 1994.
- [120] A. D. Montauban van Swijndregt, E. E. De Lange, E. De Groot, and R. G. Ackerstaff, "An in vivo evaluation of the reproducibility of intima-media thickness measurements of the carotid artery segments using B-mode ultrasound," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 25, no. 3, pp. 323–30, Mar. 1999.
- [121] C. Schmidt and I. Wendelhag, "How can the variability in ultrasound measurement of intima-media thickness be reduced? Studies of interobserver variability in carotid and femoral arteries," *Clin. Physiol.*, vol. 19, no. 1, pp. 45–55, Jan. 1999.
- [122] J. Persson, L. Stavenow, J. Wikstrand, B. Israelsson, J. Formgren, and G. Berglund, "Noninvasive quantification of atherosclerotic lesions. Reproducibility of ultrasonographic measurement of arterial wall thickness and plaque size," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 12, no. 2, pp. 261–6, Feb. 1992.
- [123] R. Salonen, A. Haapanen, and J. T. Salonen, "Measurement of intima-media thickness of common carotid arteries with high-resolution B-mode ultrasonography: inter- and intra-observer variability," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 17, no. 3, pp. 225–30, 1991.
- [124] J. Wikstrand, "Methodological considerations of ultrasound measurement of carotid artery intima-media thickness and lumen diameter," *Clin. Physiol. Funct. Imaging*, vol. 27, no. 6, pp. 341–5, Nov. 2007.
- [125] E. Randrianarisoa *et al.*, "Normal values for intima-media thickness of the common carotid artery--an update following a novel risk factor profiling," *Vasa.*, vol. 44, no. 6, pp. 444–50, Nov. 2015.
- [126] G. Howard *et al.*, "Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators," *Stroke*, vol. 24, no. 9, pp. 1297–304, Sep. 1993.
- [127] T. Temelkova-Kurktschiev, S. Fischer, C. Koehler, G. Mennicken, E. Henkel, and M. Hanefeld, "[Intima-media

- thickness in healthy probands without risk factors for arteriosclerosis].," *Dtsch. Med. Wochenschr.*, vol. 126, no. 8, pp. 193–7, Feb. 2001.
- [128] C. Foerch, A. Buehler, S. von Kegler, and M. Sitzer, "Intima-media thickness side differences are limited to the common carotid artery," *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)*, vol. 42, no. 6, pp. e17; author reply e18, Dec. 2003.
- [129] N. Denarié *et al.*, "Distribution of ultrasonographically-assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes," *Atherosclerosis*, 2000.
- [130] C. P. Loizou, A. Nicolaidis, E. Kyriacou, N. Georghiou, M. Griffin, and C. S. Pattichis, "A Comparison of Ultrasound Intima-Media Thickness Measurements of the Left and Right Common Carotid Artery," *IEEE J. Transl. Eng. Heal. Med.*, vol. 3, no. December 2014, p. 1900410, 2015.
- [131] X. Luo, Y. Yang, T. Cao, and Z. Li, "Differences in left and right carotid intima-media thickness and the associated risk factors," *Clin. Radiol.*, 2011.
- [132] L. Sibal, S. C. Agarwal, and P. D. Home, "Carotid intima-media thickness as a surrogate marker of cardiovascular disease in diabetes," *Diabetes. Metab. Syndr. Obes.*, vol. 4, pp. 23–34, Jan. 2011.
- [133] M. A. Espeland, D. H. O'leary, J. G. Terry, T. Morgan, G. Evans, and H. Mudra, "Carotid intimal-media thickness as a surrogate for cardiovascular disease events in trials of HMG-CoA reductase inhibitors," *Curr. Control. Trials Cardiovasc. Med.*, vol. 6, no. 1, p. 3, Mar. 2005.
- [134] M. L. Bots, G. W. Evans, W. A. Riley, and D. E. Grobbee, "Carotid intima-media thickness measurements in intervention studies: design options, progression rates, and sample size considerations: a point of view," *Stroke*, vol. 34, no. 12, pp. 2985–94, Dec. 2003.
- [135] M. L. Bots, "Carotid intima-media thickness as a surrogate marker for cardiovascular disease in intervention studies," *Curr. Med. Res. Opin.*, vol. 22, no. 11, pp. 2181–90, Nov. 2006.
- [136] C. D. Furberg *et al.*, "Effect of lovastatin on early carotid atherosclerosis and cardiovascular events. Asymptomatic Carotid Artery Progression Study (ACAPS) Research Group," *Circulation*, vol. 90, no. 4, pp. 1679–87, Oct. 1994.
- [137] I. J. Kullo and C. M. Ballantyne, "Conditional risk factors for atherosclerosis," *Mayo Clin. Proc.*, vol. 80, no. 2, pp. 219–30, Feb. 2005.
- [138] S. Yusuf *et al.*, "Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study," *Lancet (London, England)*, vol. 364, no. 9438, pp. 937–52, 2004.
- [139] P. W. Wilson, R. B. D'Agostino, D. Levy, A. M. Belanger, H. Silbershatz, and W. B. Kannel, "Prediction of coronary heart disease using risk factor categories," *Circulation*, vol. 97, no. 18, pp. 1837–47, May 1998.
- [140] ESHRE Capri Workshop Group, "Hormones and cardiovascular health in women," *Hum. Reprod. Update*, vol. 12, no. 5, pp. 483–97, 2006.
- [141] G. I. Gorodeski, "Update on cardiovascular disease in post-menopausal women," *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, vol. 16, no. 3, pp. 329–55, Jun. 2002.
- [142] M. G. Goldschmid, E. Barrett-Connor, S. L. Edelstein, D. L. Wingard, B. A. Cohn, and W. H. Herman, "Dyslipidemia and ischemic heart disease mortality among men and women with diabetes," *Circulation*, vol. 89, no. 3, pp. 991–7, Mar. 1994.
- [143] W. L. Lee, A. M. Cheung, D. Cape, and B. Zinman, "Impact of diabetes on coronary artery disease in women and men: a meta-analysis of prospective studies," *Diabetes Care*, vol. 23, no. 7, pp. 962–8, Jul. 2000.
- [144] W. B. Kannel and D. L. McGee, "Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham study," *Circulation*, vol. 59, no. 1, pp. 8–13, Jan. 1979.
- [145] S. A. E. Peters, R. R. Huxley, and M. Woodward, "Diabetes as a risk factor for stroke in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of 64 cohorts, including 775,385 individuals and 12,539 strokes," *Lancet (London, England)*, vol. 383, no. 9933, pp. 1973–80, Jun. 2014.
- [146] R. H. Myers, D. K. Kiely, L. a Cupples, and W. B. Kannel, "Parental history is an independent risk factor for coronary artery disease: the Framingham Study," *Am. Heart J.*, vol. 120, no. 4, pp. 963–9, Oct. 1990.
- [147] D. M. Lloyd-Jones *et al.*, "Parental cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults: a prospective study of parents and offspring," *JAMA*, vol. 291, no. 18, pp. 2204–11, May 2004.
- [148] M. Weijmans, Y. van der Graaf, J. B. Reitsma, and F. L. J. Visseren, "Paternal or maternal history of

