Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik

Tübingen

Abteilung Innere Medizin IV

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H.-U. Häring

Untersuchung der Bedeutung des viszeralen Fettgewebes für die endotheliale Funktion bei Menschen mit erhöhtem Risiko für Diabetes mellitus Typ 2

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Anja Hieronimus
aus
Kirchheimbolanden
2014

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. B. Balletshofer
2. Berichterstatter:	Professor Dr. S. Jacob

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1	**Einleitung**	**1-14**
1.1.	Atherosklerose im Überblick	1-5
1.1.1	Epidemiologie	1-2
1.1.2	Pathogenese	3-4
1.1.3	Risikofaktoren	4-5
1.2	Rolle des Endothels	5-8
1.2.1	Stickstoffmonoxid – NO	5
1.2.2	Endotheliale Dysfunktion	6
1.2.3	Intima-Media-Dicke (IMD)	6-7
1.2.4	Diabetes mellitus: Auswirkungen auf das Gefäßsystem	7-8
1.3	Das metabolische Syndrom	9
1.4	Rolle der Lebensstilintervention	10-11
1.5	Rolle des Fettgewebes und der Fettverteilung	11-13
1.6	Fragestellung	14
2	**Material und Methoden**	**15-24**
2.1	Studiendesign	15
2.2	Lebensstilintervention	15-16
2.3	Oraler Glukosetoleranztest (OGTT)	17
2.4	Gefäßmessungen	17-22
2.4.1	Flussassoziierte Dilatation (FMD = flow mediated dilation)	18-21
2.4.2	Intima Media Dicke (IMD)	21-22
2.5	Körperfettverteilung - Magnetresonanztomographie	23
2.6	Labordiagnostik	23-24
2.7	Statistische Analyse	24
3	**Ergebnisse**	**25-31**
3.1	Basisparameter beider Probandengruppen	25-28
3.2	Effekt der Lebensstilintervention auf das kardiovaskuläre Risikoprofil, die Körperfettverteilung sowie die Gefäßparameter	29-31

4	**Diskussion**	**32-35**
4.1	Effekte der Lebensstilintervention auf das viszerale Fettgewebe und die Gefäßfunktion	32-34
4.2	Einfluss des VAT auf Entzündungsparameter	34
4.3	Fazit	35
5	**Zusammenfassung**	**36-37**
6	**Literaturverzeichnis**	**38-46**
7	**Anhang**	**47-63**
7.1	Abbildungen/Tabellen	47-55
7.2	Publikation der Daten	56-61
7.3	Danksagung	62
7.4	Lebenslauf	63

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ABI	Ankle-Brachial Index
A. brachialis/ Aa.	Arteria brachialis/ Arteriae
AGEs	advanced glycation endproducts
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
cm	Zentimeter
cm^2	Quadratzentimeter
CRP	C-reaktives Protein
DAC	Diacylglycerol
dl	Deziliter
DPS	Diabetes Präventions Studien
ED	endotheliale Dysfunktion
EDRF	endothelium derived relaxing factor
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
eNOS	endotheliale NO-Synthase
EZ	Echozone
FAD	flow associated vasodilation
FFS= FFA	freie Fettsäuren = free fatty acids
FMD	Fluss-mediierte Dilatation
g	Gramm
GlcNAc	N-acetyl-D-glucosamin
γ-GT	γ-Glutamyltransferase
GTN	Glyceroltrinitrat
h	Stunde
HbA1c	Hämoglobin A1c
HDL	High-density lipoprotein
hsCRP	high-sensitive C-reactive protein
HZV	Herzzeitvolumen

IAS	individuelle anaerobe Schwelle
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
IDF	International Diabetes Federation
IL-6	Interleukin 6
IMD = IMT	Intima-Media Dicke (thickness)
IR	Insulinresistenz
ISI	Insulin-Sensitivitäts-Index
KAI	Knöchel-Arm-Index
kcal	Kilokalorie
kg	Kilogramm
KHK	koronare Herzkrankheit
kJ	Kilojoule
l	Liter
LDL	Low-density Lipoprotein
m	männlich
m²	Quadratmeter
MCP-1	monocyte chemotactic protein-1
mg	Milligramm
mGlc	mittlere OGTT-Glukose-Konzentration
MHz	Megahertz
min	Minute
Mio	Millionen
mIns	mittlere OGTT-Insulin-Konzentration
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
MRT	Magnetresonanztomographie
ms	Millisekunde
n	Anzahl
NAFLD	Nichtalkoholische Fettlebererkrankung
NF-κB	Nuclear Factor-Kappa B
ng	Nanogramm

nGlc	Nüchternglukose
nIns	Nüchtern-Insulin
NO	Stickstoffmonoxid
n.s.	nicht signifikant
OGTT	Oraler Glukosetoleranztest
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PI-3-K	Phosphatidylinositol-3- Kinase
PKC	Protein Kinase C
PROCAM	Prospective Cardiovascular Münster
RAGEs	AGE-Rezeptoren (s. dort)
ROS	radikale Sauerstoff (oxygen) Spezies
$RR_{sys/dia}$	Blutdruck nach Riva-Rocci systolisch/diastolisch
T	Tesla
TAT	Gesamtkörperfettgewebe (total adipose tissue)
TG	Triglyzeride
TGF b-1	transforming growth factor beta-1
TNF-α	Tumor-Nekrose-Faktor alpha
TULIP	Tübinger Lebensstil Interventionsprogramm
VAT	viszerales Fettgewebe (visceral adipose tissue)
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1
VLDL	Very low density lipoprotein
w	weiblich
YSI	Yellow Springs Instruments
z.B.	zum Beispiel
%	Prozent
Δ	Veränderung

1 Einleitung

1.1 Atherosklerose im Überblick

Die Atherosklerose ist eine „variable Kombination von Intimaveränderungen der Arterien, die aus einer fokalen Anhäufung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutprodukten, fibrösem Gewebe und Kalkablagerungen besteht und mit Mediaveränderungen einhergeht.“ (Büttner und Thomas 2003). Sie ist eine multifaktorielle Erkrankung die zur Verhärtung und zur Einschränkung der Funktion der Gefäße führt. In den verschiedenen Gefäßabschnitten treten dann die klassischen symptomatischen Gefäßerkrankungen auf: Angina pectoris und Myokardinfarkt als Manifestation an den Koronararterien, Claudicatio intermittens bis hin zum Ulcus bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK), transitorische ischämische Attacke bis hin zum Apoplex bei Befall der hirnversorgenden Arterien und mesenteriale Ischämie bei Befall der viszeralen Gefäße. Die Nieren können direkt in Form einer Nierenarterienstenose, oder indirekt durch arterio-embolische Ereignisse betroffen sein.

1.1.1 Epidemiologie

Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems führen seit Jahren die Todesursachenstatistik in den westlichen Industrieländern an. 2010 wurde in der Bundesrepublik Deutschland laut Statistischem Bundesamt die Atherosklerose als eigenständige Erkrankung gemäß ICD-10 auf Rang 21 (7.916) der insgesamt 858.768 Sterbefälle geführt. Die klinischen Manifestationen wie „chronisch ischämische Herzkrankheit“ (Rang 1, 72.734) und der „akute Myokardinfarkt“ (Rang 2, 55.541) stehen an der Spitze der 2010 gemeldeten Sterbefälle. Auch der „Hirninfarkt“ (Rang 11, 15.769) und „sonstige periphere Gefäßkrankheiten“ (Rang 37, 5.548) befinden sich unter den 50

häufigsten Todesursachen in der Bundesrepublik Deutschland (Statistisches Bundesamt (2011 a)).

Nicht nur die Mortalität, sondern auch die Morbidität ist sehr hoch.

So entfielen 2010 von den ca. 18,5 Mio vollstationär behandelten Patienten ca. 2,75 Mio auf Krankheiten des Kreislaufsystems und standen damit erneut an der Spitzenposition. Davon wurden ca. 666 000 Patienten auf Grund ischämischer Herzerkrankungen und ca. 360 000 Patienten auf Grund von zerebrovaskulären Krankheiten vollstationär behandelt (Statistisches Bundesamt (2011 b)).

Da die pAVK als weitere Manifestation der Atherosklerose gleichzeitig auch eine Indikatorerkrankung für andere atherosklerotisch-assoziierte Erkrankungen darstellt und zudem lange Zeit subklinisch verläuft, ist deren Früherkennung von großer Bedeutung. In der Heinz Nixdorf Recall Studie wurde von 2000 bis 2003 bei 4814 Personen im Alter von 45 - 75 Jahren der Knöchel-Arm-Index (KAI) gemessen. Diese Messungen ergaben eine Prävalenz der pAVK von 6,4% bei Männern und 5,1% bei Frauen mit einem Anstieg im Alter > 65 Jahren bei Männern (Kröger et. al 2006). In der Untergruppe der Teilnehmer mit gleichzeitig bestehender koronarer Herzkrankheit (KHK) zeigte sogar jeder 5. Mann und jede 7. Frau einen pathologisch veränderten KAI im Sinne einer pAVK (Kröger et al. 2006). Dies zeigt erneut den generalisierten Charakter einer atherosklerotischen Gefäßerkrankung. Bei einer weiteren deutschen Querschnittsstudie (getABI study = German Epidemiological Trial on Ankle Brachial Index Studie) zur Prävalenz der pAVK wurde bei 6880 klinisch asymptomatischen Patienten im Alter > 65 Jahren in Hausarztpraxen der Knöchel-Arm-Index bestimmt. Hierbei zeigte sich eine deutlich höhere Prävalenz der pAVK: 19,8% der Männer und 16,8% der Frauen zeigten einen verminderten ABI im Sinne einer nachweisbaren aber noch subklinischen pAVK (Diehm et al. 2004).

Somit sind die Atherosklerose und ihre klinischen Manifestationen für einen erheblichen Teil der Morbidität und Mortalität, sowie der Kosten im Gesundheitswesen verantwortlich. Dies zeigt erneut wie wichtig eine effektive Primärprävention ist.

1.1.2 Pathogenese

Es gibt verschiedene Theorien über die Entstehung der Atherosklerose, die jedoch im Wesentlichen alle davon ausgehen, dass es zu Beginn zu einer Schädigung des Endothels kommt. Russell Ross beschreibt dies in seiner bereits 1977 veröffentlichten „response to injury“ Theorie (Ross et al. 1977). Ross stellt in seiner Theorie physikalische und chemische Reize als Ursache der Endothelverletzung in den Mittelpunkt. Diese Ansicht wurde durch Forschungsergebnisse der letzten Jahre ergänzt. Heute geht man davon aus, dass chronisch inflammatorische Prozesse entscheidend an der Pathogenese der Atherosklerose beteiligt sind (Ross 1999, Fan und Watanabe 2003).

Aktivierte Endothelzellen exprimieren vermehrt Adhäsionsmoleküle. Dabei vermitteln Selektine das „Rolling“ der Leukozyten am Gefäßendothel (Hansson 2005). Die Proteine intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) und vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) sorgen durch Interaktion mit ihren jeweiligen Rezeptoren für die feste Bindung der Leukozyten an der Gefäßwand. Eingewanderte Monozyten differenzieren sich in Makrophagen, die Low-density Lipoprotein-Cholesterin (LDL-Cholesterin) aufnehmen und zu Schaumzellen transformieren, die wiederum Zytokine freisetzen (Napoli et al. 2006). Die ersten morphologischen Veränderungen werden als „fatty streaks“ (streifenförmige Fetteinlagerung in der Gefäßwand) bezeichnet und sind bereits bei Jugendlichen nachweisbar (Strong et al. 1999).

Als weiteren Schritt der Atherosklerose wandern glatte Muskelzellen aus der Gefäßwand in die Intima ein, vermittelt durch lokale Zytokine und Wachstumsfaktoren aus Monozyten (Ross 1993). Diese teilen sich und beginnen mit der Sekretion von Matrixprodukten. Sie bilden so die „intermediäre Läsion“ als nächstes Stadium der Atherosklerose. Durch die anhaltende Zelleinwanderung und Zellproliferation vergrößert sich die atherosklerotische Läsion und durch die weitere bindegewebige Transformation des Interstitiums entsteht eine „fibröse Kappe“ (Ross 1999). Das nächste Stadium ist durch einen nekrotischen Lipidkern gekennzeichnet und wird als „organisierte Plaque“

bezeichnet (Lyon et al. 2003). Es kann eine Kalzifizierung um die Nekrose herum auftreten. Diese Plaque wird auch Atherom genannt. Durch proteolytische Enzyme aus Makrophagen können im weiteren Verlauf die extrazelluläre Matrix und die fibröse Kappe degradiert werden. Im Endstadium einer sogenannten „komplizierten Läsion“ führt dies zu Instabilität und Rupturneigung der Plaques (Ross 1999).
Bei Progression der beschriebenen Prozesse kann das Atherom durch Verkalkung, Ulzeration, Thrombenbildung oder durch alleinige Größenzunahme zu einer Gefäßstenose führen und damit klinisch manifest werden.

1.1.3 Risikofaktoren

Da es sich bei der Atherosklerose um einen progredienten, stadienhaften Verlauf handelt, kommt der Minimierung von Risikofaktoren in präventiver Hinsicht besondere Bedeutung zu. In groß angelegten epidemiologischen Studien, wie der Framingham Heart Study in den USA oder der PROCAM Studie in Deutschland, konnten mehrere Risikofaktoren der Atherosklerose identifiziert werden. Darunter sind Alter, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, eine positive Familienanamnese für eine frühzeitige koronare oder zerebrale Gefäßerkrankung und eine Dyslipidämie (Assmann et al. 1996, Fowkes et al. 1992, Ridker et al. 2001). Als Dyslipidämie bezeichnet man das Vorliegen von erhöhtem LDL- oder Gesamtcholesterin und gleichzeitig erniedrigtem HDL-Serumspiegel. Der negative Effekt der etablierten Risikofaktoren in der Atherogenese ist unbestritten. So haben z.B. Hypercholesterinämie und arterielle Hypertonie einen synergistischen negativen Effekt auf die Koronarien (Rodriguez-Porcel et al. 2003). Dennoch gibt es aktuelle Hinweise, dass auch andere Risikofaktoren in Betracht gezogen werden müssen. Damit gehören erhöhte Werte der Nüchternglukose, Triglyzeride, Lipoprotein (a), Homocystein und high-sensitive C-reactive protein (hsCRP) zu den Risikofaktoren in der Entwicklung der Atherosklerose, welche

sowohl systemische als auch lokale Effekte auslösen (Fruchart et al. 2004). Dabei spielen die vaskuläre Inflammation, die Apoptose, der oxidative Stress und die dabei freigesetzten Mediatoren eine entscheidende Rolle (Napoli et al. 2006).

1.2 Rolle des Endothels

1.2.1 Stickstoffmonoxid – NO

Das Endothel stellt sowohl ein parakrines als auch endokrines Organ dar. Es ist sowohl an der Vasoregulation als auch an der Proliferation glatter Muskelzellen, der Plättchenaggregation und Adhäsion von Entzündungszellen (insbesondere Monozyten und Leukozyten) beteiligt. Somit ist die funktionelle Integrität des Endothels entscheidend für dessen antiatherosklerotische und antithrombotische Effekte. Es wird damit zum Angriffspunkt und Mediator atherosklerotischer Veränderungen (Schächinger et al. 2000, Vane et al. 1990). Im Mittelpunkt steht hierbei das von Endothelzellen gebildete Stickstoffmonoxid (NO). Dieses wird durch die ATP-unabhängige „endotheliale NO-Synthase“ (eNOS) aus L-Arginin unter Abspaltung von Citrullin synthetisiert. Als stärkster Vasodilatator (Synonym: Endothelium derived relaxing factor, EDRF) wirkt NO vasotonusregulierend. Es verringert die Adhäsion und Infiltration von Leukozyten, hemmt die Oxidation von low-density lipoprotein (LDL) Cholesterin und reduziert die Proliferation glatter Muskelzellen in der Gefäßwand (Davignon und Ganz 2004, Rubbo et al. 2002). Synergistisch mit Prostacyclin hemmt es die Thrombozytenaggregation und hat damit antithrombotische Eigenschaften (Lüscher und Barton 1997). Somit wirkt es dem proatherogenen Endothelin-1 entgegen, das vasokonstriktiv wirkt und zudem zu einer vermehrten Teilungsrate und Migration glatter Gefäßmuskelzellen führt.

1.2.2. Endotheliale Dysfunktion

Eine verminderte Produktion oder Aktivität des NO mit messbar verringerter Dilatationsfähigkeit der Arterie wird als „endotheliale Dysfunktion“ (ED) bezeichnet. Dies wird als frühfunktioneller Schritt in der Atheroskleroseentstehung angesehen (Balletshofer et al. 2002). In Studien konnte gezeigt werden, dass bei Patienten eine endotheliale Dysfunktion bereits im präklinischen Stadium der Atherosklerose nachweisbar ist (Davignon und Ganz 2004). Zudem konnte ein Zusammenhang zwischen der ED und kardiovaskulären Risikofaktoren hergestellt werden (Celermajer et al. 1994). Damit ist die endotheliale Dysfunktion von prognostischer Bedeutung für die klinische Manifestation der Atherosklerose.
Bei Patienten mit nonobstruktiver KHK, jedoch gleichzeitig stark reduzierter Endothelfunktion konnte ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse nachgewiesen werden (Suwaidi et al. 2000). Weitere Studien belegen, dass die ED einen unabhängigen prognostischen Faktor sowohl für die Progression der Atherosklerose als auch für das Auftreten akuter koronarer Ereignisse bei Patienten mit und ohne KHK darstellt (Halcox et al. 2002, Heitzer et al. 2001, Schächinger et al. 2000). Des Weiteren wurde der enge Zusammenhang zwischen endothelialer Dysfunktion, gemessen als Dilatationsfähigkeit der A. brachialis und - sowohl dem Vorliegen als auch dem Schweregrad - einer KHK belegt (Neunteufl et al. 1997).

1.2.3. Inima-Media-Dicke (IMD)

Die Gefäßwand besteht aus drei Schichten: Intima, Media und Adventitia. Wie bereits beschrieben kommt es im Rahmen der Atherogenese zur Einlagerung von Substanzen durch die Intima in die Media, deren Dicke dadurch zunimmt. Mittels noninvasiver, hochauflösender Ultraschalltechnik kann man diese frühe morphologische Veränderung der Atherogenese zuverlässig messen. Dabei ist

zu bedenken, dass es sich bei der verdickten IMD nicht um das Sichtbarwerden von Plaques oder messbaren Blutflussänderungen in den Carotiden handelt. Bereits lange vor Entstehen einer manifesten stenosierenden Atherosklerose ist eine Intima-Media-Verdickung nachweisbar.

Es konnte bereits mehrfach eine positive Korrelation zwischen zerebrovaskulären sowie kardiovaskulären Ereignissen mit einer Zunahme der IMD nachgewiesen werden (Lorenz et al. 2007). Somit kann man die Messung der IMD als prädiktiven Risikofaktor in Screening Untersuchungen einsetzen und Personen mit einem erhöhten kardio- und zerebrovaskulären Risiko herausfiltern.

Beide, die endotheliale Dysfunktion und die IMD, haben sich als unabhängige prognostische Faktoren hinsichtlich Morbidität und Mortalität zerebrovaskulärer und kardiovaskulärer Ereignisse herausgestellt. Zudem können sie als Marker für das Vorhandensein von atherosklerotischen Veränderungen im gesamten arteriellen Gefäßsystem angesehen werden (Bots et al. 1997, O'Leary et al. 1999, Schächinger et al. 2000, Suwaidi et al. 2000).