- cardiovascular disease and the risk of cardiovascular disease in offspring. A systematic review and meta-analysis," *Int. J. Cardiol.*, vol. 179, no. July 2014, pp. 409–16, Jan. 2015.
- [149] S. Lewington, R. Clarke, N. Qizilbash, R. Peto, R. Collins, and Prospective Studies Collaboration, "Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies," *Lancet (London, England)*, vol. 360, no. 9349, pp. 1903–13, Dec. 2002.
- [150] S. MacMahon *et al.*, "Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias," *Lancet (London, England)*, vol. 335, no. 8692, pp. 765–74, Mar. 1990.
- [151] D. Ettehad *et al.*, "Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis," *Lancet (London, England)*, vol. 387, no. 10022, pp. 957–967, Mar. 2016.
- [152] R. Collins *et al.*, "Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context," *Lancet (London, England)*, vol. 335, no. 8693, pp. 827–38, Apr. 1990.
- [153] F. Turnbull and Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration, "Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials," *Lancet (London, England)*, vol. 362, no. 9395, pp. 1527–35, Nov. 2003.
- [154] G. N. Levine, J. F. Keaney, and J. A. Vita, "Cholesterol reduction in cardiovascular disease. Clinical benefits and possible mechanisms," *N. Engl. J. Med.*, vol. 332, no. 8, pp. 512–21, Feb. 1995.
- [155] M. J. Martin, S. B. Hulley, W. S. Browner, L. H. Kuller, and D. Wentworth, "Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361,662 men," *Lancet (London, England)*, vol. 2, no. 8513, pp. 933–6, Oct. 1986.
- [156] and T. of H. B. C. in A. (Adult T. P. I. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, "Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report," *Circulation*, vol. 106, no. 25, pp. 3143–421, Dec. 2002.
- [157] J. Stamler, D. Wentworth, and J. D. Neaton, "Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT)," *JAMA*, vol. 256, no. 20, pp. 2823–8, Nov. 1986.
- [158] M. R. Law, N. J. Wald, and S. G. Thompson, "By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease?," *BMJ*, vol. 308, no. 6925, pp. 367–72, Feb. 1994.
- [159] Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators *et al.*, "The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials," *Lancet (London, England)*, vol. 380, no. 9841, pp. 581–90, Aug. 2012.
- [160] F. Mach *et al.*, "2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk," *Eur. Heart J.*, vol. 41, no. 1, pp. 111–188, 2020.
- [161] G. Assmann and H. Schulte, "Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience). Prospective Cardiovascular Münster study," *Am. J. Cardiol.*, vol. 70, no. 7, pp. 733–7, Sep. 1992.
- [162] M. a Austin, J. E. Hokanson, and K. L. Edwards, "Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor," *Am. J. Cardiol.*, vol. 81, no. 4A, pp. 7B-12B, Feb. 1998.
- [163] W. P. Castelli *et al.*, "HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study," *Circulation*, vol. 55, no. 5, pp. 767–72, May 1977.
- [164] W. P. Castelli, R. J. Garrison, P. W. Wilson, R. D. Abbott, S. Kalousdian, and W. B. Kannel, "Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study," *JAMA*, vol. 256, no. 20, pp. 2835–8, Nov. 1986.
- [165] D. J. Gordon *et al.*, "High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies," *Circulation*, vol. 79, no. 1, pp. 8–15, Jan. 1989.
- [166] M. H. Criqui and B. A. Golomb, "Epidemiologic aspects of lipid abnormalities," *Am. J. Med.*, vol. 105, no. 1A, pp. 48S-57S, Jul. 1998.
- [167] M. J. McQueen *et al.*, "Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): a case-control study," *Lancet (London, England)*, vol. 372, no. 9634, pp.

224–33, Jul. 2008.

- [168] U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Office on Smoking and Health., "The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress. A Report of the Surgeon General," Atlanta, 2014.
- [169] L. Erhardt, "Cigarette smoking: an undertreated risk factor for cardiovascular disease," *Atherosclerosis*, vol. 205, no. 1, pp. 23–32, Jul. 2009.
- [170] J. W. McEvoy *et al.*, "Relationship of cigarette smoking with inflammation and subclinical vascular disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 35, no. 4, pp. 1002–10, Apr. 2015.
- [171] R. M. Conroy *et al.*, "Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project," *Eur. Heart J.*, vol. 24, no. 11, pp. 987–1003, Jun. 2003.
- [172] M. R. Law, J. K. Morris, and N. J. Wald, "Environmental tobacco smoke exposure and ischaemic heart disease: an evaluation of the evidence," *BMJ*, vol. 315, no. 7114, pp. 973–80, Oct. 1997.
- [173] K. K. Teo *et al.*, "Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case-control study," *Lancet (London, England)*, vol. 368, no. 9536, pp. 647–58, Aug. 2006.
- [174] R. R. Huxley and M. Woodward, "Cigarette smoking as a risk factor for coronary heart disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies," *Lancet (London, England)*, vol. 378, no. 9799, pp. 1297–305, Oct. 2011.
- [175] B. Hermanson, G. S. Omenn, R. A. Kronmal, and B. J. Gersh, "Beneficial six-year outcome of smoking cessation in older men and women with coronary artery disease. Results from the CASS registry," *N. Engl. J. Med.*, vol. 319, no. 21, pp. 1365–9, Nov. 1988.
- [176] L. Rosenberg, J. R. Palmer, and S. Shapiro, "Decline in the risk of myocardial infarction among women who stop smoking," *N. Engl. J. Med.*, vol. 322, no. 4, pp. 213–7, Jan. 1990.
- [177] K. Wilson, N. Gibson, A. Willan, and D. Cook, "Effect of smoking cessation on mortality after myocardial infarction: meta-analysis of cohort studies," *Arch. Intern. Med.*, vol. 160, no. 7, pp. 939–44, Apr. 2000.
- [178] G. Howard *et al.*, "Cigarette smoking and progression of atherosclerosis: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study," *JAMA*, vol. 279, no. 2, pp. 119–24, Jan. 1998.
- [179] E. E. Calle, M. J. Thun, J. M. Petrelli, C. Rodriguez, and C. W. Heath, "Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults," *N. Engl. J. Med.*, vol. 341, no. 15, pp. 1097–105, Oct. 1999.
- [180] P. W. F. Wilson, R. B. D'Agostino, L. Sullivan, H. Parise, and W. B. Kannel, "Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience," *Arch. Intern. Med.*, vol. 162, no. 16, pp. 1867–72, Sep. 2002.
- [181] M. L. Mongraw-Chaffin, S. A. E. Peters, R. R. Huxley, and M. Woodward, "The sex-specific association between BMI and coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of 95 cohorts with 1.2 million participants," *lancet. Diabetes Endocrinol.*, vol. 3, no. 6, pp. 437–449, Jun. 2015.
- [182] F. Karpe and K. E. Pinnick, "Biology of upper-body and lower-body adipose tissue--link to whole-body phenotypes," *Nat. Rev. Endocrinol.*, vol. 11, no. 2, pp. 90–100, Feb. 2015.
- [183] T. Pischon *et al.*, "General and abdominal adiposity and risk of death in Europe," *N. Engl. J. Med.*, vol. 359, no. 20, pp. 2105–20, Nov. 2008.
- [184] G. R. Dagenais, Q. Yi, J. F. E. Mann, J. Bosch, J. Pogue, and S. Yusuf, "Prognostic impact of body weight and abdominal obesity in women and men with cardiovascular disease," *Am. Heart J.*, vol. 149, no. 1, pp. 54–60, Jan. 2005.
- [185] E. Bonora *et al.*, "Intimal-medial thickness of the carotid artery in nondiabetic and NIDDM patients. Relationship with insulin resistance," *Diabetes Care*, vol. 20, no. 4, pp. 627–31, Apr. 1997.
- [186] E. Randrianarisoa *et al.*, "Visceral Adiposity Index as an Independent Marker of Subclinical Atherosclerosis in Individuals Prone to Diabetes Mellitus," *J. Atheroscler. Thromb.*, vol. 26, no. 9, pp. 821–834, Sep. 2019.
- [187] S. Yusuf *et al.*, "Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study," *Lancet (London, England)*, vol. 366, no. 9497, pp. 1640–9, Nov. 2005.
- [188] K. S. McCully, "Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis," *Am. J. Pathol.*, vol. 56, no. 1, pp. 111–28, Jul. 1969.

- [189] Homocysteine Studies Collaboration, "Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis," *JAMA*, vol. 288, no. 16, pp. 2015–22, Oct. 2002.
- [190] D. S. Wald, M. Law, and J. K. Morris, "Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis," *BMJ*, vol. 325, no. 7374, p. 1202, Nov. 2002.
- [191] A. J. Martí-Carvajal, I. Solà, D. Lathyris, and M. Dayer, "Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events," *Cochrane Database Syst. Rev.*, vol. 8, no. 8, p. CD006612, 2017.
- [192] W. B. Kannel and P. Sorlie, "Some health benefits of physical activity. The Framingham Study," *Arch. Intern. Med.*, vol. 139, no. 8, pp. 857–61, Aug. 1979.
- [193] B. L. Rodriguez *et al.*, "Physical activity and 23-year incidence of coronary heart disease morbidity and mortality among middle-aged men. The Honolulu Heart Program," *Circulation*, vol. 89, no. 6, pp. 2540–4, Jun. 1994.
- [194] A. Rosengren *et al.*, "Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHEART study): case-control study," *Lancet (London, England)*, vol. 364, no. 9438, pp. 953–62, 2004.
- [195] K. G. M. M. Alberti, P. Zimmet, J. Shaw, and IDF Epidemiology Task Force Consensus Group, "The metabolic syndrome—a new worldwide definition," *Lancet (London, England)*, vol. 366, no. 9491, pp. 1059–62, 2005.
- [196] M. Serrano Rios, "Relationship between obesity and the increased risk of major complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus," *Eur. J. Clin. Invest.*, vol. 28 Suppl 2, no. s2, pp. 14–7, discussion 17-8, Sep. 1998.
- [197] T. Almdal, H. Scharling, J. S. Jensen, and H. Vestergaard, "The independent effect of type 2 diabetes mellitus on ischemic heart disease, stroke, and death: a population-based study of 13,000 men and women with 20 years of follow-up," *Arch. Intern. Med.*, vol. 164, no. 13, pp. 1422–6, Jul. 2004.
- [198] and B. I. T. J. D. F. I. T. N. I. of D. and D. and K. D. and T. A. H. A. A joint editorial statement by the American Diabetes Association; The National Heart, Lung, "Diabetes Mellitus: A Major Risk Factor for Cardiovascular Disease," *Circulation*, vol. 100, no. 10, pp. 1132–1133, Sep. 1999.
- [199] K. Gu, C. C. Cowie, and M. I. Harris, "Mortality in adults with and without diabetes in a national cohort of the U.S. population, 1971-1993," *Diabetes Care*, vol. 21, no. 7, pp. 1138–45, Jul. 1998.
- [200] E. L. Bierman, "George Lyman Duff Memorial Lecture. Atherogenesis in diabetes," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 12, no. 6, pp. 647–56, Jun. 1992.
- [201] S. Rao Kondapally Seshasai *et al.*, "Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death," *N. Engl. J. Med.*, vol. 364, no. 9, pp. 829–841, Mar. 2011.
- [202] S. Jacob, W. Motz, E. Steinhagen-Thiessen, and D. Tschöpe, "Minimal metabolic data set for patients at high vascular risk," *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, vol. 111, no. 8, pp. 471–4, Dec. 2003.
- [203] M. Laakso and J. Kuusisto, "Epidemiological evidence for the association of hyperglycaemia and atherosclerotic vascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus," *Ann. Med.*, vol. 28, no. 5, pp. 415–8, Oct. 1996.
- [204] E. B. Levitan, Y. Song, E. S. Ford, and S. Liu, "Is nondiabetic hyperglycemia a risk factor for cardiovascular disease? A meta-analysis of prospective studies," *Arch. Intern. Med.*, vol. 164, no. 19, pp. 2147–55, Oct. 2004.
- [205] M. Coutinho, H. C. Gerstein, Y. Wang, and S. Yusuf, "The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years," *Diabetes Care*, vol. 22, no. 2, pp. 233–40, Feb. 1999.
- [206] E. S. Ford, G. Zhao, and C. Li, "Pre-diabetes and the risk for cardiovascular disease: a systematic review of the evidence," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 55, no. 13, pp. 1310–7, Mar. 2010.
- [207] DECODE Study Group, the European Diabetes Epidemiology Group, "Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria," *Arch. Intern. Med.*, vol. 161, no. 3, pp. 397–405, Feb. 2001.
- [208] M. A. Marini *et al.*, "Cardiometabolic risk profiles and carotid atherosclerosis in individuals with prediabetes identified by fasting glucose, postchallenge glucose, and hemoglobin A1c criteria," *Diabetes Care*, vol. 35, no. 5, pp. 1144–9, May 2012.
- [209] E. Selvin *et al.*, "Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults," *N. Engl. J. Med.*, vol. 362, no. 9, pp. 800–11, Mar. 2010.

- [210] Y. Huang, X. Cai, W. Mai, M. Li, and Y. Hu, "Association between prediabetes and risk of cardiovascular disease and all cause mortality: systematic review and meta-analysis," *BMJ*, vol. 355, p. i5953, Nov. 2016.
- [211] A. E. Caballero *et al.*, "Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes," *Diabetes*, vol. 48, no. 9, pp. 1856–62, Sep. 1999.
- [212] Y. Su, X.-M. Liu, Y.-M. Sun, Y.-Y. Wang, Y. Luan, and Y. Wu, "Endothelial dysfunction in impaired fasting glycemia, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes mellitus," *Am. J. Cardiol.*, vol. 102, no. 4, pp. 497–8, Aug. 2008.
- [213] A. G. Tabák, C. Herder, W. Rathmann, E. J. Brunner, and M. Kivimäki, "Prediabetes: a high-risk state for diabetes development," *Lancet (London, England)*, vol. 379, no. 9833, pp. 2279–90, Jun. 2012.
- [214] H. Häring, "Pathogenesis of type II diabetes: are there common causes for insulin resistance and secretion failure?," *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, vol. 107, no. S 02, pp. S17–S23, Jul. 2009.
- [215] E. Bonora *et al.*, "Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders: the Bruneck Study," *Diabetes*, vol. 47, no. 10, pp. 1643–9, Oct. 1998.
- [216] R. A. DeFronzo and E. Ferrannini, "Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease," *Diabetes Care*, vol. 14, no. 3, pp. 173–94, Mar. 1991.
- [217] R. Roussel *et al.*, "Beta-cell function is associated with carotid intima-media thickness independently of insulin resistance in healthy individuals," *J. Hypertens.*, vol. 34, no. 4, pp. 685–91, Apr. 2016.
- [218] S. E. Kahn, "The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes," *Diabetologia*, vol. 46, no. 1, pp. 3–19, Jan. 2003.
- [219] S. D. Mittelman *et al.*, "Longitudinal compensation for fat-induced insulin resistance includes reduced insulin clearance and enhanced beta-cell response," *Diabetes*, vol. 49, no. 12, pp. 2116–25, Dec. 2000.
- [220] J. S. Skyler *et al.*, "Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis," *Diabetes*, vol. 66, no. 2, pp. 241–255, 2017.
- [221] J. P. Després *et al.*, "Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease," *N. Engl. J. Med.*, vol. 334, no. 15, pp. 952–7, Apr. 1996.
- [222] N. Stefan, A. Fritsche, F. Schick, and H.-U. Häring, "Phenotypes of prediabetes and stratification of cardiometabolic risk," *lancet. Diabetes Endocrinol.*, vol. 4, no. 9, pp. 789–798, Sep. 2016.
- [223] A. Golay, N. Chen, Y.-D. D. Chen, C. Hollenbeck, and G. M. Reaven, "Effect of central obesity on regulation of carbohydrate metabolism in obese patients with varying degrees of glucose tolerance," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 71, no. 5, pp. 1299–304, Nov. 1990.
- [224] D. J. Evans, R. G. Hoffmann, R. K. Kalkhoff, and A. H. Kissebah, "Relationship of body fat topography to insulin sensitivity and metabolic profiles in premenopausal women," *Metabolism*, vol. 33, no. 1, pp. 68–75, Jan. 1984.
- [225] R. B. Goldberg *et al.*, "Change in adiponectin explains most of the change in HDL particles induced by lifestyle intervention but not metformin treatment in the Diabetes Prevention Program," *Metabolism*, vol. 65, no. 5, pp. 764–775, May 2016.
- [226] F. M. Gribble, "Metabolism: a higher power for insulin," *Nature*, vol. 434, no. 7036, pp. 965–6, Apr. 2005.
- [227] R. V. Farese, R. Zechner, C. B. Newgard, and T. C. Walther, "The problem of establishing relationships between hepatic steatosis and hepatic insulin resistance," *Cell Metab.*, vol. 15, no. 5, pp. 570–3, May 2012.
- [228] M. D. Michael *et al.*, "Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction," *Mol. Cell*, vol. 6, no. 1, pp. 87–97, Jul. 2000.
- [229] M. S. Brown and J. L. Goldstein, "Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox," *Cell Metab.*, vol. 7, no. 2, pp. 95–6, Feb. 2008.
- [230] R. V. Farese and M. P. Sajan, "Metabolic functions of atypical protein kinase C: 'good' and 'bad' as defined by nutritional status," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol. 298, no. 3, pp. E385-94, Mar. 2010.
- [231] I. Shimomura, M. Matsuda, R. E. Hammer, Y. Bashmakov, M. S. Brown, and J. L. Goldstein, "Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice," *Mol. Cell*, vol. 6, no. 1, pp. 77–86, Jul. 2000.