1.2.4. Diabetes mellitus: Auswirkungen auf das Gefäßsystem

Die Lebenszeitprävalenz des Diabetes mellitus Typ 2 beträgt derzeit in der Bundesrepublik Deutschland 8,6%, wobei die Prävalenz mit steigendem Alter zunimmt (> 65 Jahre = 18,1%) (GEDA 2010). Zudem kann von einer hohen Dunkelziffer (ca. 40-50%) ausgegangen werden. Neben Nikotinkonsum und arterieller Hypertonie ist der Diabetes mellitus Typ 2 nicht nur pathophysiologisch sondern auch numerisch ein Hauptrisikofaktor für die Entstehung der Atherosklerose. Bereits in der Framingham Heart Study konnte gezeigt werden, dass Patienten mit manifestem Typ 2 Diabetes, aber auch Patienten mit gestörter Glukosetoleranz ein mindestens 2–3fach erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse verglichen mit der gesunden, nicht-diabetischen Bevölkerung aufweisen (Kannel et al. 1979). Bei einer prädiabetischen Stoffwechsellage sind bereits die antiatherogenen

Mechanismen gestört und die Atherogenese schreitet voran. Eine zentrale Rolle spielt auch hierbei die reduzierte Bioverfügbarkeit von NO. In Studien zeigte sich, dass die Insulinwirkung mit frühen funktionellen und morphologischen Veränderungen des Gefäßsystems vergesellschaftet ist (Balletshofer et al. 2000, Caballero et al. 1999). Die Hyperglykämie selbst führt ebenfalls zu einer Aktivitätsminderung der eNOS und zum Anstieg von Sauerstoffradikalen (Diabetes Care 2003). Da die Endothelzelle nicht wie andere Zelltypen in der Lage ist, den Glukosetransport zu regulieren, wirkt sich eine Hyperglykämie direkt auf die intrazellulären Vorgänge aus. Es kommt z.B. zur Produktion von „advanced glycation endproduct“ (AGEs). Diese schädigen die Endothelzelle erstens über die Modifikation von intrazellulären Proteinen (u.a. Proteine der Gentranskription), zweitens verändern sie extrazelluläre Matrixmoleküle, was zu zellulärer Dysfunktion führt und drittens modifizieren sie extrazelluläre Proteine im Blut. Diese veränderten Proteine binden an AGE-Rezeptoren (RAGEs), aktivieren sie und es kommt zur Bildung inflammatorischer Zytokine und Wachstumsfaktoren (Brownlee 2005). Zu Beginn der Atherosklerose kommt es zur Schaumzellbildung, da durch die AGE/RAGE-Verbindungen vermehrt Monozytenadhäsionsmoleküle exprimiert werden. Durch einen größtenteils MCP-1 und NF-κB vermittelten Prozess wird dann die Anhaftung und Transmigration von Monozyten gesteigert (Hansson 2005). Ein weiterer Mechanismus der zur Hemmung der eNOS führt und zeitgleich eine Aktivitätssteigerung des Gegenspielers Endothelin-1 bewirkt, ist die Aktivierung von Isoformen (i.B. – β und –δ) der Protein Kinase C (PKC) über die vermehrte Synthese von Diacylglycerol (DAC) (Brownlee 2005, Diabetes Care 2003, Inoguchi et al. 2000). Zudem kommt es zur Inhibition der Phosphatidylinositol (PI)-3-Kinase (Diabetes Care 2003). Diese Mechanismen treten bereits im Stadium der Insulinresistenz auf und sind mit intrazellulärer Hyperglykämie verbunden.

1.3 Das metabolische Syndrom

Die Hauptrisikofaktoren der Atherosklerose wie z.B. die arterielle Hypertonie treten häufig im Rahmen des metabolischen Syndroms auf. Dieses stellt wiederum die Vorstufe eines manifesten Diabetes mellitus dar. Zudem zeigt eine zentrale (bauchbetonte) Adipositas bei Patienten mit gestörter Glukosetoleranz die höchste Prävalenz (93-100%) aller Komponenten des metabolischen Syndroms gefolgt von erhöhten Triglyzeriden (TG) (69%) und niedrigem HDL (65,5%). Bei Jugendlichen stellt der Bauchumfang den stärksten Vorhersagewert für einen adulten Typ 2 Diabetes bzw. das metabolische Syndrom dar (Lee et al. 2007).

Das metabolische Syndrom wird nach der neuen IDF-Definition (2005) wie folgt definiert:

Bauchumfang bei Männern mehr als 94 cm bzw. bei Frauen mehr als 80 cm plus mindestens zwei weitere der folgenden Pathologien:

- erhöhte Triglyzeridwerte (mindestens 150 mg/dl bzw. 1,7 mmol/l) bzw. eine bereits eingeleitete Behandlung zur Absenkung der Triglyzeride
- zu niedriges HDL-Cholesterin (Männer: weniger als 40 mg/dl bzw. 1,03 mmol/l; Frauen: weniger als 50 mg/dl bzw. 1,29 mmol/l) bzw. eine bereits eingeleitete Therapie zur Anhebung des HDL-Cholesterins
- Bluthochdruck (systolisch mehr als 130 mmHg oder diastolisch mehr als 85 mmHg) bzw. eine bereits behandelte Hypertonie
- Erhöhte Nüchtern-Blutglukosespiegel (mehr als 100 mg/dl bzw. 5,6 mmol/l) oder ein bereits diagnostizierter Typ 2 Diabetes.

In vorherigen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen globaler Gewichtsreduktion und verbesserter Gefäßfunktion gezeigt werden, was die Assoziation zwischen metabolischem Syndrom und endothelialer Dysfunktion untermauert (Hamdy et al. 2003).

1.4 Rolle der Lebensstilintervention

Als endotheliale Dysfunktion wird die verminderte Fähigkeit der Gefäße auf Stress durch Scherkräfte oder pharmakologische Stimuli mit Vasodilatation zu reagieren bezeichnet. Da durch Sport eine erhöhte Blutviskosität (Wieczorek et al. 1995), eine gesteigerte Herzfrequenz (Hutcheson et al. 1991) und ein erhöhtes HZV resultiert, wirken vermehrt Scherkräfte auf die Gefäße. Dadurch wird eine gesteigerte NO-Produktion induziert, woraus eine mittels FMD messbar verbesserte Endothelfunktion resultiert. Ein körperliches Trainingsprogramm wirkt sich somit ebenso positiv auf die Endothelzellen, den Gefäßtonus und die NO-Produktion aus, welche miteinander gekoppelt sind, wie auch auf die Reduktion der viszeralen Fettgewebsmasse (Lavrencic et al. 2000). In Tierexperimenten konnte zudem eine vermehrte Genexpression der NO-Synthase festgestellt werden (Sessa et al. 1994).

Durch körperliches Training wird eine verbesserte Glukoseaufnahme in die Muskelzellen durch eine erhöhte Durchblutungsrate der Skelettmuskulatur erreicht. Es kommt zu einer verbesserten peripheren Insulinwirkung (Lampman und Schteingart 1991). Dieser positive Effekt ist mit dem vermehrten Einbau des Glukosetransporters GLUT 4 sowie Veränderungen der Muskelmorphologie im Verlauf des Training assoziiert (Borghouts und Keizer 2000, Ivy 1997) Neuere Studien zeigten, dass durch körperliches Training die mitochondriale Aktivität in den Muskelzellen gesteigert wird und dies wiederum zu einer verbesserten Insulinsensitivität führt (Fritz et al. 2006, Toledo et al. 2007).

Interventionsstudien zeigen, dass ein Trainingsprogramm, welches sich auf Änderungen des Lebensstils konzentriert, geeignet ist, eine Körpergewichtsreduktion und eine Reduktion der Entzündungsparameter zu bewirken und somit effektiv in der Reduzierung kardiovaskulärer Ereignisse ist (Hakim et al. 1998, Kannel et al.1985). Zum Beispiel reduziert Walking bei Männern über 65 Jahren die Mortalität insgesamt, insbesondere die Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse. Dabei kommt es sowohl auf die Intensität als auch auf die Distanz und Regelmäßigkeit an (z.B.: 20 min 3x/Woche, >4kcal/kg/h)

(Bijnen et al. 1998). Dieser positive Einfluss spiegelt sich auch im reduzierten BMI (Body mass Index), dem verbesserten Lipidstatus (LDL/HDL), der reduzierten Hypertonie (systolischer Blutdruckwert) und einer verbesserten Gerinnungshomöostase wider. Dies wiederum reduziert die Risikofaktoren der Atherosklerose durch das metabolische Syndrom und wirkt sich wie bereits beschrieben positiv auf die ED aus. Zudem scheinen biologische Faktoren eine wichtige Rolle zu spielen.

1.5 Rolle des Fettgewebes und der Fettverteilung

Vorausgegangene Untersuchungen der letzten Jahre haben das viszerale Fettgewebe (VAT = visceral adipose tissue) und ebenso ektopische Fettgewebsdepots in der Leber als potente Mediatoren der systemischen Entzündungsreaktion und somit potentiell als negativ beeinflussende Faktoren der endothelialen Dysfunktion identifiziert (Despres und Lemieux 2006, Lee et al. 2007, Stefan et al. 2008a, Targher et al. 2008, Wajchenberg 2000). Da in der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen Sauerstoffradikale eine wichtige Rolle spielen, kann man von einem circulus vitiosus sprechen: Die Fettsäureoxidation, die durch die Steatosis stimuliert wird, setzt Sauerstoffradikale frei, welche wiederum Hepatozyten zerstören und Zytokine freisetzen. Daraus entsteht ein proinflammatorisches Milieu, das atherosklerotische Stimuli auslöst (Moller et al. 2005). Dabei ist z.B. die NAFLD (nicht alkoholtoxische Hepatopathie) mit mikro- und makrovaskulären Schäden in Verbindung zu bringen. Daraus ergibt sich wiederum ein neuer Aspekt in der Prävention kardiovaskulärer Komplikationen bei Diabetes Typ 2 Patienten. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die klassischen Leberenzyme wie Transaminasen und γ-GT keine guten Vorhersagen zulassen (Targher et al 2007b). Vielmehr spielen molekulare Mediatoren, die vermehrt bei erhöhten viszeralen Fettdepots oder NAFLD freigesetzt werden, eine entscheidende Rolle in der Progression der Atherosklerose. Beispiele solcher Parameter sind glykolisierte Endprodukte, reaktive Sauerstoffradikale, CRP, Plasminogen-

Aktivator-Inhibitor-1, IL 6, TNF-α ,TGF b-1 etc. (Lee et al. 2007, Targher et al. 2008). So führt die Produktion von Interleukin 6 (IL-6) im viszeralen Fettgewebe zu einer vermehrten Produktion von C-reaktivem Protein (CRP) in der Leber, welches wiederum die eNOS hemmt. Die Hemmung der eNOS gilt bereits als anerkannter Marker in der Entstehung der Atherosklerose (Balletshofer et al. 2005, Ridker 2007). Außerdem produziert eine Fettleber vermehrt Fetuin-A. Dieses hemmt die Tyrosin Phosphorylierung des Insulin Rezeptors (Auberger et al. 1989) und induziert die Expression proinflammatorischer Zytokine auf Monozyten (Hennige et al. 2008). Dadurch fördert es die lokale Entzündungsreaktion an der Gefäßwand und zeigt eine enge Korrelation zu kardiovaskulären Komplikationen (Weikert et al. 2008) und zur Insulinresistenz (Stefan et al. 2006).

Das Gewebshormon Adiponectin, welches von Adipozyten sezerniert wird, und zwar abhängig von deren Füllungszustand, erhöht die Wirkung von Insulin in den Zielorganen und besitzt einen antiatherosklerotischen Effekt. Es verhindert die Aufnahme von oxidiertem LDL in die Makrophagen und somit die Schaumzellbildung. Bei Übergewicht sinkt sein Spiegel (Targher et al. 2005, Targher et al. 2007a). VAT stellt somit ein endokrines Organ dar und sezerniert ebenso wie die Leber entzündliche Mediatoren und Adhäsionsmoleküle, die entscheidend an der Plaquebildung beteiligt sind. Dabei führt ein erhöhtes Anfallen von freien Fettsäuren, z.B. bei Insulinresistenz auch zu oxidativem Stress in Endothelzellen des makrovaskulären Gefäßsystems und dadurch zu atherosklerotischen Prozessen (Targher et al. 2007a, Abb1.).

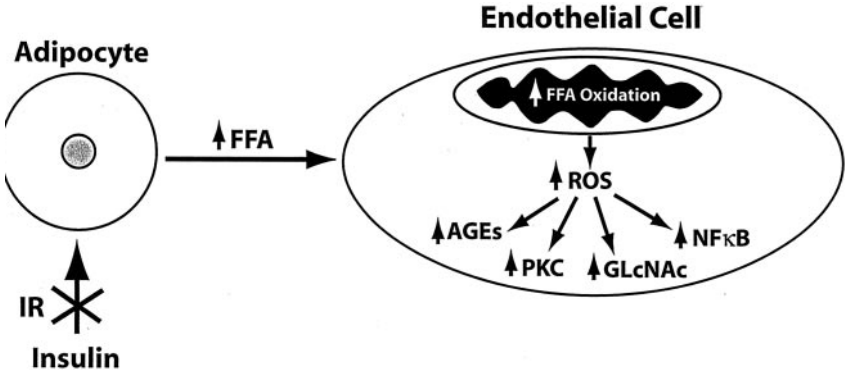

Abb.1: Insulinresistenz und deren Auswirkung auf Endothelzellen: Die Insulinresistenz verursacht durch ein vermehrtes Anfallen von FFS und deren Oxidation eine mitochondriale Überproduktion von ROS in Endothelzellen des makrovaskulären Systems. Aus Hofmann S, Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications: a unifying mechanism. In *Diabetes Mellitus: A Fundamentaland Clinical Text*. 3rd ed. LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, Eds. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, p. 1441–1457, 2004.
FFA = freie Fettsäuren, IR = Insulinresistenz, ROS = reaktive Sauerstoff Spezies, AGE = advanced glycation endproduct, PKC = Protein Kinase C, GlcNAc = N-acetyl-D-glucosamin, NF-κB = Nuclear Factor-Kappa B

Ein weiterer Mechanismus, der den engen Zusammenhang zwischen Hyperinsulinismus und erhöhtem abdominellem Fettgewebe darstellt, ist ein circulus vitiosus der diese beiden Komponenten beinhaltet (Wajchenberg et al. 1994). Eine genetische Prädisposition sowohl für erhöhtes VAT, als auch für eine gesteigerte Lipolyse stellt den Ausgangspunkt dar. Zugleich führt ein erhöhtes VAT zu einer gesteigerten Lipolyse, die wiederum ein Mehrangebot an freien Fettsäuren für die Leber nach sich zieht. Diese vermehrten FFS führen 1. zu vermehrtem Anfallen von VLDL, 2. zu erhöhter Insulinsekretion, 3. zu verminderter hepatischer Insulin Extraktion und 4. zu einer verminderten Sensitivität der Skelettmuskulatur gegenüber Insulin, was wiederum zu einem erhöhten Angebot an peripherer Glukose führt und zusammen mit der erhöhten Insulinsekretion und der verminderten hepatischen Extraktion zum peripheren Hyperinsulinismus führt. Dieser wirkt antilipolytisch und die Lipogenese wird gesteigert. Dadurch schließt sich der Kreis, indem das VAT erneut zunimmt (Wajchenberg 2000).

Somit kann angenommen werden, dass VAT eine wichtige Verknüpfung zwischen Insulinresistenz, metabolischem Syndrom und der Entstehung der Atherosklerose herstellt (Lee et al. 2007, Targher et al. 2008).

1.6 Fragestellung

Die Assoziation zwischen VAT und Insulinresistenz, sowie der Einfluss von VAT sezernierter Mediatoren auf die FMD, führt zu der Frage dieser Arbeit, ob die Reduktion des viszeralen Fettgewebes Einfluss auf die endotheliale Gefäßfunktion hat, und somit einen Stellenwert in der Primärprävention kardiovaskulärer Erkrankungen einnehmen könnte.
Wir untersuchten ein Kollektiv mit ausgeprägtem kardiovaskulärem Risikoprofil im Sinne eines erhöhten Diabetesrisikos. Die endotheliale Gefäßfunktion wird anhand der FMD und endothelialer Marker gemessen.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Insgesamt konnten wir 189 freiwillige Teilnehmer (120 Frauen und 69 Männer, Durchschnittsalter 45.4 ± 0.8 [SEM] Jahre) ohne Diabetes mellitus und ohne klinischen Nachweis einer kardiovaskulären Erkrankung über einen Beobachtungszeitraum von neun Monaten in unsere jetzige Analyse einbeziehen. Die Daten wurden zwischen 2005 und 2008 erhoben und analysiert. Alle Probanden nahmen am Tübinger Lebensstil Interventionsprogramm (TULIP) teil (Kantartzis et al. 2008, Stefan et al. 2005) und erfüllten einen oder mehrere Risikofaktoren für die Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2: Übergewicht (BMI>27 kg/m^2), ein Verwandter ersten Grades hat einen Typ 2 Diabetes oder es liegt bereits eine gestörte Glukosetoleranz vor. Nach neun Monaten wurde der Median in der Veränderung des viszeralen Fettgewebes berechnet (ΔVAT) und anhand dessen die Studienteilnehmer in zwei Gruppen eingeteilt: Nicht-Responder, deren VAT-Veränderung im unteren Median lag (n=94) und Probanden, deren VAT-Veränderung im oberen Median lag (n=95), die sogenannten Responder. Dieses Verfahren war notwendig, da eine Randomisierung der Probanden vor der Lebensstilintervention aus ethischen Gründen nicht möglich war. Die Basisdaten sowie die Beobachtungsdaten werden als Durchschnittswerte ± SEM dargestellt.

2.2 Lebensstilintervention

Die Probanden nahmen an einem kontrollierten Lebensstilinterventionsprogramm teil und wurden nach einem Beobachtungszeitraum von durchschnittlich neun Monaten erneut untersucht (Kantartzis et al. 2008, Stefan et al. 2005). Die Lebensstilintervention beinhaltete Diätempfehlungen in Anlehnung an die Diabetes Präventions

Studien (DPS)-Standards (Lindstrom et al. 2003). Die Teilnehmer wurden angehalten eine bestimmte Ernährungsempfehlung zu befolgen, die sich aus 55% komplexen Kohlenhydraten, 15% Proteinen und 30% Fett zusammensetzte. Die Beratung zielte ferner auf eine Reduktion des Körpergewichts von ≥ 5% ab. Danach sollten die Studienteilnehmer das Zielgewicht während der kompletten Studiendauer halten. Zudem zielte die Beratung auf eine Reduktion der Kalorienaufnahme aus Fett von < 30% ab und zeitgleich auf eine Erhöhung der Ballaststoffzufuhr von mindestens 15 g · 1000 $kcal^{-1}$. Des Weiteren wurden die Studienteilnehmer angewiesen ihre tägliche Zufuhr an gesättigten Fettsäuen ≤ 10% zu halten. Die tägliche Kalorienaufnahme wurde berechnet aus Normalgewicht x 32. Dabei war wichtig, dass nicht weniger als 1500 Kalorien (6280 kJ) zu sich genommen wurden, um hungern und damit verbundene Veränderungen des Metabolismus zu vermeiden. Die Teilnehmer mussten ein Ernährungstagebuch führen, welches als Grundlage für die monatliche Ernährungsberatung mit einem ausgebildeten Ökotrophologen diente.