- [232] N. Kubota *et al.*, "Differential hepatic distribution of insulin receptor substrates causes selective insulin resistance in diabetes and obesity," *Nat. Commun.*, vol. 7, no. 1, p. 12977, Dec. 2016.
- [233] P. Maheux *et al.*, "Additive effects of obesity, hypertension, and type 2 diabetes on insulin resistance," *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)*, vol. 24, no. 6, pp. 695–8, Dec. 1994.
- [234] E. Ferrannini, A. Natali, P. Bell, P. Cavallo-Perin, N. Lalic, and G. Mingrone, "Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)," *J. Clin. Invest.*, vol. 100, no. 5, pp. 1166–73, Sep. 1997.
- [235] K. A. Virtanen *et al.*, "Glucose uptake and perfusion in subcutaneous and visceral adipose tissue during insulin stimulation in nonobese and obese humans," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 87, no. 8, pp. 3902–10, Aug. 2002.
- [236] H. Xu *et al.*, "Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance," *J. Clin. Invest.*, vol. 112, no. 12, pp. 1821–30, Dec. 2003.
- [237] S. P. Weisberg, D. McCann, M. Desai, M. Rosenbaum, R. L. Leibel, and A. W. Ferrante, "Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue," *J. Clin. Invest.*, vol. 112, no. 12, pp. 1796–808, Dec. 2003.
- [238] D. Patsouris, P.-P. Li, D. Thapar, J. Chapman, J. M. Olefsky, and J. G. Neels, "Ablation of CD11c-positive cells normalizes insulin sensitivity in obese insulin resistant animals," *Cell Metab.*, vol. 8, no. 4, pp. 301–9, Oct. 2008.
- [239] L. Fontana, J. C. Eagon, M. E. Trujillo, P. E. Scherer, and S. Klein, "Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans," *Diabetes*, vol. 56, no. 4, pp. 1010–3, Apr. 2007.
- [240] B. K. Surmi, R. D. Atkinson, M. L. Gruen, K. R. Coenen, and A. H. Hasty, "The role of macrophage leptin receptor in aortic root lesion formation," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol. 294, no. 3, pp. E488-95, Mar. 2008.
- [241] J. Santos-Alvarez, R. Goberna, and V. Sánchez-Margalet, "Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes," *Cell. Immunol.*, vol. 194, no. 1, pp. 6–11, May 1999.
- [242] M. P. Reilly, M. Lehrke, M. L. Wolfe, A. Rohatgi, M. A. Lazar, and D. J. Rader, "Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans," *Circulation*, vol. 111, no. 7, pp. 932–9, Feb. 2005.
- [243] R. Ohmori *et al.*, "Associations between serum resistin levels and insulin resistance, inflammation, and coronary artery disease," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 46, no. 2, pp. 379–80, Jul. 2005.
- [244] E. D. Muse *et al.*, "The association of resistin with cardiovascular disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis," *Atherosclerosis*, vol. 239, no. 1, pp. 101–108, Mar. 2015.
- [245] S. J. Sherajee *et al.*, "Aldosterone induces vascular insulin resistance by increasing insulin-like growth factor-1 receptor and hybrid receptor," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 32, no. 2, pp. 257–63, Feb. 2012.
- [246] H. Hitomi *et al.*, "Aldosterone suppresses insulin signaling via the downregulation of insulin receptor substrate-1 in vascular smooth muscle cells," *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)*, vol. 50, no. 4, pp. 750–5, Oct. 2007.
- [247] Y. Taniyama, H. Hitomi, A. Shah, R. W. Alexander, and K. K. Griendling, "Mechanisms of reactive oxygen species-dependent downregulation of insulin receptor substrate-1 by angiotensin II," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 25, no. 6, pp. 1142–7, Jun. 2005.
- [248] D. H. Wasserman, T. J. Wang, and N. J. Brown, "The Vasculature in Prediabetes," *Circ. Res.*, vol. 122, no. 8, pp. 1135–1150, 2018.
- [249] G. M. Reaven, "Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease," *Diabetes*, vol. 37, no. 12, pp. 1595–607, Dec. 1988.
- [250] M. T. Meistas, S. Margolis, and A. A. Kowarski, "Hyperinsulinemia of obesity is due to decreased clearance of insulin," *Am. J. Physiol.*, vol. 245, no. 2, pp. E155-9, Aug. 1983.
- [251] M. O. Goodarzi, J. Cui, Y.-D. I. Chen, W. A. Hsueh, X. Guo, and J. I. Rotter, "Fasting insulin reflects heterogeneous physiological processes: role of insulin clearance," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol. 301, no. 2, pp. E402-8, Aug. 2011.
- [252] M. Ader *et al.*, "Hepatic insulin clearance is the primary determinant of insulin sensitivity in the normal dog," *Obesity (Silver Spring)*, vol. 22, no. 5, pp. 1238–45, May 2014.
- [253] J. Erdmann, B. Kallabis, U. Oppel, O. Sypchenko, S. Wagenpfeil, and V. Schusdzjarra, "Development of hyperinsulinemia and insulin resistance during the early stage of weight gain," *Am. J. Physiol. Endocrinol.*

Metab., vol. 294, no. 3, pp. E568-75, Mar. 2008.

- [254] S.-H. Jung, C.-H. Jung, G. M. Reaven, and S. H. Kim, "Adapting to insulin resistance in obesity: role of insulin secretion and clearance," *Diabetologia*, vol. 61, no. 3, pp. 681–687, Mar. 2018.
- [255] C. N. Jones, D. Pei, P. Staris, K. S. Polonsky, Y. D. I. Chen, and G. M. Reaven, "Alterations in the glucose-stimulated insulin secretory dose-response curve and in insulin clearance in nondiabetic insulin-resistant individuals," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 82, no. 6, pp. 1834–8, Jun. 1997.
- [256] R. H. Broh-Kahn and I. A. Mirsky, "The inactivation of insulin by tissue extracts; the effect of fasting on the insulinase content of rat liver," *Arch. Biochem.*, vol. 20, no. 1, pp. 10–4, Jan. 1949.
- [257] N. Pørksen, S. Munn, J. Steers, S. Vore, J. Veldhuis, and P. Butler, "Pulsatile insulin secretion accounts for 70% of total insulin secretion during fasting," *Am. J. Physiol.*, vol. 269, no. 3 Pt 1, pp. E478-88, Sep. 1995.
- [258] W. C. Duckworth, R. G. Bennett, and F. G. Hamel, "Insulin degradation: progress and potential," *Endocr. Rev.*, vol. 19, no. 5, pp. 608–24, Oct. 1998.
- [259] D. C. Polidori, R. N. Bergman, S. T. Chung, and A. E. Sumner, "Hepatic and Extrahepatic Insulin Clearance Are Differentially Regulated: Results From a Novel Model-Based Analysis of Intravenous Glucose Tolerance Data," *Diabetes*, vol. 65, no. 6, pp. 1556–64, Jun. 2016.
- [260] M. K. Kim, G. M. Reaven, Y.-D. I. Chen, E. Kim, and S. H. Kim, "Hyperinsulinemia in individuals with obesity: Role of insulin clearance," *Obesity (Silver Spring)*, vol. 23, no. 12, pp. 2430–4, Dec. 2015.
- [261] S. K. Ramakrishnan *et al.*, "PPAR α (Peroxisome Proliferator-activated Receptor α) Activation Reduces Hepatic CEACAM1 Protein Expression to Regulate Fatty Acid Oxidation during Fasting-refeeding Transition," *J. Biol. Chem.*, vol. 291, no. 15, pp. 8121–9, Apr. 2016.
- [262] S. M. Najjar, "Regulation of insulin action by CEACAM1," *Trends Endocrinol. Metab.*, vol. 13, no. 6, pp. 240–5, Aug. 2002.
- [263] C. J. Goodner, I. R. Sweet, and H. C. Harrison, "Rapid reduction and return of surface insulin receptors after exposure to brief pulses of insulin in perfused rat hepatocytes," *Diabetes*, vol. 37, no. 10, pp. 1316–23, Oct. 1988.
- [264] G. M. Di Guglielmo, P. G. Drake, P. C. Baass, F. Authier, B. I. Posner, and J. J. M. Bergeron, "Insulin receptor internalization and signalling," *Mol. Cell. Biochem.*, vol. 182, no. 1–2, pp. 59–63, May 1998.
- [265] K. Yonezawa *et al.*, "Insulin-degrading enzyme is capable of degrading receptor-bound insulin," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 150, no. 2, pp. 605–14, Jan. 1988.
- [266] M. H. Shanik, Y. Xu, J. Skrha, R. Dankner, Y. Zick, and J. Roth, "Insulin resistance and hyperinsulinemia: is hyperinsulinemia the cart or the horse?," *Diabetes Care*, vol. 31 Suppl 2, no. Supplement 2, pp. S262-8, Feb. 2008.
- [267] R. F. Murphy, S. Powers, and C. R. Cantor, "Endosome pH measured in single cells by dual fluorescence flow cytometry: rapid acidification of insulin to pH 6," *J. Cell Biol.*, vol. 98, no. 5, pp. 1757–62, May 1984.
- [268] H. E. Ghadieh *et al.*, "Exenatide induces carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 expression to prevent hepatic steatosis," *Hepatol. Commun.*, vol. 2, no. 1, pp. 35–47, Jan. 2018.
- [269] S. M. Najjar *et al.*, "Cloning and characterization of a functional promoter of the rat pp120 gene, encoding a substrate of the insulin receptor tyrosine kinase," *J. Biol. Chem.*, vol. 271, no. 15, pp. 8809–17, Apr. 1996.
- [270] N. N. Rudovich, H. J. Rochlitz, and A. F. H. Pfeiffer, "Reduced hepatic insulin extraction in response to gastric inhibitory polypeptide compensates for reduced insulin secretion in normal-weight and normal glucose tolerant first-degree relatives of type 2 diabetic patients," *Diabetes*, vol. 53, no. 9, pp. 2359–65, Sep. 2004.
- [271] G. I. Uwaifo, E. M. Fallon, J. Chin, J. Elberg, S. J. Parikh, and J. A. Yanovski, "Indices of insulin action, disposal, and secretion derived from fasting samples and clamps in normal glucose-tolerant black and white children," *Diabetes Care*, vol. 25, no. 11, pp. 2081–7, Nov. 2002.
- [272] O. Pivovarova *et al.*, "Hepatic insulin clearance is closely related to metabolic syndrome components," *Diabetes Care*, vol. 36, no. 11, pp. 3779–85, Nov. 2013.
- [273] C. N. Jones, F. Abbasi, M. Carantoni, K. S. Polonsky, and G. M. Reaven, "Roles of insulin resistance and obesity in regulation of plasma insulin concentrations," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol. 278, no. 3, pp. E501-8, Mar. 2000.
- [274] P. F. Svendsen, F. K. Jensen, J. J. Holst, S. B. Haugaard, L. Nilas, and S. Madsbad, "The effect of a very low

- calorie diet on insulin sensitivity, beta cell function, insulin clearance, incretin hormone secretion, androgen levels and body composition in obese young women," *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, vol. 72, no. 5, pp. 410–9, Sep. 2012.
- [275] S. H. Kim and G. M. Reaven, "Insulin clearance: an underappreciated modulator of plasma insulin concentration," *J. Investig. Med.*, vol. 64, no. 7, pp. 1162–5, Oct. 2016.
- [276] D. Pei, C. N. Jones, R. Bhargava, Y. D. Chen, and G. M. Reaven, "Evaluation of octreotide to assess insulin-mediated glucose disposal by the insulin suppression test," *Diabetologia*, vol. 37, no. 8, pp. 843–5, Aug. 1994.
- [277] F. M. Finucane *et al.*, "Liver fat accumulation is associated with reduced hepatic insulin extraction and beta cell dysfunction in healthy older individuals," *Diabetol. Metab. Syndr.*, vol. 6, no. 1, p. 43, Mar. 2014.
- [278] A. Kotronen, L. Juurinen, M. Tiikkainen, S. Vehkavaara, and H. Yki-Järvinen, "Increased liver fat, impaired insulin clearance, and hepatic and adipose tissue insulin resistance in type 2 diabetes," *Gastroenterology*, vol. 135, no. 1, pp. 122–30, Jul. 2008.
- [279] A. Kotronen, S. Vehkavaara, A. Seppälä-Lindroos, R. Bergholm, and H. Yki-Järvinen, "Effect of liver fat on insulin clearance," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol. 293, no. 6, pp. E1709-15, Dec. 2007.
- [280] B. D. Strang, S. J. Bertics, R. R. Grummer, and L. E. Armentano, "Relationship of triglyceride accumulation to insulin clearance and hormonal responsiveness in bovine hepatocytes," *J. Dairy Sci.*, vol. 81, no. 3, pp. 740–7, Mar. 1998.
- [281] S. H. Kim *et al.*, "Rosiglitazone reduces glucose-stimulated insulin secretion rate and increases insulin clearance in nondiabetic, insulin-resistant individuals," *Diabetes*, vol. 54, no. 8, pp. 2447–52, Aug. 2005.
- [282] M. Tiikkainen, A.-M. Häkkinen, E. Korshennikova, T. Nyman, S. Mäkimattila, and H. Yki-Järvinen, "Effects of rosiglitazone and metformin on liver fat content, hepatic insulin resistance, insulin clearance, and gene expression in adipose tissue in patients with type 2 diabetes," *Diabetes*, vol. 53, no. 8, pp. 2169–76, Aug. 2004.
- [283] A. B. Goldfine *et al.*, "The effects of salsalate on glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized trial," *Ann. Intern. Med.*, vol. 152, no. 6, pp. 346–57, Mar. 2010.
- [284] H. Kaga *et al.*, "Correlates of insulin clearance in apparently healthy non-obese Japanese men," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, p. 1462, Dec. 2017.
- [285] F. Machicao *et al.*, "Association of the -514C-->T polymorphism in the hepatic lipase gene (LIPC) promoter with elevated fasting insulin concentrations, but not insulin resistance, in non-diabetic Germans," *Horm. Metab. Res.*, vol. 36, no. 5, pp. 303–6, May 2004.
- [286] N. Rudovich *et al.*, "Polymorphisms within insulin-degrading enzyme (IDE) gene determine insulin metabolism and risk of type 2 diabetes," *J. Mol. Med. (Berl)*, vol. 87, no. 11, pp. 1145–51, Nov. 2009.
- [287] O. Pivovarova, O. Gögebakan, A. F. H. Pfeiffer, and N. Rudovich, "Glucose inhibits the insulin-induced activation of the insulin-degrading enzyme in HepG2 cells," *Diabetologia*, vol. 52, no. 8, pp. 1656–64, Aug. 2009.
- [288] R. N. Bergman, "Non-esterified fatty acids and the liver: why is insulin secreted into the portal vein?," *Diabetologia*, vol. 43, no. 7, pp. 946–52, Jul. 2000.
- [289] O. P. Bachmann *et al.*, "Effects of intravenous and dietary lipid challenge on intramyocellular lipid content and the relation with insulin sensitivity in humans," *Diabetes*, vol. 50, no. 11, pp. 2579–84, Nov. 2001.
- [290] S. R. Wiesenthal *et al.*, "Free fatty acids impair hepatic insulin extraction in vivo," *Diabetes*, vol. 48, no. 4, pp. 766–74, Apr. 1999.
- [291] K. L. Donnelly, C. I. Smith, S. J. Schwarzenberg, J. Jessurun, M. D. Boldt, and E. J. Parks, "Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease," *J. Clin. Invest.*, vol. 115, no. 5, pp. 1343–51, May 2005.
- [292] Y. Oshida, K. Yamanouchi, S. Hayamizu, and Y. Sato, "Long-term mild jogging increases insulin action despite no influence on body mass index or VO₂ max," *J. Appl. Physiol.*, vol. 66, no. 5, pp. 2206–10, May 1989.
- [293] M. A. Kurauti *et al.*, "Acute Exercise Improves Insulin Clearance and Increases the Expression of Insulin-Degrading Enzyme in the Liver and Skeletal Muscle of Swiss Mice," *PLoS One*, vol. 11, no. 7, p. e0160239, Jul. 2016.
- [294] S. M. Najjar *et al.*, "Ceacam1 deletion causes vascular alterations in large vessels," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol. 305, no. 4, pp. E519-29, Aug. 2013.