Das körperliche Trainingsprogramm umfasste überwiegend Ausdauerübungen. Die Probanden konnten frei entscheiden welche Art von Ausdauersport sie betreiben wollten. Vorraussetzung war lediglich ein wöchentliches Trainingspensum von mindestens drei Stunden, nachdem das optimale Trainingsniveau jedes einzelnen Probanden festgestellt wurde. Dieses wurde mit Hilfe der individuellen anaeroben Schwelle (IAS) ermittelt, die durch die Laktatwerte während der Fahrradergometrie in der Abteilung für Sportmedizin des Universitätsklinikums Tübingen ermittelt wurde. Die Kalkulation der IAS wurde nach der Methode von Dickhuth (Dickhuth et al. 1991) durchgeführt. Die wöchentliche Trainingscompliance wurde mit einer Pulsuhr (Polar ®) registriert und kontrolliert, die die Probanden während des Sportprogramms tragen sollten.

2.3 Oraler Glukose Toleranz Test (OGTT)

Die Probanden bekamen nach einem nächtlichen Nüchternzeitraum von mindestens 10 Stunden um acht Uhr morgens 75 g standadisierte Glukoselösung zu trinken (300 ml Accu-Chek Dextrose O.G-T.). Der Insulin-Sensitivitäts-Index (ISI) wurde in Anlehnung an die Kriterien von Matsuda & DeFronzo [10.000 geteilt durch die Quadratwurzel von (Nüchternglukose x Nüchterninsulinwert) x (durchschnittlicher Glukosewert x durchschnittlicher Insulinwert)] berechnet (Matsuda und DeFronzo 1999).

$$ISI = \frac{10000}{\sqrt{(nGlc * nIns) * (mGlc * mIns)}}$$

Hierbei steht nGlc für den Nüchternglukosewert, nIns für den Nüchterninsulinwert, mGlc für die mittlere OGTT-Glukose-Konzentration und mIns für die mittlere OGTT-Insulin-Konzentration.

mGlc = Mittelwert (BZ_0, BZ_{30}, BZ_{60}, BZ_{90}, BZ_{120})
mIns = Mittelwert (Ins_0, Ins_{30}, Ins_{60}, Ins_{90}, Ins_{120})

2.4 Gefäßmessungen

Um die größtmögliche Verblindung in dieser Studie zu erreichen, wurden die Gefäßmessungen durch einen eingelernten Untersucher durchgeführt, der weder über die Ergebnisse der Voruntersuchungen noch über den metabolischen Status der Probanden in Kenntnis gesetzt war. Die Ultraschallmessungen wurde am frühen Morgen vor dem oralen Glukosetoleranztest (OGTT) und den Blutentnahmen zur Bestimmung der metabolischen Parameter vorgenommen.

Die intra-individuelle Variabilität nach zwei Trainingsperioden mit mindestens 30-50 Übungsmessungen, ausgedrückt als mittlere absolute Differenz der FMD (flow mediated dilation) und IMD (Intima-Media-Dicke) Messungen, beträgt bei dieser Methode weniger als 1%. Der Abweichungskoeffizient der Basaldurchmessermessung und ebenso der der post-ischämischen Durchmessermessungen und der IMD-Messung betrug < 0.5 (Balletshofer et al. 2001).

2.4.1 Flussassoziierte Dilatation (FMD = flow mediated dilation)

Vor und nach dem Lebensstilinterventionsprogramm wurde die FMD der Arteria brachialis nach den Kriterien von Celermajer et al. (Celermajer et al. 1992) gemessen. Diese Methode bedient sich der post-ischämischen Vasodilatation am Unterarm, welche zu einem vermehrten Fluss in der A. brachialis führt.
Bei dieser Methode wird durch Scherkräfte die Aktivität von eNOS gesteigert, was zu einer NO-Freisetzung führt und als Vasodilatation messbar wird. Da diese Dilatation mittels *N*-monomethyl-L-Arginin, einem Inhibitor der endothelialen NO-Synthase (Joannides et al. 1995), blockiert werden kann, zeigt, dass es sich um einen ausschließlich durch das Endothel vermittelten Effekt handelt.
Die FMD wurde mittels hochauflösendem Ultraschall (13-MHz; AU5 Idea, Fa. Esaote Biomedica®) mit integrierten EKG-Elektroden nach einer nächtlichen Nüchternzeit von mindestens 10 Stunden und einer ebenso langen Nikotinkarenz gemessen. Die axiale Auflösung der 13-MHz-Sonde beträgt 0,12 mm, bei einer Eindringtiefe von 1,0 - 4,5 cm. Der Durchmesser der A. brachialis wurde im Längsschnitt oberhalb des Ellbogengelenks EKG-synchronisiert (R-Zacke) im Standbild gemäß der „Leading edge Technik“ von Wendelhag et al. (Wendelhag et al. 1991) gemessen. Die dreischichtige Gefäßwand, bestehend aus Adventitia, Media und Intima, stellt sich sonographisch typisch, jedoch nicht anatomisch korrekt dar. Dies liegt ins Besondere an der aus einer einzigen Zellschicht bestehenden Intima. Die Adventitia wird als helle Zone (Echozone 1

= EZ 1, Echozone 7 = EZ 7), die Media als dunkle Zone (EZ 2, EZ 6) abgebildet. Die dünne einschichtige Intima verursacht ein Schallecho, das sich aber in schallkopfferne Richtung ausdehnt. Daher wird die Intima dicker als anatomisch korrekt abgebildet. Entsprechend projiziert sich die zu dick abgebildete, helle Schicht der schallkopfnahen Intima (EZ 3) ins Gefäßlumen, die der schallkopffernen Intima (EZ 5) in die Media. Die Messung des Gefäßdurchmessers erfolgt demnach von der Grenze EZ 2/3 bis zur Grenze EZ 4/5 (Abb.2, Balletshofer et al. 2003, Wendelhag et al. 1991).

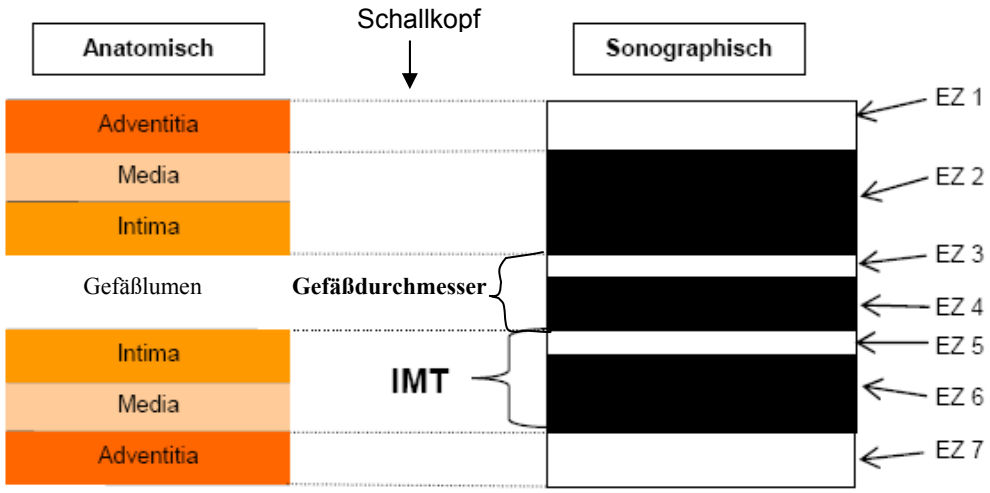

Abb.2: schematische Gegenüberstellung von anatomischer und sonographischer Morphologie der Gefäßwand. IMT = Intima-Media Dicke, EZ = Echozone.
Der Gefäßdurchmesser wird vom Übergang der EZ 2/EZ 3 bis zum Übergang der EZ 4/EZ 5 gemessen. Die IMT wird von EZ 4/ EZ 5 bis EZ 6/ EZ 7 gemessen.
Mit freundlicher Erlaubnis von PD. Dr. K. Rittig

Insgesamt wurde der Durchmesser dreimal jeweils am Ende der Diastole zeitgleich mit der R-Zacke des EKG Signals gemessen, wobei pro R-Zacke drei Messungen mittels elektronischer Markierungen erfasst wurden, sodass sich ein Mittelwert aus neun Messwerten errechnen lies.

Bevor die erste Basismessung begonnen wurde, mussten die Probanden für mindestens 10 Minuten in Ruhe liegen. Vor der Stauung am Unterarm mit einer Blutdruckmanschette wurde der Durchmesser der A. brachialis als Basisdurchmesser erfasst. Danach wird der Unterarm der Probanden für 5

Minuten mit einem suprasystolischen Manschettendruck komprimiert. Direkt nach Öffnen der Okklusion wird der post-ischämische Durchfluss gemessen. Der post-ischämische Diameter der A. brachialis wird 45 – 60 Sekunden nach Öffnen der Manschette gemessen, da nach dieser Zeit mit der stärksten NO-Wirkung zu rechnen ist.

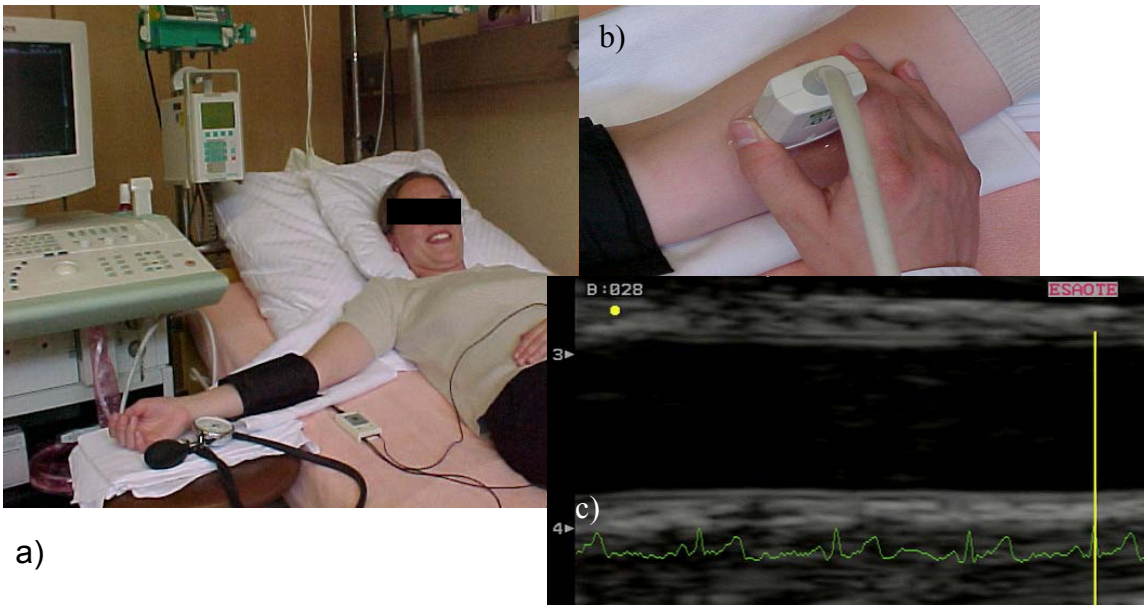

Abb. 3: Untersuchungssituation: a) Gefäßmessung der A. brachialis mit Stauung am Unterarm, EKG Elektroden; b) Messung mittels hochauflösendem Ultraschallkopf oberhalb der Ellenbeuge; C) Ultraschallbild der A. brachialis im Standbild am Ende der Diastole (R-Zacke). Mit freundlicher Erlaubnis von PD. Dr. K. Rittig

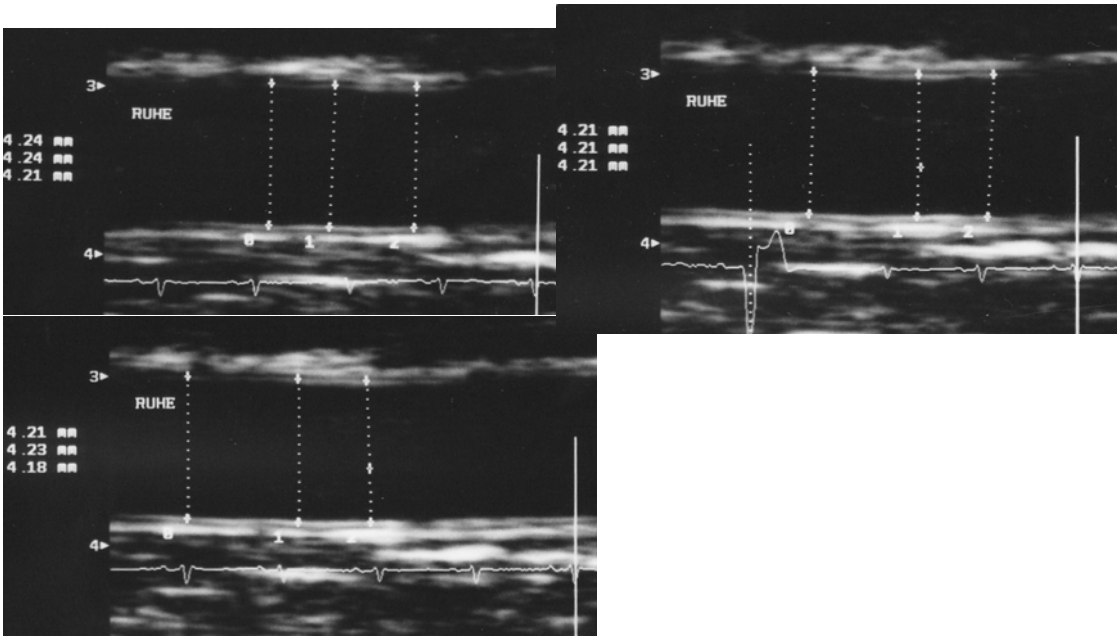

Abb. 4: Messung des Gefäßdurchmessers: Sonographische Darstellung der A. brachialis im Standbild. 3 Messungen pro R-Zacke mittels Leading-edge Methode: Der Gefäßdurchmesser wird vom Beginn des Ultraschallreflexes an der schallkopfnahen Gefäßwand (im Bild oben) bis zum Beginn des Ultraschallreflexes an der gegenüberliegenden Gefäßwand gemessen.

Um die endothelial unabhängige Dilatationsfähigkeit zu testen, wurden weitere Messungen vor und 4 Minuten nach der sublingualen Gabe eines direkten NO-Donators (0.4 mg Glyceroltrinitrat ([GTN] = 1 Hub) vorgenommen. Die Zeitspanne zwischen post-ischämischer und pre-GNT Messung musste mindestens 15 Minuten betragen, um eine Gefäßerholung zu ermöglichen. Im Standbild wurden erneut jeweils 3 x 3 Messungen EKG-synchronisiert am Ende der Diastole (R-Zacke des EKG Signals) durchgeführt und danach der Mittelwert aus den neun Messwerten berechnet.

2.4.2 Intima Media Dicke (IMD)

Die IMD wurde im Längsschnitt proximal der Bifurkation beider Aa. Carotides communis im B-Mode erfasst. Dafür fanden pro Seite jeweils drei Messungen an der schallkopffernen Arterienwand zwischen einem und zwei Zentimeter proximal der Karotisgabel statt. Eine genaue Grenze zwischen Intima und

Media ist aus den bereits beschriebenen physikalisch-sonographischen Gründen nicht sichtbar (s. Abb. 2). Gemäß der leading-edge-Technik wird die IMD demnach als Abstand von lumenseitigem Beginn des inneren Schallreflexes (EZ 5) bis zum lumenseitigen Beginn des äußeren Schallreflexes (EZ 7) bestimmt (Abb. 2, Wendelhag et al. 1991). Eine Messung an der schallkopfnahen Wand ist wegen den physikalischen Eigenheiten nur eingeschränkt möglich, da der Echoreflex der Adventitia in die Media im Utraschallbild hineinprojiziert wird. Roman et al. haben gezeigt, dass diese Messungen an der schallkopfnahen Wand eine höhere Variabilität aufweisen (Roman et al. 2006). Die Messungen erfolgten mit dem gleichen Ultraschallgerät wie die FMD-Messungen. Um von der Pulsphase abhängige Wanddickenunterschiede auszuschließen, erfolgt auch diese Messung EKG getriggert. Die IMD wird beidseitig gemäß dem heute geforderten Standard aus zwei verschiedenen Beschallungswinkeln gemessen, um einen möglichst zuverlässigen Messwert zu erhalten. Es wurden jeweils drei Messungen pro Winkel durchgeführt, woraus sich der Mittelwert aus sechs Messungen pro Halsseite errechnete. Die Mittelwerte jeder Seite wurden zu einem Gesamtmittelwert verrechnet, der für die weitere statistische Analyse verwendet wurde.

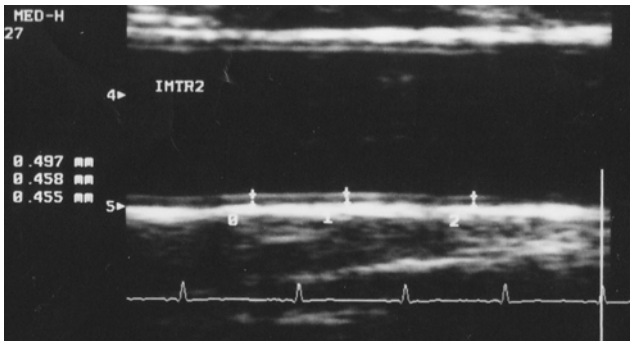

Abb. 5: Sonographische Darstellung der A. carotis communis zur Messung der Intima-Media-Dicke mittels Leadings-edge Methode. An der schallkopffernen Gefäßwand ist die typische Doppelkontur aus hellen und dunklen Schallechos erkennbar.

2.5 Körperfettverteilung - Magnetresonanztomographie

Das Gesamt- und das viszerale Fettgewebe wurden mit einer axial T1-gewichteten MR-Technik bei einer Feldstärke von 1,5 T mit einem Ganzkörpertomographen (Magnetom Sonata; Siemens Medical Solutions®) gemessen. Es wurden Echozeit TE 12 ms, Wiederholungszeit TR 490 ms, Schichtdicke 10 mm, 5 Schichten pro Sequenz und 10 mm Spalt zwischen den Schichten als Messparameter verwendet. Innerhalb von 12 Sekunden kann ein Gewebe von 256 x 178 mm aufgenommen werden, wodurch eine abdominelle Datenerfassung in Atemruhelage möglich ist. Die vollständige Reproduzierbarkeit der Messungen wurde an Probanden zuvor überprüft.
Die Körperspule dient hierbei als Receiver. Die Probanden liegen in Bauchlage, die Arme werden nach oben ausgestreckt. Zwischen den Messungen mussten die Probanden den Scanner vollständig verlassen und wurden anschließend neu positioniert. Um eine exakte Neupositionierung zu gewährleisten, wurden die Probanden zuvor am Beckenkamm markiert. Die Datenerhebungen erfolgten sequenziell am gleichen Tag. Die Menge des viszeralen Fettgewebes in cm² quantifiziert man unter Verwendung der Software des Tomographen (Machann et al. 2005). Die gesamten MRT Messungen wurden am frühen Morgen nach einer Nüchternzeit von mindestens 10 Stunden vorgenommen.

2.6 Labordiagnostik

Die Blutglukose wurde direkt am Patientenbett mit einem Glukosemessgerät bestimmt (Glukose-Oxidase Methode; YSI, Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, CO). Die Insulinkonzentration der Proben wurde maschinell mit dem Analysegeräts ADVIA Centaur R der Firma Bayer bestimmt (ADVIA Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Deutschland). Die Bestimmungen der zirkulierenden sI-CAM, sV-CAM und sE-selectin wurden mit standardisierten ELISA-Sets gemäß Herstellerangaben (Bender MedSystems ®), durchgeführt.

HsCRP wurde mit einer particle-enhanced immuno-turbidometrischen Methode mit einer Detektionsgrenze von 0.01 mg/dl gemsessen (ADVIA 1650-analyzer, Bayer ®).