- [295] Q. Y. Al-Share *et al.*, "Forced Hepatic Overexpression of CEACAM1 Curtails Diet-Induced Insulin Resistance," *Diabetes*, vol. 64, no. 8, pp. 2780–90, Aug. 2015.
- [296] M. N. Poy *et al.*, "CEACAM1 regulates insulin clearance in liver," *Nat. Genet.*, vol. 30, no. 3, pp. 270–6, Mar. 2002.
- [297] S. M. Najjar and G. Perdomo, "Hepatic Insulin Clearance: Mechanism and Physiology," *Physiology (Bethesda)*, vol. 34, no. 3, pp. 198–215, May 2019.
- [298] K. D. Copps and M. F. White, "Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2," *Diabetologia*, vol. 55, no. 10, pp. 2565–2582, Oct. 2012.
- [299] A. Virkamäki, K. Ueki, and C. R. Kahn, "Protein-protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance," *J. Clin. Invest.*, vol. 103, no. 7, pp. 931–43, Apr. 1999.
- [300] R. Lautamäki *et al.*, "Insulin improves myocardial blood flow in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease," *Diabetes*, vol. 55, no. 2, pp. 511–6, Feb. 2006.
- [301] E. A. Anderson, R. P. Hoffman, T. W. Balon, C. A. Sinkey, and A. L. Mark, "Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans," *J. Clin. Invest.*, vol. 87, no. 6, pp. 2246–52, Jun. 1991.
- [302] K. Kuboki *et al.*, "Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vivo : a specific vascular action of insulin," *Circulation*, vol. 101, no. 6, pp. 676–81, Feb. 2000.
- [303] G. Zeng *et al.*, "Roles for insulin receptor, PI3-kinase, and Akt in insulin-signaling pathways related to production of nitric oxide in human vascular endothelial cells," *Circulation*, vol. 101, no. 13, pp. 1539–45, Apr. 2000.
- [304] S. Dimmeler, I. Fleming, B. Fisslthaler, C. Hermann, R. Busse, and A. M. Zeiher, "Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation," *Nature*, vol. 399, no. 6736, pp. 601–5, Jun. 1999.
- [305] M. Montagnani, L. V. Ravichandran, H. Chen, D. L. Esposito, and M. J. Quon, "Insulin receptor substrate-1 and phosphoinositide-dependent kinase-1 are required for insulin-stimulated production of nitric oxide in endothelial cells," *Mol. Endocrinol.*, vol. 16, no. 8, pp. 1931–42, Aug. 2002.
- [306] C. Cardillo *et al.*, "Insulin stimulates both endothelin and nitric oxide activity in the human forearm," *Circulation*, vol. 100, no. 8, pp. 820–5, Aug. 1999.
- [307] E. Chou *et al.*, "Decreased cardiac expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in insulin-resistant and diabetic States: a possible explanation for impaired collateral formation in cardiac tissue," *Circulation*, vol. 105, no. 3, pp. 373–9, Jan. 2002.
- [308] P. Geraldes *et al.*, "Selective regulation of heme oxygenase-1 expression and function by insulin through IRS1/phosphoinositide 3-kinase/Akt-2 pathway," *J. Biol. Chem.*, vol. 283, no. 49, pp. 34327–36, Dec. 2008.
- [309] X. Du, D. Edelstein, S. Obici, N. Higham, M.-H. Zou, and M. Brownlee, "Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation," *J. Clin. Invest.*, vol. 116, no. 4, pp. 1071–80, Apr. 2006.
- [310] C. Hermann, B. Assmus, C. Urbich, A. M. Zeiher, and S. Dimmeler, "Insulin-mediated stimulation of protein kinase Akt: A potent survival signaling cascade for endothelial cells," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 20, no. 2, pp. 402–9, Feb. 2000.
- [311] M. A. Potenza *et al.*, "Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, vol. 289, no. 2, pp. H813–22, Aug. 2005.
- [312] K. Naruse *et al.*, "Activation of vascular protein kinase C-beta inhibits Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase function in obesity-associated insulin resistance," *Diabetes*, vol. 55, no. 3, pp. 691–8, Mar. 2006.
- [313] Z. Y. Jiang *et al.*, "Characterization of selective resistance to insulin signaling in the vasculature of obese Zucker (*fa/fa*) rats," *J. Clin. Invest.*, vol. 104, no. 4, pp. 447–57, Aug. 1999.
- [314] C. Rask-Madsen *et al.*, "Loss of insulin signaling in vascular endothelial cells accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E null mice," *Cell Metab.*, vol. 11, no. 5, pp. 379–89, May 2010.
- [315] Y. Hamada, N. Araki, N. Koh, J. Nakamura, S. Horiuchi, and N. Hotta, "Rapid formation of advanced glycation end products by intermediate metabolites of glycolytic pathway and polyol pathway," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 228, no. 2, pp. 539–43, Nov. 1996.

- [316] M. Brownlee, "Advanced protein glycosylation in diabetes and aging," *Annu. Rev. Med.*, vol. 46, no. 1, pp. 223–34, Feb. 1995.
- [317] A. M. Schmidt *et al.*, "Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes," *J. Clin. Invest.*, vol. 96, no. 3, pp. 1395–403, Sep. 1995.
- [318] H. Vlassara, M. Brownlee, K. R. Manogue, C. A. Dinarello, and A. Pasagian, "Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling," *Science*, vol. 240, no. 4858, pp. 1546–8, Jun. 1988.
- [319] Y. Jinnouchi *et al.*, "Glycolaldehyde-modified low density lipoprotein leads macrophages to foam cells via the macrophage scavenger receptor," *J. Biochem.*, vol. 123, no. 6, pp. 1208–17, Jun. 1998.
- [320] S. M. Najjar *et al.*, "Insulin acutely decreases hepatic fatty acid synthase activity," *Cell Metab.*, vol. 2, no. 1, pp. 43–53, Jul. 2005.
- [321] G. M. Ward, J. M. Walters, P. M. Aitken, J. D. Best, and F. P. Alford, "Effects of prolonged pulsatile hyperinsulinemia in humans. Enhancement of insulin sensitivity," *Diabetes*, vol. 39, no. 4, pp. 501–7, Apr. 1990.
- [322] T. F. Osborne, "Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): key regulators of nutritional homeostasis and insulin action," *J. Biol. Chem.*, vol. 275, no. 42, pp. 32379–82, Oct. 2000.
- [323] A. V. Matveyenko *et al.*, "Pulsatile portal vein insulin delivery enhances hepatic insulin action and signaling," *Diabetes*, vol. 61, no. 9, pp. 2269–79, Sep. 2012.
- [324] W. Lee, "The CEACAM1 expression is decreased in the liver of severely obese patients with or without diabetes," *Diagn. Pathol.*, vol. 6, no. 1, p. 40, May 2011.
- [325] G. Heinrich *et al.*, "Reduced Hepatic Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecule 1 Level in Obesity," *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, vol. 8, no. MAR, p. 54, Mar. 2017.
- [326] Y. Yamasaki *et al.*, "Asymptomatic hyperglycaemia is associated with increased intimal plus medial thickness of the carotid artery," *Diabetologia*, vol. 38, no. 5, pp. 585–91, May 1995.
- [327] L. Niskanen, R. Rauramaa, H. Miettinen, S. M. Haffner, M. Mercuri, and M. Uusitupa, "Carotid artery intima-media thickness in elderly patients with NIDDM and in nondiabetic subjects," *Stroke*, vol. 27, no. 11, pp. 1986–92, Nov. 1996.
- [328] C. D. Lee, A. R. Folsom, J. S. Pankow, F. L. Brancati, and Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators, "Cardiovascular events in diabetic and nondiabetic adults with or without history of myocardial infarction," *Circulation*, vol. 109, no. 7, pp. 855–60, Feb. 2004.
- [329] S. M. Haffner *et al.*, "Carotid artery atherosclerosis in type-2 diabetic and nondiabetic subjects with and without symptomatic coronary artery disease (The Insulin Resistance Atherosclerosis Study)," *Am. J. Cardiol.*, vol. 85, no. 12, pp. 1395–400, Jun. 2000.
- [330] E. Bonora *et al.*, "Impaired glucose tolerance, Type II diabetes mellitus and carotid atherosclerosis: prospective results from the Bruneck Study," *Diabetologia*, vol. 43, no. 2, pp. 156–64, Feb. 2000.
- [331] M. de Weerd *et al.*, "Prediction of asymptomatic carotid artery stenosis in the general population: identification of high-risk groups," *Stroke*, vol. 45, no. 8, pp. 2366–71, Aug. 2014.
- [332] K. Shinozaki *et al.*, "Insulin resistance as an independent risk factor for carotid artery wall intima media thickening in vasospastic angina," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 17, no. 11, pp. 3302–10, Nov. 1997.
- [333] L. Bokemark, J. Wikstrand, H. Wedel, B. Fagerberg, and Atherosclerosis and Insulin Resistance sstudy (AIR), "Insulin, insulin propeptides and intima-media thickness in the carotid artery in 58-year-old clinically healthy men. The Atherosclerosis and Insulin Resistance study (AIR)," *Diabet. Med.*, vol. 19, no. 2, pp. 144–51, Feb. 2002.
- [334] C. Kong, T. Elatrozy, V. Anyaoku, S. Robinson, W. Richmond, and R. S. Elkeles, "Insulin resistance, cardiovascular risk factors and ultrasonically measured early arterial disease in normotensive Type 2 diabetic subjects," *Diabetes. Metab. Res. Rev.*, vol. 16, no. 6, pp. 448–53, 2000.
- [335] B. Hedblad, P. Nilsson, L. Janzon, and G. Berglund, "Relation between insulin resistance and carotid intima-media thickness and stenosis in non-diabetic subjects. Results from a cross-sectional study in Malmö, Sweden," *Diabet. Med.*, vol. 17, no. 4, pp. 299–307, Apr. 2000.