2.7 Statistische Analyse

Die Werte werden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Wir benutzten den gepaarten t-Test um die statistische Signifikanz auf dem 0.05 Level der intraindividuellen Unterschiede zu bestimmen. Nach der Lebensstilintervention wurden die Studienteilnehmer dichotomisiert in zwei Gruppen eingeteilt, entsprechend dem Median der Veränderung des VAT: Nicht-Responder, deren VAT-Veränderung unterhalb des Median lag und Responder, deren VAT-Veränderung oberhalb des Median lag. Um Differenzen zwischen den beiden Gruppen zu Beginn herauszufiltern und eine Signifikanz zwischen Anfangs- und Folgeuntersuchung herauszufinden wurde der doppelseitige *t*-Test für normalverteilte Variablen und der Wilcoxon rank-sum Test für nicht normalverteilte Variablen angewendet. Unabhängige Untersuchungen zwischen Variablen wurden mittels multivarianter linearer Regressionsmodelle getestet. Alle Berechnungen erfolgten mit der Statistiksoftware JMP™, Ausgabe 7.0 (SAS Institute, Cary, NC).

3 Ergebnisse

3.1 Basisparameter beider Probandengruppen

Die Anthropometrischen Daten, die Laborergebnisse und die vaskulären Parameter der Studienteilnehmer zu Beginn der Untersuchung werden in Tabelle 1 und 2 dargestellt.

(n=189; w/m=120/69)		**Mean ± SEM**	**Range**
Alter	(Jahre)	45.4 ± 0.8	19 - 68
RR_{sys}	(mmHg)	127 ± 1	80 - 185
RR_{dia}	(mmHg)	79 ± 1	45 - 110
Derzeitige Raucher	(a/n)	20/164 (keine Angaben von 5 Probanden)	-
Gewicht	(kg)	85.1 ± 1.1	52.5 – 144.7
BMI	(kg/m²)	29.1 ± 0.3	19.4 – 43.5
Gesamtfettgewebe	(kg)	29.1 ± 0.7	7.1 – 63.1
Viszerales Fettgewebe	(kg)	2,8 ±0.1	4 – 9.3
Nüchternglukose	(mmol)	5.2 ± 0.04	4.5 – 11.06
2h-Wert Glukose	(mmol)	6.8 ± 0.1	0.3 – 3.1
Triglyzeride	(mmol/l)	1.3 ± 0.04	2.5 – 7.7
Gesamtcholesterin	(mmol/l)	5.0 ± 0.06	0.7 – 2.4
HDL-Cholesterin	(mmol/l)	1.4 ± 0.02	1.0 – 5.1
LDL-Cholesterin	(mmol/l)	3.2 ± 0.05	1.0 – 5.1

Tabelle 1: Anthropometrische Daten und laborchemische Ergebnisse der Studienteilnehmer zu Beginn der Untersuchung

(n=189; w/m=120/69)	Mean ± SEM	Range
Basaler Durchmesser der A. brachialis (mm)	3.7 ± 0.05	2.0 – 5.4
FMD (%)	6.6 ± 0.3	0.0 – 18.2
GTN-Dilation (%)	19.3 ± 0.5	3.4 – 42.2
Intima-Media-Dicke (mm)	0.56 ± 0.01	0.28 – 0.98
hsCRP (mg/l)	0.17 ± 0.01	0.01 – 1.00
V-CAM (U/ml)	540 ± 19	3 – 2098
I-CAM (U/ml)	309 ± 11	93 – 1432
E-Selectin (ng/ml)	52 ± 2	3 – 162

Tabelle 2: Gefäßparameter der Studienteilnehmer zu Beginn der Untersuchung

Die Responder und die Nicht-Responder differierten weder im Alter noch im Geschlecht (Tabelle 4). Zu Beginn der Untersuchung war im klassischen Risikoprofil kardiovaskulärer Erkrankungen zwischen den Gruppen kein signifikanter Unterschied festzustellen. Somit waren unter anderem Blutdruckwerte und Rauchgewohnheiten vergleichbar. Der basale Body-Mass-Index (BMI) war in der Responder Gruppe etwas höher (p=0.04). Ebenso waren VAT und auch TAT in der Responder Gruppe höher (p=0.0004 und p=0.03). Keine signifikanten Unterschiede konnten hingegen im Lipidstatus festgestellt werden, mit Ausnahme eines moderat höheren Plasmaspiegel an Triglyzeriden bei den Respondern. Betrachtet man den Glukosemetabolismus, hatten die Nicht-Responder zu Beginn niedrigere Nüchternglukosewerte verglichen mit der Responder Gruppe. Betrachtet man den subklinischen Inflammationsstatus konnte kein Unterschied zwischen beiden Gruppen im hsCRP Serumspiegel identifiziert werden (Tabelle 3). Des Weiteren waren auch die zirkulierenden Adhäsionsmoleküle (sV-CAM und sI-CAM) vergleichbar. sE-Selectin war bei der Responder Gruppe leicht erhöht (p=0.02). Auch die funktionellen und morphologischen vaskulären Parameter, messbar durch FMD und IMD, waren in der Ausgangsuntersuchung bei beiden Gruppen vergleichbar.

		Nicht Responder (n=94 ; f/m=66/28)			Responder (n=95 ; f/m=54/41)			Ausgangsdaten beider Gruppen
		Beginn	Verlauf		Beginn	Verlauf		
		mean ± SEM	mean ± SEM	P_1	mean ± SEM	mean ± SEM	P_2	p_3
Basaler Durchmesser	(mm)	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.1	0.32	3.8 ± 0.07	3.8 ± 0.07	0.25	0.07
FMD	(%)	7.1 ± 0.4	6.4 ± 0.4	0.15	6.2 ± 0.4	8.0 ± 0.5	0.0005	0.10
GTN-Dilation	(%)	20.0 ± 0.8	18.5 ± 1.0	0.48	18.7 ± 0.7	19.1 ± 0.7	0.44	0.19
Intima-Media-Dicke	(mm)	0.55 ± 0.01	0.54 ± 0.01	0.27	0.56 ± 0.01	0.55 ± 0.01	0.13	0.51
HsCRP	(mg/l)	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.31	0.16 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.0001	0.44
V-CAM	(U/ml)	561 ± 29	566 ± 3	0.91	566 ± 27	522 ± 27	0.24	0.78
I-CAM	(U/ml)	319 ± 17	335 ± 16	0.02	290 ± 16	300 ± 12	0.33	0.37
E-Selectin	(ng/ml)	45 ± 3	48 ± 4	0.58	54 ± 4	47 ± 3	0.03	0.02

Tabelle 3: Gefäßparameter beider Gruppen zu Beginn und im weiteren Verlauf
p1 zeigt das Signifikanzlevel der Nicht Responder Ausgangsdaten vs. Daten im weiteren Verlauf
p2 zeigt das Signifikanzlevel der Responder Ausgangsdaten vs. Daten im weiteren Verlauf
p3 zeigt das Signifikanzlevel der Ausgangsdaten von Nicht Responder vs. Responder

		Nicht Responder (n=94; w/m=66/28)			Responder (n=95; w/m=54/41)			Ausgangsdaten beider Gruppen
		Beginn	Verlauf		Beginn	Verlauf		
		mean ± SEM	mean ± SEM	p_1	mean ± SEM	mean ± SEM	p_2	p_3
Alter	(Jahre)	44.1 ± 1.2	-	-	46.6 ± 1.1	-	-	0.13
RR_{sys}	(mmHg)	127 ± 2	122 ± 2	0.007	128 ± 2	122 ± 1	0.0007	0.57
RR_{dia}	(mmHg)	78 ± 1	75 ± 1	0.005	79 ± 1	76 ± 1	0.001	0.60
Derzeitige Raucher	(a/n)	11/81 (keine Information von 2 Probanden)			9/83 (keine Information von 3 Probanden)			0.81
Gewicht	(kg)	82.4 ± 1.6	81.4 ± 1.6	0.005	87.7 ± 1.6	83.8 ± 1.5	<0.0001	0.02
BMI	(kg/m²)	28.4 ± 0.5	28.0 ± 0.5	0.006	29.7 ± 0.4	28.4 ± 0.4	<0.0001	0.04
Gesamtfettgewebe	(kg)	27.5 ± 1.0	27.2 ± 0.9	0.35	30.7 ± 1.0	26.6 ± 1.0	<0.0001	0.03
Viszerales Fettgewebe	(kg)	2.4 ± 0.2	2.42 ± 0.2	0.04	3.2 ± 0.2	2.4 ± 0.1	<0.0001	0.0004
Nüchternglukose	(mmol)	5.1 ± 0.05	5.2 ± 0.06	0.67	5.3 ± 0.05	5.2 ± 0.05	<0.0001	0.02
2h-Wert Glukose	(mmol)	6.8 ± 0.2	6.9 ± 0.2	0.61	6.8 ± 0.1	6.4 ± 0.2	0.01	0.99
Triglyzeride	(mmol/l)	1.2 ± 0.05	1.2 ± 0.06	0.33	1.4 ± 0.07	1.2 ± 0.06	0.04	0.02
Gesamtcholesterin	(mmol/l)	4.9 ± 0.09	5.0 ± 0.1	0.35	5.1 ± 0.1	4.9 ± 0.1	0.0009	0.16
HDL-Cholesterin	(mmol/l)	1.4 ± 0.04	1.4 ± 0.04	0.44	1.4 ± 0.03	1.4 ± 0.04	0.55	0.40
LDL-Cholesterin	(mmol/l)	3.1 ± 0.07	3.1 ± 0.08	0.89	3.2 ± 0.08	3.0 ± 0.09	<0.0001	0.12

Tabelle 4: Anthropometrische Daten und laborchemische Ergebnisse beider Gruppen zu Beginn und im weiteren Verlauf.
p1 zeigt das Signifikanzlevel der Nicht Responder Ausgangsdaten vs. Daten im weiteren Verlauf
p2 zeigt das Signifikanzlevel der Responder Ausgangsdaten vs. Daten im weiteren Verlauf
p3 zeigt das Signifikanzlevel der Ausgangsdaten von Nicht Responder vs. Responder

3.2 Effekt der Lebensstilintervention auf das kardiovaskuläre Risikoprofil, die Körperfettverteilung sowie die Gefäßparameter

Alle Teilnehmer zeigten während der Zeit der Lebensstilintervention eine signifikante Abnahme des Körpergewichts (85.1 kg ± 1.1 zu 82.6 kg ± 1.1; $p<0.0001$). Ebenfalls reduzierte sich das TAT (29.1 kg ± 0.7 auf 26.9 kg ± 0.7; $p<0.0001$) und das VAT (2.8 kg ± 0.13 auf 2.4 kg ± 0.12; $p<0.0001$). Dennoch konnte keine signifikante Änderung des vaskulären Parameters FMD (6.6 ± 0.3 zu 7.2 ± 0.3 %; p = n.s.) festgestellt werden.

Bei der Betrachtung von intraindividuellen Veränderungen der Fettkompartimente verglichen mit dem vaskulären Parameter FMD konnte weder eine signifikante Korrelation zwischen Δ FMD und Δ Körpergewicht noch zwischen Δ FMD und Δ TAT festgestellt werden (Abb. 1 Abschnitt a und b). Allerdings zeigte sich eine negative Korrelation zwischen Δ VAT und Δ FMD ($r = - 0.19$; $p = 0.009$) (Abb. 6, Abschnitt c). Um den potentiellen Einfluss von Störgrößen durch Variablen, die zu Beginn zwischen den Gruppen unterschiedlich waren, herauszufinden, führten wir eine multivariante Analyse mit den in Frage kommenden Variablen Nüchternglukose, BMI, VAT, TAT und Triglyzeride durch. Auch in dieser Analyse blieb das Signifikanzlevel der Korrelation zwischen Δ VAT und Δ FMD unverändert ($p = 0.01$). In einem schrittweisen Regressionsmodell erreichte nur der Einfluss von Δ VAT auf Δ FMD Signifikanz ($p = 0.008$).

Abb. a

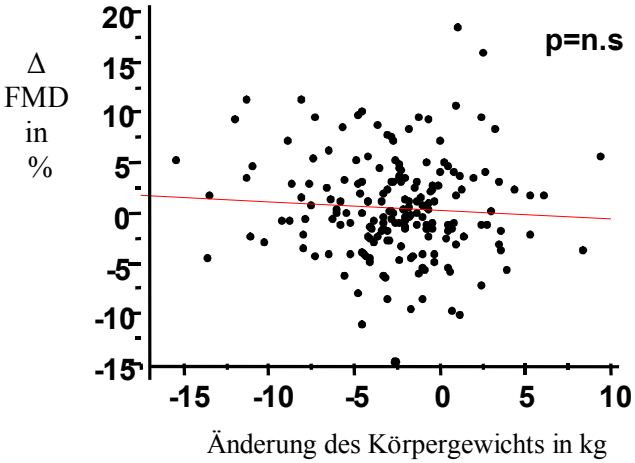

Abb. b

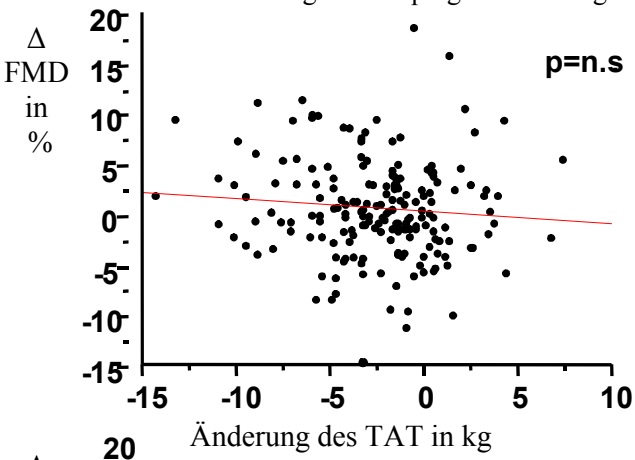

Abb. c

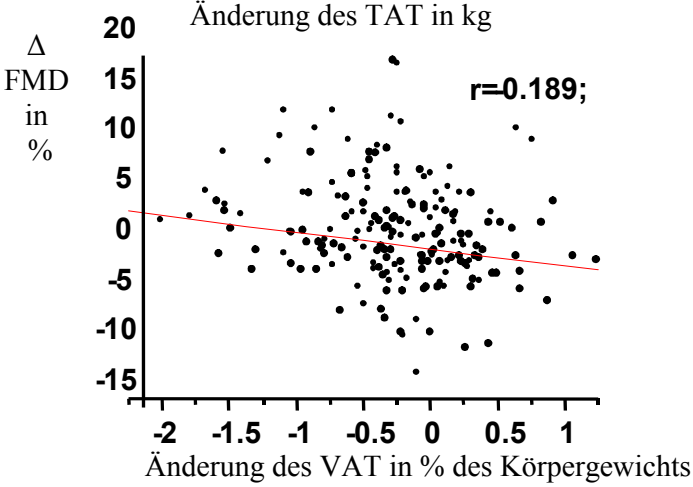

Abb. 6: Intraindividualle Korrelation zwischen der Veränderung der Flussmediierten Dilatation der A. brachialis (Δ FMD %) und des Körpergewichts (Abb. a) des Gesamtfettgewebes [TAT] (Abb. b) und des viszeralen Fettgewebes [VAT] (Abb. C)

Um diese Beziehung genauer zu untersuchen, teilten wir die Gruppe der Studienteilnehmer entsprechend dem Median der Veränderung des viszeralen Fettgewebes in Responder und Nicht-Responder. Als Interventionserfolg wurde dabei der Bereich oberhalb des Median der VAT-Veränderung definiert. Demzufolge reduzierte sich das viszerale Fettgewebe (VAT) der Responder Gruppe signifikant von 3.2 kg $\pm$ 0.2 auf 2.4 kg $\pm$ 0.1 ($p<0.0001$), das VAT der Nicht-Responder Gruppe blieb jedoch unverändert ($p = 0.04$). Dabei kam es zudem zu einer signifikanten Reduktion des BMI und des Gesamtkörperfetts (TAT) bei den Respondern (Tabelle 4). Neben einer Reduktion des VAT in der Responder Gruppe wurde zudem eine signifikante Verbesserung der FMD von 29.0% (von 6.2 ± 0.4 % auf 8.0 ± 0.5 %; $p = 0.0005$) festgestellt, wobei bei den Nicht-Respondern keine signifikante Veränderung sichtbar war (von 7.08 ± 0.41 % auf 6.41 ± 0.42 %; $p = 0.15$) (Abb. 7). Außerdem reduzierten sich die Serumspiegel von sE-Selectin, einem Endothelzellen spezifischem Adhäsionsmolekül, in der Responder Gruppe signifikant ($p = 0.03$), blieb jedoch unverändert bei den Nicht Respondern.

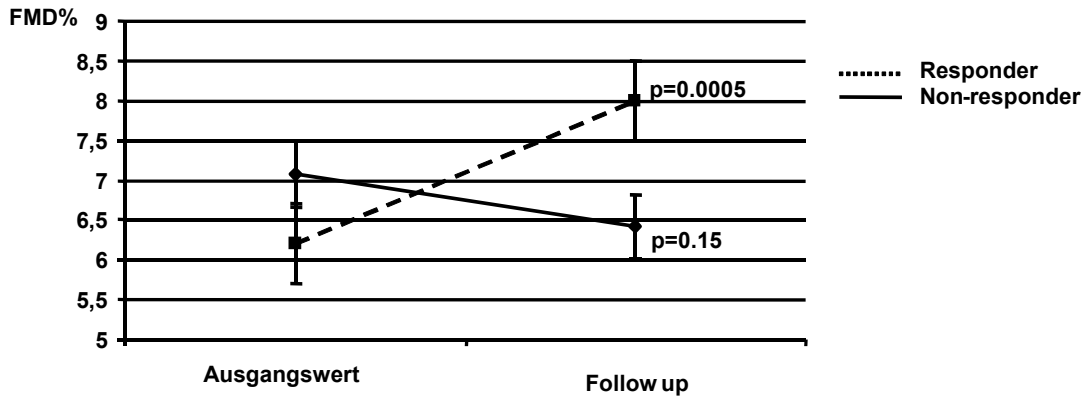

Abb. 7 Verlauf der Flussmediierten Dilatation der A. brachialis (FMD %) bei der Responder und Non-Responder Gruppe (mean ± SEM)
Aus Rittig et al. (2010): Reducing visceral adipose tissue mass is essential for improving endothelial function in type 2 diabetes prone individuals.Atherosclerosis 212(2):575-9

4 Diskussion

Es ist seit längerem in Diskussion, ob Adipositas per se als Risikofaktor für die Atherosklerose anzusehen ist. Neue Studien zeigen jedoch, dass die verschiedenen Fettkompartimente nicht gleichermaßen negativen Einfluss auf die Entwicklung des metabolischen Syndroms und den damit verbundenen Folgeerkrankungen nehmen (Stefan et al. 2008b).
Es konnte gezeigt werden, dass unabhängig von anderen Risikofaktoren, die Zunahme des viszeralen Fettgewebes mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergeht. Zudem wurde in Studien ein Zusammenhang zwischen viszeralem Fettgewebe und Biomarkern für die endotheliale Dysfunktion belegt (Despres und Lemieux 2006). Ausgehend von diesen Ergebnissen untersuchten wir den Effekt einer durch Lebensstilintervention erreichten Reduktion des viszeralen Fettgewebes auf die endotheliale Funktion. Es wurden 189 Teilnehmer der TULIP-Studie untersucht, die ein vollständiges vaskuläres und metabolisches Screening sowie eine Ganzkörperfettmessung mittels MRT erhalten haben. Innerhalb von neun Monaten durchliefen die Probanden eine strukturierte Lebensstilintervention aus körperlichem Training vom Ausdauertyp (mindestens 30 Minuten täglich), sowie eine Ernährungsumstellung nach den DPS-Kriterien (Lindstrom et al. 2003). Dann erfolgte eine Nachuntersuchung.