- [336] L. L. Vitelli *et al.*, "Glycosylated hemoglobin level and carotid intimal-medial thickening in nondiabetic individuals. The Atherosclerosis Risk in Communities Study," *Diabetes Care*, vol. 20, no. 9, pp. 1454–8, Sep. 1997.
- [337] Y. Huang *et al.*, "Glycated hemoglobin A1c, fasting plasma glucose, and two-hour postchallenge plasma glucose levels in relation to carotid intima-media thickness in chinese with normal glucose tolerance," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 96, no. 9, pp. E1461-5, Sep. 2011.
- [338] F. Andreozzi *et al.*, "Increased carotid intima-media thickness in the physiologic range is associated with impaired postprandial glucose metabolism, insulin resistance and beta cell dysfunction," *Atherosclerosis*, vol. 229, no. 2, pp. 277–81, Aug. 2013.
- [339] T. Temelkova-Kurktschiev *et al.*, "Relationship between fasting plasma glucose, atherosclerosis risk factors and carotid intima media thickness in non-diabetic individuals," *Diabetologia*, vol. 41, no. 6, pp. 706–12, Jun. 1998.
- [340] National Institutes Of Health, "Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: executive summary. Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight in Adults," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 68, no. 4, pp. 899–917, Oct. 1998.
- [341] S. Riva-Rocci, A. Zanchetti, and G. Mancia, "A new sphygmomanometer. Sphygmomanometric technique," *J. Hypertens.*, vol. 14, no. 1, pp. 1–12, Jan. 1996.
- [342] S. D. Kanters, O. E. Elgersma, J. D. Banga, M. S. van Leeuwen, and A. Algra, "Reproducibility of measurements of intima-media thickness and distensibility in the common carotid artery," *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, vol. 16, no. 1, pp. 28–35, Jul. 1998.
- [343] J. M. Plasencia Martínez, J. M. Garcia Santos, M. L. Paredes Martinez, and A. M. Pastor, "Carotid intima-media thickness and hemodynamic parameters: reproducibility of manual measurements with Doppler ultrasound," *Med. Ultrason.*, vol. 17, no. 2, pp. 167–74, Jun. 2015.
- [344] World Health Organization, "Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia. Report of a WHO/IDF consultation," Geneva, 2006.
- [345] R. A. DeFronzo, J. D. Tobin, and R. Andres, "Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance," *Am. J. Physiol.*, vol. 237, no. 3, pp. E214-23, Sep. 1979.
- [346] E. Bonora *et al.*, "Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity," *Diabetes Care*, vol. 23, no. 1, pp. 57–63, Jan. 2000.
- [347] D. R. Matthews, J. P. Hosker, A. S. Rudenski, B. A. Naylor, D. F. Treacher, and R. C. Turner, "Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man," *Diabetologia*, vol. 28, no. 7, pp. 412–9, Jul. 1985.
- [348] M. Matsuda and R. A. DeFronzo, "Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp," *Diabetes Care*, vol. 22, no. 9, pp. 1462–70, Sep. 1999.
- [349] W. N. Kernan *et al.*, "Pioglitazone improves insulin sensitivity among nondiabetic patients with a recent transient ischemic attack or ischemic stroke," *Stroke*, vol. 34, no. 6, pp. 1431–6, Jun. 2003.
- [350] J. Traynor, R. Mactier, C. C. Geddes, and J. G. Fox, "How to measure renal function in clinical practice," *BMJ*, vol. 333, no. 7571, pp. 733–7, Oct. 2006.
- [351] A. Stancáková, M. Javorský, T. Kuulasmaa, S. M. Haffner, J. Kuusisto, and M. Laakso, "Changes in insulin sensitivity and insulin release in relation to glycemia and glucose tolerance in 6,414 Finnish men," *Diabetes*, vol. 58, no. 5, pp. 1212–21, May 2009.
- [352] T. Kadowaki *et al.*, "Risk factors for worsening to diabetes in subjects with impaired glucose tolerance," *Diabetologia*, vol. 26, no. 1, pp. 44–9, Jan. 1984.
- [353] N. J. Wareham, D. I. Phillips, C. D. Byrne, and C. N. Hales, "The 30 minute insulin incremental response in an oral glucose tolerance test as a measure of insulin secretion," *Diabet. Med.*, vol. 12, no. 10, p. 931, Oct. 1995.
- [354] K. M. Utzschneider *et al.*, "Oral disposition index predicts the development of future diabetes above and beyond fasting and 2-h glucose levels," *Diabetes Care*, vol. 32, no. 2, pp. 335–41, Feb. 2009.
- [355] S. A. Herzberg-Schäfer *et al.*, "Evaluation of fasting state-/oral glucose tolerance test-derived measures of insulin release for the detection of genetically impaired β -cell function," *PLoS One*, vol. 5, no. 12, p. e14194, Dec. 2010.

- [356] A. Petersmann *et al.*, "Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus," *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, vol. 127, no. S 01, pp. S1–S7, Dec. 2019.
- [357] M. Carpenter, H. Sinclair, and V. Kunadian, "Carotid Intima Media Thickness and Its Utility as a Predictor of Cardiovascular Disease: A Review of Evidence," *Cardiol. Rev.*, vol. 24, no. 2, pp. 70–5, 2016.
- [358] Emerging Risk Factors Collaboration *et al.*, "Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies," *Lancet (London, England)*, vol. 375, no. 9733, pp. 2215–22, Jun. 2010.
- [359] E. Randrianarisoa *et al.*, "Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 22453, Dec. 2020.
- [360] M. R. Letiexhe *et al.*, "Insulin secretion, clearance, and action on glucose metabolism in cirrhotic patients," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 77, no. 5, pp. 1263–8, Nov. 1993.
- [361] A. M. DeAngelis *et al.*, "Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1: a link between insulin and lipid metabolism," *Diabetes*, vol. 57, no. 9, pp. 2296–303, Sep. 2008.
- [362] G. L. King, K. Park, and Q. Li, "Selective Insulin Resistance and the Development of Cardiovascular Diseases in Diabetes: The 2015 Edwin Bierman Award Lecture," *Diabetes*, vol. 65, no. 6, pp. 1462–71, Jun. 2016.
- [363] A. D. Baron, H. O. Steinberg, H. Chaker, R. Leaming, A. Johnson, and G. Brechtel, "Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation contributes to both insulin sensitivity and responsiveness in lean humans," *J. Clin. Invest.*, vol. 96, no. 2, pp. 786–92, Aug. 1995.
- [364] M. Laakso, S. V. Edelman, G. Brechtel, and A. D. Baron, "Decreased effect of insulin to stimulate skeletal muscle blood flow in obese man. A novel mechanism for insulin resistance," *J. Clin. Invest.*, vol. 85, no. 6, pp. 1844–52, Jun. 1990.
- [365] M. Sjöstrand, S. Gudbjörnsdóttir, A. Holmäng, L. Lönn, L. Strindberg, and P. Lönnroth, "Delayed transcapillary transport of insulin to muscle interstitial fluid in obese subjects," *Diabetes*, vol. 51, no. 9, pp. 2742–8, Sep. 2002.
- [366] M. A. Marini *et al.*, "Insulin clearance is associated with carotid artery intima-media thickness," *Atherosclerosis*, vol. 229, no. 2, pp. 453–8, Aug. 2013.
- [367] C. C. Lee *et al.*, "Insulin clearance and the incidence of type 2 diabetes in Hispanics and African Americans: the IRAS Family Study," *Diabetes Care*, vol. 36, no. 4, pp. 901–7, Apr. 2013.
- [368] R. N. Bergman, F. Piccinini, M. Kabir, C. M. Kolka, and M. Ader, "Hypothesis: Role of Reduced Hepatic Insulin Clearance in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes," *Diabetes*, vol. 68, no. 9, pp. 1709–1716, Sep. 2019.

Quellenangaben der Abbildungen

Abb. 1: Wandaufbau eines Blutgefäßes am Beispiel einer Arterie vom muskulären Typ (S. 12)

Schünke, E., Schulte, E. und Schumacher, U., PROMETHEUS LernAtlas der Anatomie - Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem, 3. überarb. Aufl., Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag, 2011, Kapitel 6.2, Abb. C, S. 64.

Abb. 2: NO-Signalkaskade (S. 17)

P. M. Vanhoutte, H. Shimokawa, E. H. C. Tang, and M. Feletou, "Endothelial dysfunction and vascular disease," *Acta Physiol. (Oxf)*, vol. 196, no. 2, pp. 193–222, Jun. 2009.

Abb. 3: Beginnende entzündliche Phase und Bildung von fatty streak-Läsionen (S. 19)

C. K. Glass and J. L. Witztum, "Atherosclerosis. the road ahead," *Cell*, vol. 104, no. 4, pp. 503–16, Feb. 2001.

Abb. 4: Progression der atherosklerotischen Läsion (S. 20)

P. Libby, P. M. Ridker, and G. K. Hansson, "Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis," *Nature*, vol. 473, no. 7347, pp. 317–25, May 2011.

Abb. 5: Plaquethrombose (S. 23)

P. Libby, P. M. Ridker, and G. K. Hansson, "Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis," *Nature*, vol. 473, no. 7347, pp. 317–25, May 2011.