4.1 Effekte der Lebensstilintervention auf das viszerale Fettgewebe und die Gefäßfunktion:

Mit der vorliegenden Arbeit konnten wir zeigen, dass die Reduktion des *viszeralen* Fettgewebes (VAT), jedoch nicht des *Gesamt*körperfettes (TAT), während der Lebensstilintervention bei Personen mit einem erhöhten Risiko einen Diabetes mellitus Typ 2 zu entwickeln mit einer verbesserten Gefäßfunktion einhergeht. Die Reduktion des VAT wurde von der Verbesserung einiger anderer Risikofaktoren begleitet, die potentiell vaskuläre Parameter

beeinflussen können. Um die Auswirkung der Parameter zu testen, die sich nur bei der Responder Gruppe verbesserten, dichotomisierten wir die Studienteilnehmer entsprechend dem Median der Veränderung dieser Parameter: TAT, Triglyzeride, Gesamt- und LDL-Cholesterin, Nüchternglukose und 2h-Wert der Glukose, sowie hsCRP. Bei der Analyse zeigte die Verbesserung dieser Parameter alleine keine Korrelation zur Verbesserung der FMD (Daten nicht dargestellt), was wiederum darauf hinweist, dass die Abnahme des VAT tatsächlich für den positiven Effekt auf die kardiovaskulären Parameter verantwortlich sein dürfte. Da sich der systolische und der diastolische Blutdruck in beiden Gruppen verbesserten, ist dieser sehr wahrscheinlich nicht der entscheidende Faktor bei der Verbesserung der FMD in der Responder Gruppe.

Unsere Ergebnisse sind damit mit Vorstudien in Einklang zu bringen, die zeigten, dass eine mit diätetischen Maßnahmen oder durch körperliches Training erreichte alleinige globale Gewichtsreduktion keinen begleitenden vorteilhaften Effekt auf die Gefäßfunktion erbringt (Clifton et al. 2005, Keogh et al. 2007, Skilton et al. 2008, Wycherley et al. 2008). Andere Studien konnten zwar den positiven Effekt einer effektiven Lebensstilintervention auf die Gefäßfunktion und damit auf das kardiovaskuläre Risikoprofil zeigen (Balkestein et al. 1999, Hamdy et al. 2003), jedoch konnte der Mechanismus nicht geklärt werden. Eine Messung der verschiedenen Fettkompartimente im Verlauf erfolgte in den vorherigen Studien bisher nicht.

Der alleinige Erfolg einer Gewichtsreduktion wurde in einer Studie, die Frauen mit anamnestisch bekanntem Gestationsdiabetes einschloss, untersucht. Die Probandinnen nahmen entweder an einer rein diätetischen Intervention teil, oder erhielten zusätzlich eine medikamentöse Therapie mit Orlistat (Bergholm et. al 2003). Der erreichte Gewichtsverlust war in beiden Gruppen sehr ähnlich (~8%), jedoch nur die Orlistat Gruppe, in der eine moderate Reduktion des LDL-Cholesterins beobachtet werden konnte, zeigte eine Verbesserung der FMD. Daraus folgerten die Autoren, dass eine Verbesserung der FMD auf die Reduktion des LDL-Blutspiegels zurückzuführen ist. Wir können mit unserer jetzigen Studie diese Schlussfolgerung nicht in vollem Umfang bestätigen, da in

der multivariaten Auswertung unserer Studiendaten kein statistisch signifikanter Zusammenhang gefunden werden konnte.
In der Studie von Romero-Corall et al. aus dem Jahre 2010 sollten 35 Probanden zuerst 4 kg zunehmen und danach wieder abnehmen. Dabei zeigte sich, dass sich analog zur Gewichtszu- und Abnahme die FMD verschlechterte und dann wieder verbesserte. Auch hier korrelierte die Veränderung der Endothelfunktion eng mit der Zu- und Abnahme des VAT, nicht aber mit anderen Fettkompartimenten (Romero-Corral et al. 2010).
Ein weiteres nennenswertes Ergebnis unserer Studie ist, dass die Gewichtsreduktion der Responder von 4.5% und des TAT von 13.4% von einer Reduktion des VAT von mehr als 22% bei den Studienteilnehmern begleitet wurde. Diese Feststellung ist von praktischer klinischer Relevanz, da adipöse Patienten, die sich einem Lebensstilinterventionsprogramm unterziehen, häufig an Motivation verlieren, wenn der erreichte Gewichtsverlust nicht zufriedenstellend ist. Dabei ist es sehr wichtig den Patienten darüber zu informieren, dass die Veränderung mit einer viel größeren Reduktion des metabolisch aktiven viszeralen Fettgewebes einhergeht und somit einen gesundheitlichen Vorteil erbringt, auch wenn dies subjektiv nicht direkt wahrgenommen wird.

4.2 Einfluss des VAT auf Entzündungsparameter

Da das Fettgewebe eine potente Quelle für proinflammatorische Zytokinexpression und Sekretion darstellt, könnte die Abnahme des VAT zu einer Verminderung der entzündlichen Prozesse an der Gefäßwand führen, was wiederum in einer signifikant anhaltenden Verminderung des hsCRP Spiegels in der Responder Gruppe sichtbar wird. Zusätzlich deutet auch die beobachtete Abnahme des sE-selectin auf einen direkt positiven Effekt auf das Endothel hin, da dieses im Vergleich zu sI-CAM und sV-CAM ausschließlich in endothelialen Zellen exprimiert wird und somit einen spezifischen Marker der endothelialen Zellaktivierung darstellt.

4.3 Fazit

Unsere Daten zeigen, dass eine Reduktion des viszeralen Fettgewebes (VAT) durch Veränderungen des Lebensstils zu einer Verbesserung der endothelialen Gefäßfunktion (gemessen anhand der FMD) sowie zu einer Reduktion des Grades subklinischer systemischer Inflammation (hsCRP) führt. Dieser Effekt war bereits nach einem relativ kurzen Zeitraum von nur 9 Monaten nachweisbar und unabhängig vom Gesamtgewichtsverlust. Die Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass VAT eine wichtige Rolle in der frühen funktionellen Veränderung der Gefäße und damit im Prozess der Atherosklerose/ Endotheldysfunktion spielt. Durch den prospektiven, interventionellen Ansatz unserer Studie erhärtet sich damit die Hypothese, dass durch eine Reduktion stoffwechselaktiver Fettkompartimente eine Verbesserung des kardiovaskulären Risikos aller Wahrscheinlichkeit nach zu erreichen ist. Mechanistisch könnten hier vor allem Faktoren einer systemischen Inflammation - ausgehend vom viszeralen Fettgewebe - eine entsprechende Rolle spielen.

5 Zusammenfassung

Adipositas stellt aufgrund seiner zahlreichen assoziierten Stoffwechselstörungen (Insulinresistenz, Hyperglykämie, Hypertriglyceridämie, Dyslipoproteinämie, arterielle Hypertonie, Hyperurikämie u.a.) einen anerkannten Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen dar. Allerdings hat sich in den letzten Jahren zunehmend gezeigt, dass das Körpergewicht allein, selbst bereinigt um die Körpergröße (über den sog. Body-Mass-Index –BMI), keine zuverlässige prädiktive Aussagekraft für die vaskuläre Herz-Kreislauf-Morbidität aufweist. Vor diesem Hintergrund haben sich Körperfettverteilung und insbesondere die Bedeutung des viszeralen Fettkompartiments als potentiell bedeutsam herausgestellt. Bisherige Untersuchungen postulieren ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei bauchbetonter Adipositas gegenüber einer Vermehrung des subkutanen Fettgewebes evtl. über eine vermehrte Expression und Sekretion proinflammatorischer Zytokine im viszeralen Fettgewebe. Ausgehend von dieser Hypothese führten wir eine prospektive Interventionsstudie durch, um zu belegen, dass sich im Rahmen einer Reduktion der viszeralen Fettmenge eine Verbesserung der Endothelfunktion - als früher Atherosklerosemarker - sowie eine Verbesserung des systemischen Inflammationstatus ergibt.

Untersucht wurden 189 Personen (45,5 ± 0,8 Jahre) Personen mit Übergewicht, pathologischer Glukosetoleranz oder einer positiven Familienanamnese auf Typ-2 Diabetes. Die periphere Gefäßfunktion wurde mit hochauflösendem Ultraschall (13 MHz) als flussmediierte Dilatation (FMD) der Arteria brachialis bestimmt. Als weitere Endothelmarker wurden die Adhäsionsmoleküle sE-Selectin, sV-CAM und sI-CAM mittels ELISA-Technik bestimmt. Die Körperfettverteilung wurde mittels Ganzkörper-Magnetresonanztomographie erfasst.

Wir erreichten im Rahmen der Studienintervention eine mittlere Abnahme des Körpergewichts um 3%, eine Abnahme der Ganzkörperfettmenge (TAT) um 7.6%, sowie eine Reduktion des VAT um 4.3%. Erhärtend für die Ausgangshypothese war *keine* Korrelation zwischen der verbesserten

peripheren Gefäßfunktion und der Abnahme des Körpergewichtes per se (p=0.35) oder der Gesamtkörperfettmasse (p=0.21) festzustellen, jedoch zwischen der FMD und der viszeralen Fettgewebsmasse (r=-0.189, p=0.009). Davon ausgehend wurde eine Responder- und eine Nicht-Responder-Gruppe anhand des Medians der erzielten Abnahme des viszeralen Fettgewebes gebildet. Dabei zeigte sich, dass sich die FMD nur bei den Respondern verbesserte (von 6.2 ± 0.4% auf 8.0 ± 0.5%; p=0.0005) nicht jedoch bei den Nicht-Respondern (p=0.15). Auch sE-Selectin sank signifikant ausschließlich bei den Respondern (von 54 ± 4 ng/ml bis 47 ± 3 ng/ml; p=0.03).

Unsere prospektiven Studiendaten belegen, dass durch eine Lebensstilintervention bei Personen mit Übergewicht bzw. erhöhtem Risiko eines Diabetes mellitus Typ 2 nicht der Körpergewichtsverlust an sich bzw. die Abnahme des Gesamtkörperfettes, sondern primär die Reduktion der viszeralen („Bauch“)-Fettmenge mit einer verbesserten Endothel- / Gefäßfunktion korreliert. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass Maßnahmen zur Reduktion des viszeralen Fettgewebes mit im Fokus weiterer Forschungsaktivitäten zur verbesserten Primärprävention kardiovaskulärer Erkrankungen stehen sollten.

6 Literaturverzeichnis

1. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A (1996): Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for maior coronary events in middle-aged men. Am JCardiol 77: 1179-1184

2. Auberger P, Falquerho L, Contreres JO, Pages G, Le Cam G, et al. (1989) : Characterization of a natural inhibitor of the insulin receptor tyrosine kinase: cDNA cloning, purification, and anti-mitogenic activity. *Cell.* 58:631–640

3. Balkestein EJ, Aggel-Leijssen DP, van Baak MA, Struijker-Boudier HA, Van Bortel LM (1999): The effect of weight loss with or without exercise training on large artery compliance in healthy obese men. J Hypertens. 17:1831-1835

4. Balletshofer BM, Rittig K, Enderle MD, Volk A, Maerker E, Jacob S, Matthaei S, Rett K, Haring HU (2000): Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation* 101:1780-1784

5. Balletshofer BM, Goebbel S, Rittig K, Lehn-Stefan A, Renn W, Enderle MD, Dietz K, Haering HU (2001): Influence of experience on intra- and interindividual variability in assessing peripheral endothelial dysfunction by measurement of flow associated vasodilation with high resolution ultrasound. *Ultraschall Med.* 22:1-5

6. Balletshofer, B., Rittig, K., Stock, J., Haring, H.-U. (2003): Indikatoren einer beginnenden Atherosklerose: Erfassung der endothelialen Dysfunction mittels hochauflosendem Ultraschall. Ultraschall in Medizin 24:153-161

7. Balletshofer BM, Haap M, Rittig K, Stock J, Lehn-Stefan A, Häring HU. (2005): Early carotid atherosclerosis in overweight non-diabetic individuals is associated with subclinical chronic inflammation independent of underlying insulin resistance. Horm Metab Res. 37(5):331-5

8. Bergholm R, Tiikkainen M, Vehkavaara S, Tamminen M, Teramo K, Rissanen A, Yki-Jarvinen H (2003): Lowering of LDL cholesterol rather than moderate weight loss improves endothelium-dependent vasodilatation in obese women with previous gestational diabetes *Diabetes Care* 26:1667-1672

9. Bijnen FC, Caspersen CJ, Feskens EJ, Saris WH, Mosterd WL, Kromhout D(1998): Physical activity and 10-year mortality from

cardiovascular diseases and all causes: The Zutphen Elderly Study *Arch.Intern.Med* 158:1499-1505

10. Borghouts LB, Keizer HA.(2000): Exercise and insulin sensitivity: a review. Int J Sports Med. 21(1):1–12.

11. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE: Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction (1997): the Rotterdam Study. *Circulation* 96:1432-1437

12. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications (2005): a unifying mechanism. *Diabetes.* 54:1615–25

13. Büttner R., Thomas C., 2003, Allgemeine Pathologie, S.225, Prof. Dr. C. Thomas, Allgemeine Pathologie, Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany

14. Caballero AE, Arora S, Saouaf R, Lim SC, Smakowski P, Park JY, King GL, LoGerfo FW, Horton ES, Veves A (1999): Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes* 48:1856-1862

15. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE (1992): Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 340:1111-1115

16. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, et al.(1994): Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interactions. *J Am Coll Cardiol*. 24:1468–1474

17. Clifton PM, Keogh JB, Foster PR, Noakes M. (2005): Effect of weight loss on inflammatory and endothelial markers and FMD using two low-fat diets. *Int J Obes (Lond)* 29:1445–1451.

18. Davignon J., Ganz P. (2004): Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. Circulation 109:III-27–III-32

19. Despres JP, Lemieux I (2006): Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 444:881-887

20. Diabetes Care (2003): Peripheral arterial disease in people with diabetes. Diabetes Care 26:3333-41

21. Dickhuth H.-H., Huonker M., Munzel T., Drexler H., Berg A., Keul J. (1991): Individual anaerobic threshold for evaluation of competitive athletes and patients with left ventricular dysfunctions. In: Bachl., Graham T.E., Lollgen H. (Hrsg.): Advances in ergometry. Springer. Berlin, Heidelberg, New York 1: 173-179

22. Diehm C, Schuster A, Allenberg H et al. (2004): High prevalence of peripheral arterial disease and comorbidity in 6,880 primary care patients: cross sectional study. Atherosclerosis 172: 95–105

23. Fan J, Watanabe T. (2003): Inflammatory reactions in the pathogenesis of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.*10:63-71

24. Fowkes FG, Housley E, Riemersma RA, et al. (1992): Smoking, lipids, glucose intolerance, and blood pressure as risk factors for peripheral atherosclerosis compared with ischemic heart disease in the Edinburgh Artery Study. Am J Epidemiol. 135(4):331–340

25. Fritz T, Kramer DK, Karlsson HK, Galuska D, Engfeldt P, Zierath JR, Krook A (2006): Low-intensity exercise increases skeletal muscle protein expression of PPARdelta and UCP3 in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab Res Rev 22* :*492*–498

26. Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ES, Kastelein JJ, Duriez P. (2004): New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation*. 109:III-15–III-19

27. GEDA 2010: Robert Koch-Institut (Hrsg) (2012) Daten und Fakten: Ergebnisse der Studie »Gesundheit in Deutschland aktuell 2010«. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. RKI, Berlin, Daten und Fakten: "Gesundheit in Deutschland aktuell 2010" - Kapitel 6.9 Diabetes mellitus S. 89-93

28. Hakim AA, Petrovitch H, Burchfiel CM, Ross GW, Rodriguez BL, White LR, Yano K, Curb JD, Abbott RD (1998): Effects of walking on mortality among nonsmoking retired men *N.Engl.J Med* 338:94-99

29. Halcox JPJ, Schenk WH, Zalos G, et al. (2002): Prognostic value of coronary vascular endothelial function. *Circulation* 106:653–658

30. Hamdy O, Ledbury S, Mullooly C, Jarema C, Porter S, Ovalle K, Moussa A, Caselli A, Caballero AE, Economides PA, Veves A, Horton ES (2003): Lifestyle modification improves endothelial function in obese subjects with the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 26:2119-2125

31. Hansson GK. (2005): Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 352:1685–1695

32. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. (2001): Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. Circulation. 104:2673-8

33. Hennige: Hennige AM, Staiger H, Wicke C, Machicao F, Fritsche A, et al. (2008): Fetuin-A induces cytokine expression and suppresses adiponectin production. *PLoS ONE.* 3:e1765

34. Hutcheson IR, Griffith TM. (1991): Release of endothelium-derived relaxing factor is modulated both by frequency and amplitude of pulsatile flow. *Am J Physiol*. 261:H257–H262

35. Inoguchi T, Li P, Umeda F, et al. (2000): High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes.* 49:1939–45

36. Ivy JL.(1997): Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. Sports Med. 24(5):321–336

37. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, Luscher TF (1995): Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 91:1314-1319

38. Kannel WB, McGee DL (1979): Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham Study*. Circulation* 59*:*8–13

39. Kannel WB, Wilson P, Blair SN (1985): Epidemiological assessment of the role of physical activity and fitness in development of cardiovascular disease *Am Heart J* 109:876-885

40. Kantartzis K, Thamer C, Peter A, Machann J, Schick F, Schraml C, Konigsrainer A, Konigsrainer I, Krober S, Niess A, Fritsche A, Haring HU, Stefan N (2008): High Cardiorespiratory Fitness is an independent Predictor of the Reduction in Liver Fat during a Lifestyle Intervention in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Gut*

41. Keogh JB., Brinkworth GD., Clifton PM. (2007): Effects of weight loss on a low-carbohydrate diet on flow-mediated dilatation, adhesion molecules and adiponectin. *Br J Nutr.* 98:852–859

42. Kröger K, Stang A, Kondratieva J et al.: Prevalence of peripheral arterial disease – results of the Hein Nixdorf Recall Study. Eur J Epidemiol 2006: 21: 279–85

43. Lampman RM, Schteingart DE. (1991): Effects of exercise training on glucose control, lipid metabolism, and insulin sensitivity in hypertriglyceridemia and non-insulin dependent diabetes mellitus. Med Sci Sports Exerc. 23(6):703–712

44. Lavrencic A, Salobir BG, Keber I (2000): Physical training improves flow-mediated dilation in patients with the polymetabolic syndrome. A*rterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 20:551-555

45. Lee S, Gungor N, Bacha F, Arslanian S (2007): Insulin resistance: link to the components of the metabolic syndrome and biomarkers of endothelial dysfunction in youth. *Diabetes Care* 30:2091-2097

46. Lindstrom J, Louheranta A, Mannelin M, Rastas M, Salminen V, Eriksson J, Uusitupa M, Tuomilehto J (2003): The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): Lifestyle intervention and 3-year results on diet and physical activity. *Diabetes Care* 26:3230-3236

47. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. (2007) Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 115:459-467

48. Lüscher TF, Barton M. (1997): Biology of the endothelium. *Clin Cardiol*. 20(suppl II):II-3-II-10

49. Lyon, C.J., Law, R.E.,Hsueh, W.A.Minireview (2003): Adiposity, Inflammation, and Atherogenesis. Endocrinology 144:2195-2200

50. Machann J, Thamer C, Schnoedt B, Haap M, Haring HU, Claussen CD, Stumvoll M, Fritsche A, Schick F (2005): Standardized assessment of whole body adipose tissue topography by MRI. *J.Magn Reson.Imaging* 21:455-462

51. Maiorana A, O'Driscoll G, Cheetham C, Dembo L, Stanton K, Goodman C, Taylor R, Green D (2001): The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes *J Am Coll.Cardiol.* 38:860-866

52. Matsuda M, DeFronzo RA (1999): Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp.Diabetes Care 22:1462-70

53. Moller DE, Kaufman KD (2005): Metabolic syndrome: a clinical and molecular perspective. Annu Rev Med 56:45– 62

54. Napoli C, D'Armiento FP, Mancini FP, Postiglione A, Witztum JL, Palumbo G, Palinski W. (1997): Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia: intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest*. 100:2680 –2690

55. Napoli C, Lerman LO, de Nigris F, Gossl M, Balestrieri ML, Lerman A (2006): Rethinking primary prevention of atherosclerosis-related diseases *Circulation* 114:2517-2527

56. Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A et al. (1997): Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 129: 111–18

57. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK, Jr. (1999): 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.* 340:14-22

58. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. (2001): Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. Journal of the American Medical Association**.** 285(19):2481–2485

59. Ridker P. (2007): C-reactive protein and the prediction of cardiovascular events among those at intermediate risk: moving an inflammatory hypothesis toward consensus. J Am Coll Cardiol 49:2129 –38

60. Rittig K, Peter A, Baltz KM, et al. (2008): The CCR2 promoter polymorphism T-960A, but not the serum MCP-1 level, is associated with endothelial function in predia- betic individuals. Atherosclerosis 198:338–46

61. Rodriguez-Porcel M, Lerman LO, Herrmann J, Sawamura T, Napoli C, Lerman A. (2003): Hypercholesterolemia and hypertension have synergistic deleterious effects on coronary endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23:885– 891

62. Roman M.J., Naqvi T.Z.; Gardin J.M., Gerhard-Hermann M., Jaff M., Mohler E.: American Society of echocardiography report. Clinical application of noninvasive vascular ultrasound in cardiovascular risk stratification (2006): a report from the American Society of Echocardiography and the Society for Vascular Medicine and Biology. Vasc Med 11:201-211

63. Romero-Corral A, Sert-Kuniyoshi FH, Sierra-Johnson J et al. (2010): Modest visceral fat gain causes endothelial dysfunction in healthy humans. J Am Coll Cardiol. 56:662-6

64. Ross R, Glomset J, Harker L. (1977): Response to injury and atherogenesis. Am J Pathol 86:675-84

65. Ross, R.: The pathogenesis of atherosclerosis (1993): a perspective for the 1990's. Nature (Lond.) 362:801-809

66. Ross, R.(1999): Atherosklerosis-an inflammatory disease. New England Journal of Medicine 340/2:115-126

67. Rubbo H, Trostchansky A, Botti H, et al.(2002): Interactions of nitric oxide and peroxynitrite with low-density lipoprotein. *Biol Chem*. 383:547–552.

68. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM (2000): Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long- term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 101:1899-1906

69. Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH. (1994): Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res*. 74:349–353.

70. Skilton M. R., Sieveking D. P., Harmer J. A., Franklin J., Loughnan G., Nakhla S., Sullivan D. R., Caterson I. D., Celermajer D. S. (2008): The effects of obesity and non-pharmacological weight loss on vascular and ventricular function and structure. *Diabetes Obes. Metab.* 10:874–884

71. Statistisches Bundesamt (2011 a): Todesursachenstatistik, Statistisches Bundesamt, Zweigstelle Bonn: Sterbefälle (absolut, Sterbeziffer, Ränge, Anteile) für die 10/20/50/100 häufigsten Todesursachen (ab 1998). Gliederungsmerkmale: Jahre, Region, Alter, Geschlecht, ICD-10, www.gbe-bund.de

72. Statistisches Bundesamt (2011 b): Krankenhausstatistik - Diagnosedaten der Patienten und Patientinnen in Krankenhäusern, Statistisches Bundesamt, Zweigstelle Bonn: Diagnosedaten der Krankenhäuser ab 2000 (Eckdaten der vollstationären Patienten und Patientinnen). Gliederungsmerkmale: Jahre, Behandlungs-/Wohnort, ICD10. www.gbe-bund.de

73. Stefan N, Machicao F, Staiger H, Machann J, Schick F, Tschritter O, Spieth C, Weigert C, Fritsche A, Stumvoll M, Haring HU (2005): Polymorphisms in the gene encoding adiponectin receptor 1 are associated with insulin resistance and high liver fat. *Diabetologia* 48:2282-2291

74. Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Krober SM, Machicao F, Fritsche A, Haring HU. (2006): Alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care.* 29:853–857

75. Stefan N, Kantartzis K, Haring HU (2008 a): Causes and metabolic consequences of Fatty liver. *Endocr.Rev.* 29:939-960

76. Stefan N, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Thamer C, Rittig K, Balletshofer B, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. (2008 b): Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. Arch Intern Med. 168:1609–1616

77. Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, et al. (1999): Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Study. *JAMA.* 281(8):727–735

78. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Jr., Lerman A (2000): Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 101:948-954

79. Targher G, Bertolini L, Poli F et al (2005) Nonalcoholic fatty liver disease and risk of future cardiovascular events among type 2 diabetic patients. Diabetes 54:3541–3546

80. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Arcaro G, Day C (2007a) Differences and similarities in early atherosclerosis between patients with non-alcoholic steatohepatitis and chronic hepatitis B and C. J Hepatol 46:1126–1132

81. Targher G, Bertolini L, Padovani R et al. (2007b): Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. Diabetes Care 30:1212–1218

82. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Lippi G, Day C, Muggeo M (2008): Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and proliferative/laser-treated retinopathy in type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 51:444-450

83. Toledo FG, Menshikova EV, Ritov VB, Azuma K, Radikova Z, DeLany J, Kelley DE. (2007): Effects of physical activity and weight loss on skeletal muscle mitochondria and relationship with glucose control in type 2 diabetes. Diabetes 56:2142–2147. doi: 10.2337/db07-0141

84. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. (1990): Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med*. 323:27–36

85. Wajchenberg BL, Malerbi DA, Rocha MS, Lerario AC, San- tomauro ATMG (1994): Syndrome X: a syndrome of insulin resis- tance. Epidemiological and clinical evidence. Diabetes Metab Rev 10:19 –29

86. Wajchenberg BL (2000): Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr.Rev.* 21:697-738

87. Weikert: Weikert C, Stefan N, Schulze MB, Pischon T, Berger K, et al. (2008): Plasma fetuin-a levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke. *Circulation.* 118:2555–2562

88. Wendelhag I, Gustavsson T, Suurkula M, Berglund G, Wikstrand J (1991): Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system. *Clin.Physiol* 11:565-577

89. Wieczorek KM, Brewer AS, Myatt L. (1995): Shear stress may stimulate release and action of nitric oxide in the human fetal-placental vasculature. *Am J Obstet Gynecol*. 173:708 –713

90. Wycherley TP, Brinkworth GD, Noakes M, Buckley JD, Clifton PM. (2008): Effect of caloric restriction with and without exercise training on oxidative stress and endothelial function in obese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 10:1062–1073

7 Anhang

7.1 Abbildungen/Tabellen:

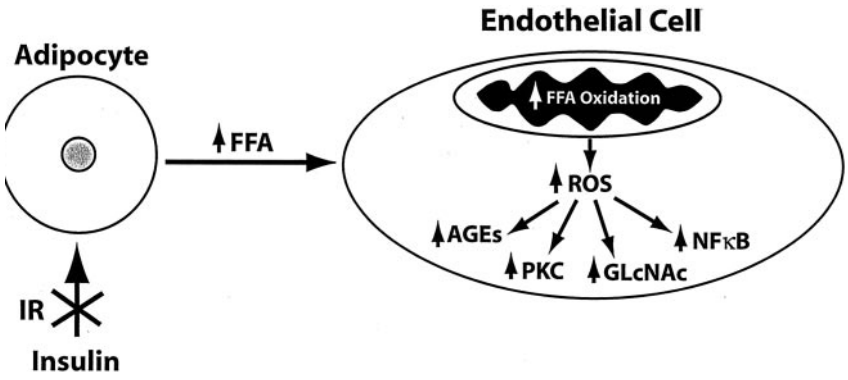

Abb. 1: Insulinresistenz und deren Auswirkung auf Endothelzellen: Die Insulinresistenz verursacht durch ein vermehrtes Anfallen von FFS und deren Oxidation eine mitochondriale Überproduktion von ROS in Endothelzellen des makrovaskulären Systems. Aus Hofmann S, Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications: a unifying mechanism. In *Diabetes Mellitus: A Fundamentaland Clinical Text*. 3rd ed. LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, Eds. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, p. 1441–1457, 2004.
FFA = freie Fettsäuren, IR = Insulinresistenz, ROS = reaktive Sauerstoff Spezies, AGE = advanced glycation endproduct, PKC = Protein Kinase C, GlcNAc = N-acetyl-D-glucosamin, NF-κB = Nuclear Factor-Kappa B

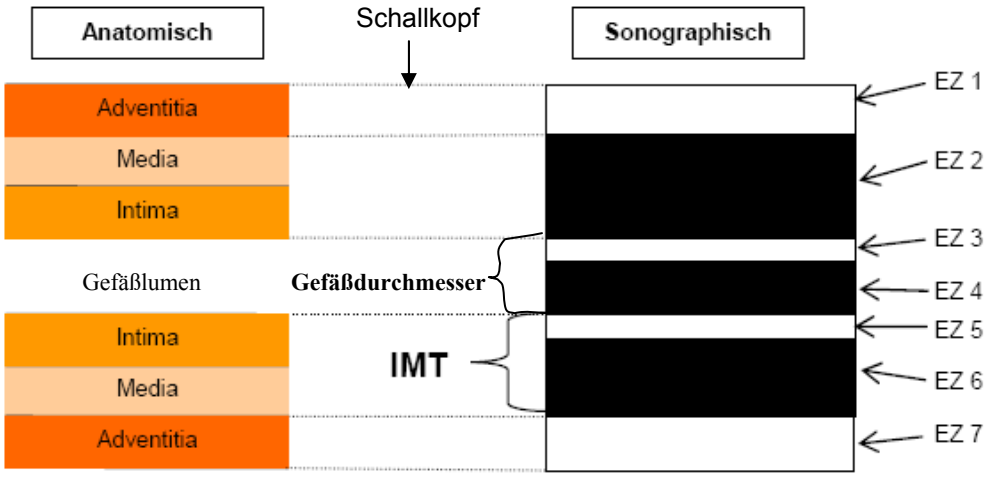

Abb. 2: schematische Gegenüberstellung von anatomischer und sonographischer Morphologie der Gefäßwand. IMT = Intima-Media Dicke, EZ = Echozone.
Der Gefäßdurchmesser wird vom Übergang der EZ 2/EZ 3 bis zum Übergang der EZ 4/EZ 5 gemessen. Die IMT wird von EZ 4/ EZ 5 bis EZ 6/ EZ 7 gemessen.
Mit freundlicher Erlaubnis von PD. Dr. K. Rittig

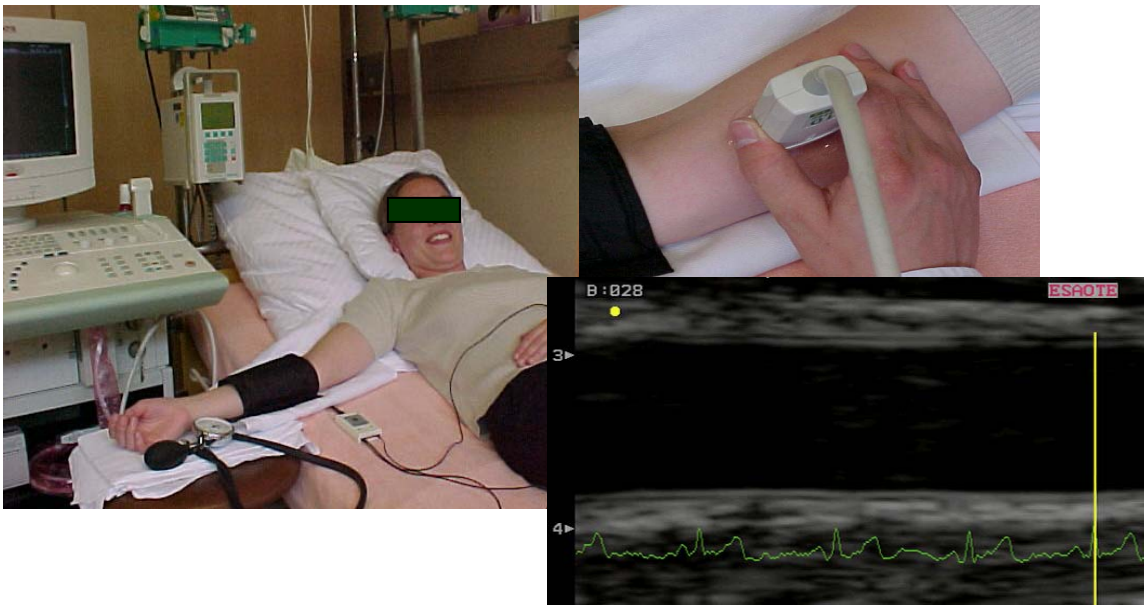

Abb. 3: Untersuchungssituation: a) Gefäßmessung der A. brachialis mit Stauung am Unterarm, EKG Elektroden; b) Messung mittels hochauflösendem Ultraschallkopf oberhalb der Ellenbeuge; C) Ultraschallbild der A. brachialis im Standbild am Ende der Diastole (R-Zacke)**.** Mit freundlicher Erlaubnis von PD Dr. K. Rittig

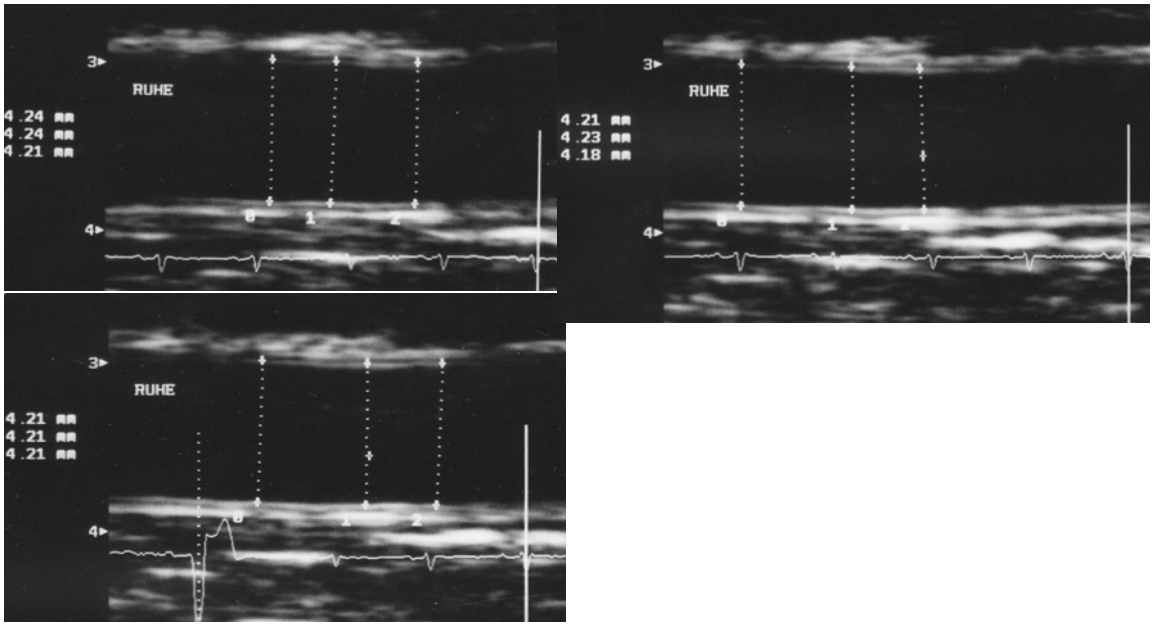

Abb. 4: Messung des Gefäßdurchmessers: Sonographische Darstellung der A. brachialis im Standbild. 3 Messungen pro R-Zacke mittels Leading-edge Methode: Der Gefäßdurchmesser wird vom Beginn des Ultraschallreflexes an der Gefäßaußenwand, im Bild oben bis zum Beginn des Ultraschallreflexes an der gegenüberliegenden Gefäßinnenwand gemessen

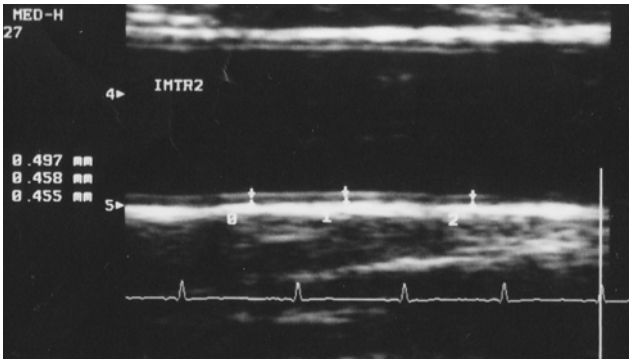

Abb. 5: Sonographische Darstellung der A. carotis communis zur Messung der Intima-Media-Dicke mittels Leadings-edge Methode. An der schallkopffernen Gefäßwand ist die typische Doppelkontur aus hellen und dunklen Schallechos erkennbar

Abb. a

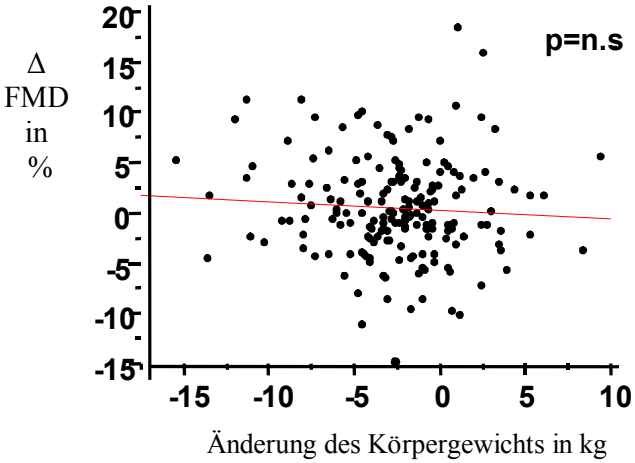

Abb. b

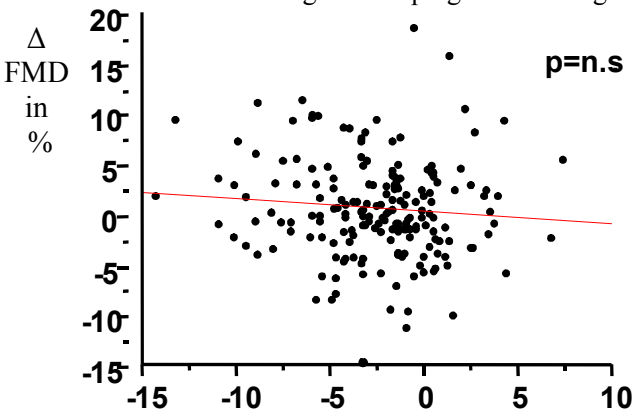

Abb. c

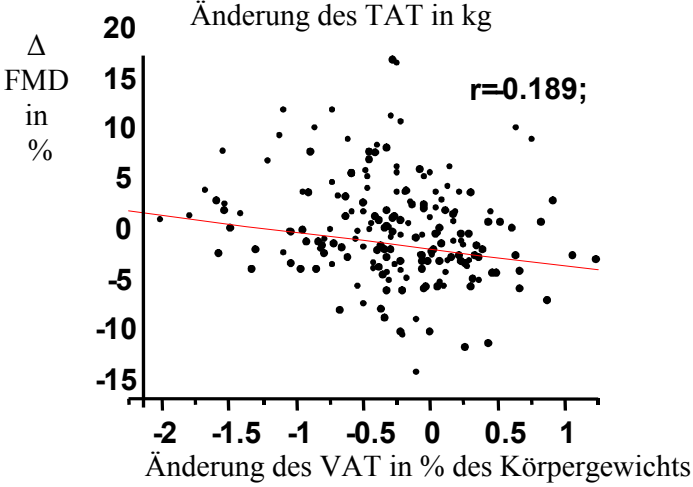

Abb. 6: Intraindividualle Korrelation zwischen der Veränderung der Flussmediierten Dilatation der A. brachialis (Δ FMD %) und des Körpergewichts (Abb. a) des Gesamtfettgewebes [TAT] (Abb. b) und des viszeralen Fettgewebes [VAT] (Abb. C)