Abb. 6: Die 6 Stadien atherosklerotischer Läsionen, am Beispiel einer Koronararterie nach Stary et al. (S. 27)

H. C. Stary et al., "A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 15, no. 9, pp. 1512–31, Sep. 1995.

Abb. 7: Evolution und Zusammenhänge atherosklerotischer Läsionen nach Stary et al. (S. 28)

H. C. Stary, "Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 20, no. 5, pp. 1177–8, May 2000.

Abb. 8: Illustration der Korrelation zwischen Anatomie und Ultraschallbild (S. 32)

J. Wikstrand, "Methodological considerations of ultrasound measurement of carotid artery intima-media thickness and lumen diameter," *Clin. Physiol. Funct. Imaging*, vol. 27, no. 6, pp. 341–5, Nov. 2007.

Abb. 9: Schematische Darstellung der Insulin-Clearance in der Leber (S. 46)

V. L. Tokarz, P. E. MacDonald, and A. Klip, "The cell biology of systemic insulin function," *J. Cell Biol.*, vol. 217, no. 7, pp. 2273–2289, 2018.

Abb. 10: Schematische Darstellung des Insulin-Signalwegs in Endothelzellen (S. 52)

G. L. King, K. Park, and Q. Li, "Selective Insulin Resistance and the Development of Cardiovascular Diseases in Diabetes: The 2015 Edwin Bierman Award Lecture," *Diabetes*, vol. 65, no. 6, pp. 1462–71, Jun. 2016.

Abb. 11: cIMT-Messung mittels Ultraschall (S. 61)

eigene Darstellung

Abb. 12: Lineare Korrelation von Insulin-Clearance und cIMT (S. 77)

E. Randrianarisoa *et al.*, "Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 22453, Dec. 2020.

Quellenangaben der Tabellen

Tab. 1: Einteilung atherosklerotischer Läsionen der AHA, modifiziert nach Stary (S. 26)

- H. C. Stary et al., "A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 12, no. 1, pp. 120–34, Jan. 1992.
- H. C. Stary et al., "A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 15, no. 9, pp. 1512–31, Sep. 1995.
- H. C. Stary et al., "A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association," *Arterioscler. Thromb. a J. Vasc. Biol.*, vol. 14, no. 5, pp. 840–56, May 1994.
- H. C. Stary, "Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 20, no. 5, pp. 1177–8, May 2000.

Tab. 2: „Unbeeinflussbare“ und „Beeinflussbare“ CVRF (S.34)

- I. J. Kullo and C. M. Ballantyne, "Conditional risk factors for atherosclerosis," *Mayo Clin. Proc.*, vol. 80, no. 2, pp. 219–30, Feb. 2005.

Tab. 3: Definitionen im Zusammenhang mit Diabetes mellitus (S. 41)

- American Diabetes Association, "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus," *Diabetes Care*, vol. 33, no. Supplement_1, pp. S62–S69, Jan. 2010.
- World Health Organization, "Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia. Report of a WHO/IDF consultation," Geneva, 2006.

Tab. 4: Einteilung bzw. Bewertung des BMI (S. 58)

- National Institutes Of Health, "Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: executive summary. Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight in Adults," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 68, no. 4, pp. 899–917, Oct. 1998.
- World Health Organization, "Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation," *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.*, vol. 894, pp. i–xii, 1–253, 2000.

Tab. 5: Einteilung der arteriellen Hypertonie nach aktueller ESC-Leitlinie (S. 59)

- B. Williams *et al.*, "2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension," *Eur. Heart J.*, vol. 39, no. 33, pp. 3021–3104, Sep. 2018.

Tab. 6: WHO-Standard des 75g-oGTT (S. 63)

- adaptiert nach: A. Petersmann *et al.*, "Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus," *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, vol. 127, no. S 01, pp. S1–S7, Dec. 2019.

Tab. 7: Bewertung des HOMA-IR (S. 65)

- aus: www.laborlexikon.de, 10.07.2020

Tab. 8: Anthropometrische und metabolische Daten der gesamten Studienpopulation (S. 70)

- adaptiert nach: E. Randrianarisoa *et al.*, "Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 22453, Dec. 2020.

Tab. 9: cIMT-Messungen nach Altersklassen (S. 72)

- eigene Darstellung

Tab. 10: Univariate Analyse möglicher demographischer und metabolischer Einflussfaktoren auf die cIMT (S. 74)

- adaptiert nach: E. Randrianarisoa *et al.*, "Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 22453, Dec. 2020.

Tab. 11: Schrittweise multivariate Regressionsanalyse mit cIMT als unabhängiger Variablen (S. 75)

E. Randrianarisoa *et al.*, "Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 22453, Dec. 2020.

Tab. 12: Multiple lineare Regressionsanalyse mit cIMT als abhängiger Variable (S. 78)

E. Randrianarisoa *et al.*, "Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 22453, Dec. 2020.

Tab. 13: Erweiterte multiple lineare Regressionsanalyse mit cIMT als abhängiger Variable (S. 78)

E. Randrianarisoa *et al.*, "Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 22453, Dec. 2020.

Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde in der Medizinischen Universitätsklinik, Abteilung Innere Medizin IV für Diabetologie, Endokrinologie und Nephrologie, unter Anleitung von Prof. Dr. B. Balletshofer durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. med. E. Randrianarisoa, Prof. Dr. med. N. Stefan, Prof. Dr. med. H.-U. Häring, Prof. Dr. med. A. Fritsche, Prof. Dr. med. A. L. Birkenfeld und Prof. Dr. med. M. Heni.

Die Untersuchungen wurden nach Einarbeitung von Dr. med. E. Randrianarisoa von mir mit Unterstützung von Dr. med. E. Randrianarisoa, Dr. med. A. Lehn-Stefan, Dr. med. A. Hieronimus, Dr. med. K. Rittig, Prof. Dr. med. B. Balletshofer und Prof. Dr. med. A. Peter durchgeführt.

Die vorliegenden Daten wurden im Rahmen des Tübingener Lebensstil-Interventions-Programms (TULIP) erhoben. Als Mitglied eines Doktorandenteams war ich im Zeitraum von 04/2013 bis 09/2014 an der Datenerhebung aktiv und persönlich beteiligt. Ich war in diesem Zeitraum mit der Akquise von Probanden im Vorfeld, der Anamnese, körperlichen Untersuchungen, Blutentnahmen zur Bestimmung laborchemischer Parameter, sowie mit der sonografischen Messungen zur Bestimmung der Intima Media-Dicke (cIMT) betraut.

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. med. E. Randrianarisoa durch mich selbst. Zur Analyse der Daten trugen Prof. Dr. med. R. Wagner und Prof. Dr. med. M. Heni bei.

Sämtliche Koautorinnen und -autoren trugen zur Diskussion der Ergebnisse bei, überprüften das Manuskript und gaben ihre Zustimmung zur finalen Version vor der Einreichung.

Das Paper „**Reduced insulin clearance is linked to subclinical atherosclerosis in individuals at risk for type 2 diabetes mellitus**“ ([doi: 10.1038/s41598-020-80581-x](https://doi.org/10.1038/s41598-020-80581-x)) wurde von Dr. med. E. Randrianarisoa federführend formuliert.

Ich versichere, das Manuskript selbständig unter Anleitung von Dr. med. E. Randrianarisoa verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Stuttgart, den

Danksagung

Zum Schluss möchte ich mich noch gerne bei einigen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Bei meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Bernd Balletshofer für seine Bereitschaft mich als Doktoranden anzunehmen und zu betreuen. Für seine Beratung, seine konstruktiven Korrekturen und seinen Glauben daran, dass die Arbeit zu einem guten Ende findet.

Bei meinem Betreuer Dr. med. Elko Randrianarisoa für die Einarbeitung in die Thematik und die sonographischen Messungen. Für seine ständige Bereitschaft mir mit Rat und Tat zur Seite zu stehen, mit unermüdlichem (Zeit-) Einsatz weit über das Gewöhnliche hinaus. Für all seine Anregungen und für die Diskussionen, die mich jedes Mal ein Stück weiter gebracht haben. Für sein Durchhalten bis zum nun guten Schluss.

Bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der TULIP-Studie, die an der Organisation und Datenerhebung beteiligt waren. Und bei den Ko-Autorinnen und Ko-Autoren, die zum Gelingen der Veröffentlichung beigetragen haben.

Bei allen Probanden, ohne deren Teilnahme diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.

Bei A. Venus und O. Ploner für ihr Lektorat und ihre hilfreichen inhaltlichen Beiträge.

Bei meinen Eltern und Schwiegereltern, die mir den Rücken frei gehalten, den Magen gefüllt und die Arbeit Korrektur gelesen haben.

Bei T und t. Ohne viele Worte: DANKE.