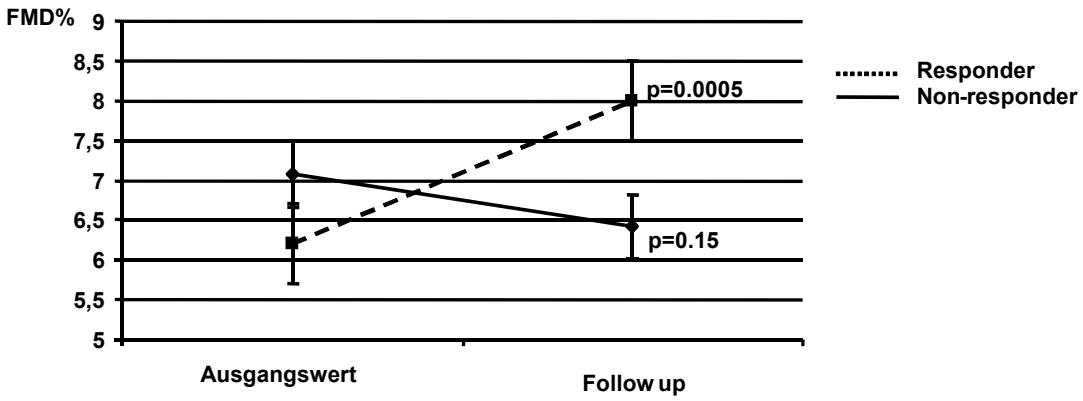

Abb. 7 Verlauf der Flussmediierten Dilatation der A. brachialis (FMD %) bei der Responder und Non-Responder Gruppe (mean ± SEM). Aus Rittig et al. (2010): Reducing visceral adipose tissue mass is essential for improving endothelial function in type 2 diabetes prone individuals.Atherosclerosis 212(2):575-9

(n=189; w/m=120/69)		**Mean ± SEM**	**Range**
Alter	(Jahre)	45.4 ± 0.8	19 – 68
RR_{sys}	(mmHg)	127 ± 1	80 – 185
RR_{dia}	(mmHg)	79 ± 1	45 – 110
Derzeitige Raucher	(a/n)	20/164 (keine Information von 5 Probanden)	-
Gewicht	(kg)	85.1 ± 1.1	52.5 – 144.7
BMI	(kg/m²)	29.1 ± 0.3	19.4 – 43.5
Gesamtfettgewebe	(kg)	29.1 ± 0.7	7.1 – 63.1
Viszerales Fettgewebe	(kg)	2.8 ±0.13	4 – 9.3
Nüchternglukose	(mmol)	5.2 ± 0.04	4.5 – 11.06
2h-Wert Glukose	(mmol)	6.8 ± 0.1	0.3 – 3.1
Triglyzeride	(mmol/l)	1.3 ± 0.04	2.5 – 7.7
Gesamtcholesterin	(mmol/l)	5.0 ± 0.06	0.7 – 2.4
HDL-Cholesterin	(mmol/l)	1.4 ± 0.02	1.0 – 5.1
LDL-Cholesterin	(mmol/l)	3.2 ± 0.05	1.0 – 5.1

Tabelle 1: Anthropometrischen Daten und laborchemische Ergebnisse der Studienteilnehmer zu Beginn der Untersuchung

(n=189; w/m=120/69)		**Mean ± SEM**	**Range**
Basaler Durchmesser der A. brachialis	(mm)	3.7 ± 0.05	2.0 – 5.4
FMD	(%)	6.6 ± 0.3	0.0 – 18.2
GTN-Dilation	(%)	19.3 ± 0.5	3.4 – 42.2
Intima-Media-Dicke	(mm)	0.56 ± 0.01	0.28 – 0.98
hsCRP	(mg/l)	0.17 ± 0.01	0.01 – 1.00
V-CAM	(U/ml)	540 ± 19	3 – 2098
I-CAM	(U/ml)	309 ± 11	93 – 1432
E-Selectin	(ng/ml)	52 ± 2	3 – 162

Tabelle 2: Gefäßparameter der Studienteilnehmer zu Beginn der Untersuchung

		Nicht Responder (n=94 ; w/m=66/28)			Responder (n=95 ; w/m=54/41)			Ausgangsdaten beider Gruppen
		Beginn	Verlauf		Beginn	Verlauf		
		Mean ± SEM	mean ± SEM	p_1	mean ± SEM	mean ± SEM	p_2	p_3
Basaler Durchmesser	(mm)	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.1	0.32	3.8 ± 0.07	3.8 ± 0.07	0.25	0.07
FMD	(%)	7.1 ± 0.4	6.4 ± 0.4	0.15	6.2 ± 0.4	8.0 ± 0.5	0.0005	0.10
GTN-Dilation	(%)	20.0 ± 0.8	18.5 ± 1.0	0.48	18.7 ± 0.7	19.1 ± 0.7	0.44	0.19
Intima-Media-Dicke	(mm)	0.55 ± 0.01	0.54 ± 0.01	0.27	0.56 ± 0.01	0.55 ± 0.01	0.13	0.51
HsCRP	(mg/l)	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.31	0.16 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.0001	0.44
V-CAM	(U/ml)	561 ± 29	566 ± 3	0.91	566 ± 27	522 ± 27	0.24	0.78
I-CAM	(U/ml)	319 ± 17	335 ± 16	0.02	290 ± 16	300 ± 12	0.33	0.37
E-Selectin	(ng/ml)	45 ± 3	48 ± 4	0.58	54 ± 4	47 ± 3	0.03	0.02

Tabelle 3: Gefäßparameter beider Gruppen zu Beginn und im weiteren Verlauf
p1 zeigt das Signifikanzlevel der Nicht Responder Ausgangsdaten vs. Daten im weiteren Verlauf
p2 zeigt das Signifikanzlevel der Responder Ausgangsdaten vs. Daten im weiteren Verlauf
p3 zeigt das Signifikanzlevel der Ausgangsdaten von Nicht Responder vs. Responder

		Nicht Responder (n=94; w/m=66/28)			Responder (n=95; w/m=54/41)			Ausgangsdaten beider Gruppen
		Beginn	Verlauf		Beginn	Verlauf		
		mean ± SEM	mean ± SEM	p_1	mean ± SEM	mean ± SEM	p_2	p_3
Alter	(Jahre)	44.1 ± 1.2	-	-	46.6 ± 1.1	-	-	0.13
RR_{sys}	(mmHg)	127 ± 2	122 ± 2	0.007	128 ± 2	122 ± 1	0.0007	0.57
RR_{dia}	(mmHg)	78 ± 1	75 ± 1	0.005	79 ± 1	76 ± 1	0.001	0.60
Derzeitige Raucher	(a/n)	11/81 (keine Information von 2 Probanden)			9/83 (keine Information von 3 Probanden)			0.81
Gewicht	(kg)	82.4 ± 1.6	81.4 ± 1.6	0.005	87.7 ± 1.6	83.8 ± 1.5	<0.0001	0.02
BMI	(kg/m²)	28.4 ± 0.5	28.0 ± 0.5	0.006	29.7 ± 0.4	28.4 ± 0.4	<0.0001	0.04
Gesamtfettgewebe	(kg)	27.5 ± 1.0	27.2 ± 0.9	0.35	30.7 ± 1.0	26.6 ± 1.0	<0.0001	0.03
Viszerales Fettgewebe	(kg)	2.4 ± 0.2	2.42 ± 0.2	0.04	3.2 ± 0.2	2.4 ± 0.1	<0.0001	0.0004
Nüchternglukose	(mmol)	5.1 ± 0.05	5.2 ± 0.06	0.67	5.3 ± 0.05	5.2 ± 0.05	<0.0001	0.02
2h-Wert Glukose	(mmol)	6.8 ± 0.2	6.9 ± 0.2	0.61	6.8 ± 0.1	6.4 ± 0.2	0.01	0.99
Triglyzeride	(mmol/l)	1.2 ± 0.05	1.2 ± 0.06	0.33	1.4 ± 0.07	1.2 ± 0.06	0.04	0.02
Gesamtcholesterin	(mmol/l)	4.9 ± 0.09	5.0 ± 0.1	0.35	5.1 ± 0.1	4.9 ± 0.1	0.0009	0.16
HDL-Cholesterin	(mmol/l)	1.4 ± 0.04	1.4 ± 0.04	0.44	1.4 ± 0.03	1.4 ± 0.04	0.55	0.40
LDL-Cholesterin	(mmol/l)	3.1 ± 0.07	3.1 ± 0.08	0.89	3.2 ± 0.08	3.0 ± 0.09	<0.0001	0.12

Tabelle 4: Anthropometrischen Daten und laborchemische Ergebnisse beider Gruppen zu Beginn und im weiteren Verlauf.
p1 zeigt das Signifikanzlevel der Nicht Responder Ausgangsdaten vs. Daten im weiteren Verlauf
p2 zeigt das Signifikanzlevel der Responder Ausgangsdaten vs. Daten im weiteren Verlauf
p3 zeigt das Signifikanzlevel der Ausgangsdaten von Nicht Responder vs. Responder

7.2 Publikation der Daten

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden in der folgenden Publikationen veröffentlicht („peer reviewed“ Journal; 5-Year Impact Factor: 3.962):

K.Rittig, A.Hieronimus, C.Thamer, J.Machann, A.Peter, J.Stock, F.Schick, A. Fritsche, N.Stefan, H.-U.Häring, B.Balletshofer: Reducing visceral adipose tissue mass is essential for improving endothelial function in type 2 diabetes prone individuals. Atherosclerosis 2010; 212(2):575-9

Atherosclerosis 212 (2010) 575–579

Contents lists available at ScienceDirect

Atherosclerosis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/atherosclerosis

Reducing visceral adipose tissue mass is essential for improving endothelial function in type 2 diabetes prone individuals

K. Rittig[a], A. Hieronimus[a], C. Thamer[a], J. Machann[b], A. Peter[a], J. Stock[a], F. Schick[b], A. Fritsche[a], N. Stefan[a,*], H.-U. Häring[a], B. Balletshofer[a]

[a] Department of Endocrinology and Diabetes, Vascular Medicine, Nephrology and Clinical Chemistry, University of Tübingen, Otfried-Müller Straße 10, 72076 Tübingen, Germany
[b] Department of Radiology, Section of Experimental Radiology, University of Tübingen, Germany

ARTICLE INFO

Article history:
Received 19 August 2009
Received in revised form 7 June 2010
Accepted 28 June 2010
Available online 8 July 2010

Keywords:
Visceral adiposity
Endothelial dysfunction
Lifestyle intervention

ABSTRACT

Objective: In obesity, particularly increased visceral- (VAT), but not total (TAT) adipose tissue mass is a major source of proinflammatory cytokine expression and secretion. VAT, more than TAT, is associated with endothelial dysfunction (ED), which is an accepted risk factor for atherosclerosis. Consequently, we hypothesized that during a lifestyle intervention specifically a decrease in VAT, rather than TAT, is associated with improved ED and vascular adhesion molecules in type 2 diabetes prone subjects.
Methods: Analyses were done in 189 individuals (age: 45.4 ± 0.8 years) at increased risk of type 2 diabetes, who underwent a 9-month lifestyle intervention. ED expressed as flow mediated dilation (FMD) of the brachial artery, sE-selectin, sV-CAM, sI-CAM, TAT and VAT (measured by magnetic resonance tomography) was determined.
Results: There was a mean decrease in body weight (−3%, $p < 0.0001$), TAT (−7.6%, $p < 0.0001$) and VAT (−12.5%, $p < 0.0001$), while FMD increased (+9.1%, $p = 0.04$). The change in FMD was not associated with change in body weight ($p = 0.35$) or TAT ($p = 0.21$) but with a decrease in VAT ($r = -0.19$, $p = 0.009$). In a post hoc analysis, the subjects were divided by the median change in VAT into responders and non-responders. FMD increased only in the responders (from 6.2 ± 0.4% to 8.0 ± 0.5%, $p = 0.0005$) but not in the non-responders ($p = 0.15$). Also sE-selectin significantly decreased only in the responders (from 54 ± 4 ng/ml to 47 ± 3 ng/ml; $p = 0.03$).
Conclusion: During a lifestyle intervention, not weight loss or decrease in TAT, but decrease in VAT is associated with improved ED in individuals prone to type 2 diabetes. Therefore, primary cardiovascular prevention should focus specifically on reducing VAT rather than body weight alone.
© 2010 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Atherosclerosis develops early in life, leading to new views of what is currently considered as "primary prevention" of cardiovascular disease. There is no doubt about the deleterious effects of traditional risk factors during adolescence and adulthood on the vascular system, however, there is some evidence that also non-traditional risk factors should be taken into account, already in the first decade of life [1]. Recent research in the past years has identified increased visceral adipose tissue (VAT) mass and ectopic fat deposited in the liver, to be potent mediators of systemic inflammation and subsequently, negatively influencing endothelial dysfunction [2–6]. Endothelial dysfunction in turn has been proven to be predictive for cardiovascular complications [7–10]. Intervention studies have demonstrated that exercise-focused lifestyle changes are capable of reducing body weight and subclinical inflammation and being effective regarding the reduction of cardiovascular events [11–13]. This is accompanied by improvement in flow mediated dilation (FMD) of the large arteries [14–17]. We have recently shown that serum levels of MCP-1, a modulator of monocyte function, which in large part is secreted from VAT, have no effect on endothelium-dependent NO-induced vasodilation [18]. Therefore, given the cross-sectional association between visceral adiposity and impaired vascular function, we hypothesized that a reduction in VAT-mass is essential for effective primary cardiovascular prevention, estimated by changes in FMD and endothelial markers during lifestyle intervention in 189 middle-aged subjects, who are at increased risk to develop type 2 diabetes.

2. Methods and procedures

This analysis included a total of 189 subjects (120 women and 69 men, mean age 45.4 ± 0.8 [SEM] years) without diabetes and clinical evidence for cardiovascular disease, who participated in

* Corresponding author. Tel.: +49 7071 29 82711; fax: +49 7071 29 5974.
E-mail address: norbert.stefan@med.uni-tuebingen.de (N. Stefan).

0021-9150/$ – see front matter © 2010 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.atherosclerosis.2010.06.042

the ongoing Tübingen Lifestyle Intervention Program (TULIP). This study was designed to find parameters that predict the effect of a lifestyle intervention with diet and moderate increase in aerobic physical activity to improve prediabetes phenotypes and the cardiovascular risk profile [19,20]. The individuals were considered to be at increased risk to develop type 2 diabetes due to one or more of the following diabetes risk factors: being overweight (BMI > 27 kg/m^2), being a first-degree relative of a patient with type 2 diabetes, history of gestational diabetes or having impaired glucose tolerance. In the present study, out of 347 subjects (supplemental table), 189 individuals could be included because they had all measurements of interest as body composition determined by magnetic resonance imaging and vascular parameters, at the time point of data analysis and did not met the following exclusion criteria: manifest diabetes mellitus, systolic blood pressure > 200 mm Hg, CRP > 1 mg/dl, triglycerides > 5.6 mmol/l, FMD < 0 and > 20%. The data were collected and analyzed between 2005 and 2008. For post hoc after 9 months of lifestyle intervention, median of change in VAT (ΔVAT = VAT-follow up − VAT-baseline) was calculated and the participants were divided in two groups: non-responders, whose VAT did not decrease (n = 94), and individuals who responded to the intervention with a decrease in VAT (n = 95). This approach was necessary, since randomization of the volunteers prior to lifestyle intervention into a treatment and control group was neither accepted by the participants, nor permitted by our local ethic committee. Baseline and follow up measurements are reported as mean ± SEM.

2.1. Lifestyle intervention

All subjects participated in a monitored lifestyle intervention program and had a follow up examination after a mean period of 9 months. The lifestyle intervention included diet modification and increase in physical activity according to the Diabetes Prevention Study (DPS)-standards [21]. The participants were asked to follow defined nutritional guidelines (55% of complex carbohydrates, 15% protein, 30% fat). Counseling was aimed first at reducing body weight by ≥5% compared to baseline. Next, participants were asked to retain this change in body weight throughout the study. Counseling also aimed at reducing intake of calories from fat to <30% of energy consumed and to increase intake of fibers to at least 15 g 1000 kcal^{-1}. Furthermore, they were asked to reduce intake of saturated fat to ≤10%. The energy intake in calories was calculated as normal weight × 32, but not less than 1500 calories, to prevent starving and related unwanted changes in metabolism. Participants had to keep a diary on their eating habits, which was used as a basis for advice in monthly sessions with a trained nutritionist.

The exercise intervention aimed at endurance type of exercise. The participants were free to choose their preferred form of exercise. The only requirement was to perform at least 3 h of exercise per week. The optimal training-level has been determined for each participant via measurement of the individual anaerobic threshold, using lactate measurements on a treadmill protocol, in the department of sports medicine. The weekly training-compliance subsequently was monitored by a pulse-watch (Polar®) which the participants were asked to wear during exercise. Additionally, voluntary walking groups were organized for all participants.

2.2. Oral glucose tolerance test (OGTT)

The OGTT was performed using 75 g glucose-solution at 8 AM standardised after an overnight fast of > 10 h. An insulin-sensitivity-index was calculated according to the criteria described by Matsuda & DeFronzo [10,000 divided by square root of (fasting glucose × fasting insulin) × (mean glucose × mean insulin)].

2.3. Vascular measurements

Before and after lifestyle intervention FMD was measured at the brachial artery as described by Celermajer et al. [22]. This method uses post-ischemic (forearm) vasodilation, causing enhanced flow in the proximal (brachial) artery and consequently a shear stress-induced activation of eNOS resulting in NO release, and subsequent vasodilation. Since this dilation can be blocked by N-monomethyl-L-arginine, an inhibitor of endothelial nitric oxide synthase [23], it has been proven to be endothelial dependent. FMD was examined using high resolution (13-MHz) ultrasound (AU5 Idea, Esaote Biomedica®) with an integrated ECG package, after an overnight fast of at least 10 h. The brachial artery diameter was scanned in longitudinal sections 2–10 cm above the elbow, using electronic calipers on frozen images over a length of at least 1 cm, according to the sonomorphological definition of Wendelhag et al. [24]. Subjects had to rest for at least 10 min before the first baseline scans were recorded. Before compression the arterial diameter was measured. Increased flow was induced by deflating a pneumatic tourniquet after a 5-min suprasystolic (230 mm Hg) forearm compression. The post-ischemic diameter of the brachial artery was measured 45–60 s after cuff deflation. To test the endothelium-independent dilation capacity, further scans were performed before, and 4 min after sublingual administration of 0.4 mg glyceroltrinitrate (GTN) as a direct nitric oxide donor. The time span between the post-ischemic and the pre-GTN scans had to be at least 15 min for vessel recovery. Three measurements were taken at each scan for 3 cardiac cycles at the end of the diastole (incident with the R-wave on the ECG), and the mean was then calculated.

The intima–media thickness (IMT) of the common carotid artery was measured according to the sonomorphological definition of Wendelhag et al. [24] using the same ultrasound system as in FMD measurements. The carotid arteries were scanned in a longitudinal section on either side. IMT was measured R-wave triggered from two different angles in a two-dimensional ultrasound image on the transducer far wall. Three measurements were done in each angle. The indicated values represent the mean of six measurements on each side. The mean values of each side were averaged to a single overall value and used for further statistical analyses.

To achieve the highest possible level of blinding in this study, FMD and IMT measurements were performed by a trained examiner, who was not a member of the staff evaluating the metabolic parameters. Furthermore, all ultrasound examinations were performed early in the morning before the oral glucose tolerance test and further blood drawing for the metabolic measurements were done. The ultrasound-examiner therefore was unaware of the participant's metabolic status. In addition, at follow up the ultrasound-examiner had no access to the files, and therefore was not able to look up the results of the baseline examination.

The intra-individual variability expressed as median absolute difference of the measurements of FMD and IMT after 2 training periods of at least 30–50 training measurements was below 1%. The variation coefficient of the basal diameter as well as for post-ischemic diameter measurements and IMT was <0.5 [25].

2.4. MR examinations

All MR examinations were performed in the early morning after overnight fasting on a 1.5 T whole-body imager (Magnetom Sonata, Siemens Medical Solutions®). Total and visceral adipose mass tissues were determined with an axial T1-weighed fast spin echo technique with a 1.5 T whole-body imager as described before [26].

2.5. Analytical procedures

Blood glucose was determined using a bedside glucose analyzer (glucose-oxidase method; YSI, Yellow Springs Instruments,

Yellow Springs, CO). Plasma insulin was determined by microparticle enzyme immunoassay (ADVIA Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Germany). Circulating sI-CAM, sV-CAM and sE-selectin were measured using standard ELISA-kits (Bender MedSystems®), according to the manufacturer's protocols. hsCRP was determined by a particle-enhanced immuno-turbidometric method with a limit of detection of 0.01 mg/dl (ADVIA 1650-analyzer, Bayer®).

2.6. Statistical analyses

To decide on the statistical significance of the within-subject differences at the 0.05 level, the paired *t*-test was used. First the relationship between changes in ED with changes in TAT and VAT were calculated. In a post hoc analysis the participants were dichotomised into two groups according to the median of Δ change in VAT. Thereby, the "responder group" was defined as the upper median of ΔVAT-change whereas the "non-responder group" is represented in the lower median of ΔVAT-change. To check for differences between groups at baseline and to test for significance of change from baseline to follow up, the two-sided *t*-test was used for normal distributed variables, and the Wilcoxon rank-sum test for not-normal distributed variables. Independent relationship between variables was tested using multivariate linear regression models. All calculations were performed using the statistical software JMP™, release 7.0 (SAS Institute, Cary, NC).

3. Results

3.1. Baseline parameters between groups

Anthropometrical data, laboratory findings and vascular parameters of the study population at baseline and follow up are shown in Tables 1 and 2. These parameters covered a wide range, allowing to carefully studying relationships between them.

The responder and the non-responder groups did not differ in age or gender distribution. At baseline there was also no significant difference in the classical cardiovascular risk profile between the groups. Blood pressure and smoking habits e.g. were comparable. Baseline-BMI was slightly higher in the responder group ($p = 0.04$). VAT as well as TAT was higher in the responder group ($p = 0.0004$ and $p = 0.03$, respectively). No significant differences could be detected in lipid status, with the exception of a moderately higher plasma level of triglycerides in the responder group. Regarding glucose metabolism, the non-responder group had lower fasting glucose levels at baseline as compared to the responder group. Regarding the subclinical status of inflammation, no differences could be detected in hsCRP serum levels between the groups. Furthermore, the circulating adhesion molecules (sV-CAM and sI-CAM) were comparable, whereas sE-selectin was moderately higher in the responder group ($p = 0.02$). Functional and morphological vascular parameters, namely FMD and IMT were comparable between the groups.

3.2. Intervention effect on the cardiovascular risk factor profile and vascular parameters

In the whole study population there was a significant decrease in body weight (85.1 ± 1.1 to 82.6 ± 1.1 kg; $p < 0.0001$) during lifestyle intervention. Also, TAT and VAT decreased (TAT: 29.1 ± 0.7 to 26.9 ± 0.7 kg; $p < 0.0001$ and VAT: 2.8 ± 0.13 to 2.4 ± 0.12 kg; $p < 0.0001$). However, FMD did not change significantly (6.6 ± 0.3 to 7.2 ± 0.3%, p = n.s.).

To investigate the relationships of intra-individual changes of the fat compartments studied with FMD, no significant correlation of ΔFMD with Δbody weight or ΔTAT was found. However, ΔVAT was negatively correlated with ΔFMD ($r = -0.19$; $p = 0.009$) in a univariate manner. To test for the potential influence of confounding variables that are different between the groups at baseline, we further performed a multivariate model with the parameters in question, namely fasting glucose, BMI, VAT, TAT and triglycerides. In this analysis, the level of significance of the correlation between ΔVAT and ΔFMD was unchanged ($p = 0.01$). In a stepwise regression model, only the influence of ΔVAT on ΔFMD reached significance ($p = 0.008$).

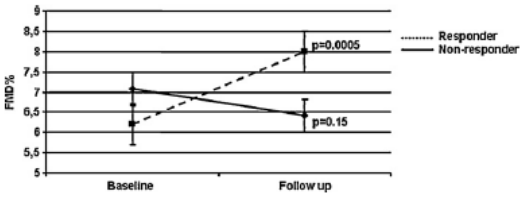

Fig. 1. Course of flow mediated dilation of the brachial artery (FMD) in the responder and non-responder group (mean ± SEM).

To further investigate this relationship, we dichotomised the group according to the median ΔVAT to generate a responder-, and non-responder group. Intervention success was thereby defined as being in the upper half of ΔVAT. Accordingly, the responder group's VAT significantly decreased from 3.2 ± 0.16 to 2.4 ± 0.1 ($p < 0.0001$), whereas the control group's VAT did not change ($p = 0.43$). This was accompanied by a significant decrease in BMI and TAT in the responder group (Table 1). The decrease in VAT in the responder group was accompanied by a significant increase in FMD of 29.0% (from 6.2 ± 0.4% to 8.0 ± 0.5%, $p = 0.0005$), whereas in the non-responder group no improvement was found (from 7.08 ± 0.41% to 6.41 ± 0.42%, $p = 0.15$) [Fig. 1]. Furthermore, serum levels of sE-selectin, an endothelial-cell specific adhesion molecule, decreased significantly in the responder group ($p = 0.03$), but not in the non-responder group.

We furthermore divided our study-group according to tertiles in ΔVAT. In the accordingly generated non-responder ($n = 64$) and borderline ($n = 64$) group no change in FMD was found (6.6 ± 0.5 to 6.1 ± 0.5%, p = n.s.; and 7.2 ± 0.5 to 7.6 ± 0.6%, p = n.s.). In the responder group ($n = 61$) however, FMD increased consistently from 6.0 ± 0.5 to 8.0 ± 0.5% ($p = 0.0007$). On the other hand the early morphological parameter IMT did not change significantly in either group. Also sV-CAM did not change in either group, whereas sI-CAM levels even increased significantly in the non-responders. Systolic and diastolic blood pressure improved in either group. As a sign for successfully reduced inflammatory burden in the responder group, hsCRP-levels decreased from 0.16 ± 0.02 to 0.11 ± 0.01 mg/l. The lipid-pattern, including total and low-density cholesterol, as well as triglycerides was markedly improved only in the responder group. High-density cholesterol levels on the other hand were not affected by lifestyle intervention in either group.

4. Discussion

In the present study we found that the decrease in VAT, but not TAT, during lifestyle intervention was accompanied by improvement in vascular function in a population at increased risk to develop type 2 diabetes. The decrease in VAT was accompanied by amelioration of a number of risk factors potentially influencing vascular parameters. To test for the impact of these other parameters that improved only in the responder group, we dichotomised the study population according to the median change of the parameter of interest TAT, triglycerides, total-, and LDL-cholesterol, fasting and 2 h glucose and hsCRP. In these analyses the improvement of

Table 1
Anthropometrical data and laboratory findings of the groups at baseline and follow up.

	Non-responder (n = 94; f/m = 66/28)			Responder (n = 95; f/m = 54/41)			p_3 (between groups at baseline)
	Baseline Mean ± SEM	Follow up Mean ± SEM	p_1	Baseline Mean ± SEM	Follow up Mean ± SEM	p_2	
Age (years)	44,1 ± 1,2	–	–	46,6 ± 1,1	–	–	0,13
Syst. BP (mm Hg)	127 ± 2	122 ± 2	0,007	128 ± 2	122 ± 1	0,0007	0,57
Diast. BP (mm Hg)	78 ± 1	75 ± 1	0,005	79 ± 1	76 ± 1	0,001	0,60
Current smokers (y/n)	11/81 (no information on 2 individuals)			9/83 (no information on 3 individuals)			0,81
Weight (kg)	82,4 ± 1,6	81,4 ± 1,6	0,005	87,7 ± 1,6	83,8 ± 1,5	<0,0001	0,02
BMI (kg/m²)	28,4 ± 0,5	28,0 ± 0,5	0,006	29,7 ± 0,4	28,4 ± 0,4	<0,0001	0,04
Total adipose tissue (kg)	27,5 ± 1,0	27,2 ± 0,9	0,35	30,7 ± 1,0	26,6 ± 1,0	<0,0001	0,03
Visceral adipose tissue (kg)	2,40 ± 0,2	2,42 ± 0,2	0,43	3,2 ± 0,2	2,4 ± 0,1	<0,0001	0,0004
Fasting glucose (mmol)	5,1 ± 0,05	5,2 ± 0,06	0,67	5,3 ± 0,05	5,2 ± 0,05	<0,0001	0,02
2 h glucose (mmol)	6,8 ± 0,2	6,9 ± 0,2	0,61	6,8 ± 0,1	6,4 ± 0,2	0,01	0,99
Triglycerides (mmol/l)	1,2 ± 0,05	1,2 ± 0,06	0,33	1,4 ± 0,07	1,2 ± 0,06	0,04	0,02
Total-cholesterol (mmol/l)	4,9 ± 0,09	5,0 ± 0,1	0,35	5,1 ± 0,1	4,9 ± 0,1	0,0009	0,16
High-density cholesterol (mmol/l)	1,4 ± 0,04	1,4 ± 0,04	0,44	1,4 ± 0,03	1,4 ± 0,04	0,55	0,40
Low-density cholesterol (mmol/l)	3,1 ± 0,07	3,1 ± 0,08	0,89	3,2 ± 0,08	3,0 ± 0,09	<0,0001	0,12

p_1 represents level of significance non-responder baseline vs. follow up.
p_2 represents level of significance responder baseline vs. follow up.
p_3 represents level of significance non-responder vs. responder at baseline.

these parameters was not accompanied by an increase in FMD (data not shown), indicating that the decrease in VAT indeed can be held responsible for the favourable effect on the cardiovascular parameters described. Since systolic and diastolic blood pressure improved in either group, blood pressure most probably is not the major factor responsible for the improvement in FMD in the responder group.

Our findings are in line with former studies, in which a significant weight loss could be achieved by the means of dietary intervention or exercise, and that could not detect an accompanying favourable effect on endothelial function [27–30].

Another noteworthy finding of our study is that the decrease in body weight in the responder group of 5.1% and in TAT of 13.3% was accompanied by a reduction in VAT of more than 22% in our population. This finding is of practical clinical importance, since obese patients, who undergo a lifestyle intervention have the tendency to loose motivation, when the achieved weight loss is not satisfying. Therefore, it is important to inform these patients that this change goes along with a much greater decrease of the metabolically active VAT.

Since adipose tissue is a potent source for proinflammatory cytokine expression and secretion, the observed decrease in VAT may contribute to a decreased inflammatory process at the vascular wall, which is sustained by the significant decrease in hsCRP in the responder group. The observed decrease in sE-selectin additionally indicates the direct favourable intervention effect on the endothelium, since sE-selectin, in contrary to sI-CAM and sV-CAM, is expressed exclusively on endothelial cells, and is thereby a specific marker for endothelial cell activation.

Some other studies however, have shown the effectiveness of a lifestyle intervention on change in FMD has been shown before. But the mechanism by which lifestyle modification increases FMD remained unanswered. Balkestein et al. and Hamdy et al. [14,15] could elegantly show that weight loss was accompanied by improvement in FMD. However, visceral adipose tissue mass measurements were not available in these studies. The impact of weight reduction alone has been addressed in another study which included women with a history of gestational diabetes. The women were exposed to dietary intervention or additional therapy with Orlistat [31]. The achieved weight loss was similar in either group (~8%), but only the Orlistat-group, in which a modest reduction of LDL-cholesterol was observed, had improved FMD. Therefore, the authors concluded that the increase in FMD was attributable to the reduction of serum LDL-levels. We cannot confirm this finding in our present study, although a significant decrease in LDL-levels was found in the responder group.

A limitation of our study is that a post hoc analysis, and not a randomized controlled trial was used to investigate whether specifically a decrease in VAT, but not in TAT, was associated with improvement in FMD. On the other hand it is difficult to design a trial where for a similar decrease in TAT, differences in the decrease in VAT can be achieved.

In conclusion, our data show that decrease in VAT under lifestyle modification increases FMD already after a period as short as 9 months, independently of total weight loss. This finding supports the notion that VAT plays an important role in early functional changes of the vasculature, and provides evidence that reducing

Table 2
Vascular parameter of the groups at baseline and follow up.

	Non-responder (n = 94; f/m = 66/28)			Responder (n = 95; f/m = 54/41)			p_3 (between groups at baseline)
	Baseline Mean ± SEM	Follow up Mean ± SEM	p_1	Baseline Mean ± SEM	Follow up Mean ± SEM	p_2	
Basal diameter (mm)	3,6 ± 0,1	3,6 ± 0,1	0,32	3,8 ± 0,07	3,8 ± 0,07	0,25	0,07
FMD (%)	7,1 ± 0,4	6,4 ± 0,4	0,15	6,2 ± 0,4	8,0 ± 0,5	0,0005	0,10
GTN-dilation (%)	20,0 ± 0,8	18,5 ± 1,0	0,48	18,7 ± 0,7	19,1 ± 0,7	0,44	0,19
Intima–media thickness (mm)	0,55 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,27	0,56 ± 0,01	0,55 ± 0,01	0,13	0,51
hsCRP (mg/l)	0,19 ± 0,02	0,21 ± 0,03	0,31	0,16 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,0001	0,44
V-CAM (U/ml)	561 ± 29	566 ± 3	0,91	566 ± 27	522 ± 27	0,24	0,78
I-CAM (U/ml)	319 ± 17	335 ± 16	0,02	290 ± 16	300 ± 12	0,33	0,37
E-selectin (ng/ml)	45 ± 3	48 ± 4	0,58	54 ± 4	47 ± 3	0,03	0,02

VAT might decrease the risk of atherosclerosis in individuals prone to type 2 diabetes.

Conflict of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

Acknowledgments

This study was supported by a research grant from the German Research Foundation (Deutsche Forschungsgemeinschaft DFG-KFO 114). NS is supported by a Heisenberg-Grant from the DFG (STE 1096/1-1). This study was supported in part by a grant from the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) to the German Center for Diabetes Research (DZD e.V.).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.atherosclerosis.2010.06.042.

References

[1] Napoli C, Lerman LO, de Nigris F, et al. Rethinking primary prevention of atherosclerosis-related diseases. Circulation 2006;114:2517–27.
[2] Targher G, Bertolini L, Rodella S, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and proliferative/laser-treated retinopathy in type 2 diabetic patients. Diabetologia 2008;51:444–50.
[3] Lee S, Gungor N, Bacha F, Arslanian S. Insulin resistance: link to the components of the metabolic syndrome and biomarkers of endothelial dysfunction in youth. Diabetes Care 2007;30:2091–7.
[4] Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. Nature 2006;444:881–7.
[5] Stefan N, Kantartzis K, Haring HU. Causes and metabolic consequences of fatty liver. Endocr Rev 2008;29:939–60.
[6] Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. Endocr Rev 2000;21:697–738.
[7] Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima–media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. Circulation 1997;96:1432–7.
[8] O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. 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 1999;340:14–22.
[9] Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. Circulation 2000;101:1899–906.
[10] Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, et al. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. Circulation 2000;101:948–54.
[11] Kannel WB, Wilson P, Blair SN. Epidemiological assessment of the role of physical activity and fitness in development of cardiovascular disease. Am Heart J 1985;109:876–85.
[12] Hakim AA, Petrovitch H, Burchfiel CM, et al. Effects of walking on mortality among nonsmoking retired men. N Engl J Med 1998;338:94–9.
[13] Bijnen FC, Caspersen CJ, Feskens EJ, et al. Physical activity and 10-year mortality from cardiovascular diseases and all causes: the Zutphen Elderly Study. Arch Intern Med 1998;158:1499–505.
[14] Balkestein EJ, Aggel-Leijssen DP, van Baak MA, Struijker-Boudier HA, Van Bortel LM. The effect of weight loss with or without exercise training on large artery compliance in healthy obese men. J Hypertens 1999;17:1831–5.
[15] Hamdy O, Ledbury S, Mullooly C, et al. Lifestyle modification improves endothelial function in obese subjects with the insulin resistance syndrome. Diabetes Care 2003;26:2119–25.
[16] Lavrencic A, Salobir BG, Keber I. Physical training improves flow-mediated dilation in patients with the polymetabolic syndrome. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000;20:551–5.
[17] Maiorana A, O'Driscoll G, Cheetham C, et al. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. J Am Coll Cardiol 2001;38:860–6.
[18] Rittig K, Peter A, Baltz KM, et al. The CCR2 promoter polymorphism T-960A, but not the serum MCP-1 level, is associated with endothelial function in prediabetic individuals. Atherosclerosis 2008;198:338–46.
[19] Stefan N, Machicao F, Staiger H, et al. Polymorphisms in the gene encoding adiponectin receptor 1 are associated with insulin resistance and high liver fat. Diabetologia 2005;48:2282–91.
[20] Kantartzis K, Thamer C, Peter A, et al. High cardiorespiratory fitness is an independent predictor of the reduction in liver fat during a lifestyle intervention in non-alcoholic fatty liver disease. Gut 2008;58:1281–8.
[21] Lindstrom J, Louheranta A, Mannelin M, et al. The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): lifestyle intervention and 3-year results on diet and physical activity. Diabetes Care 2003;26:3230–6.
[22] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet 1992;340:1111–5.
[23] Joannides R, Haefeli WE, Linder L, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. Circulation 1995;91:1314–9.
[24] Wendelhag I, Gustavsson T, Suurkula M, Berglund G, Wikstrand J. Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system. Clin Physiol 1991;11:565–77.
[25] Balletshofer BM, Goebbel S, Rittig K, et al. Influence of experience on intra- and interindividual variability in assessing peripheral endothelial dysfunction by measurement of flow associated vasodilation with high resolution ultrasound. Ultraschall Med 2001;22:1–5.
[26] Machann J, Thamer C, Schnoedt B, et al. Standardized assessment of whole body adipose tissue topography by MRI. J Magn Reson Imaging 2005;21:455–62.
[27] Keogh JB, Brinkworth GD, Clifton PM. Effects of weight loss on a low-carbohydrate diet on flow-mediated dilatation, adhesion molecules and adiponectin. Br J Nutr 2007;98:852–9.
[28] Wycherley TP, Brinkworth GD, Noakes M, Buckley JD, Clifton PM. Effect of caloric restriction with and without exercise training on oxidative stress and endothelial function in obese subjects with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab 2008;10:1062–73.
[29] Clifton PM, Keogh JB, Foster PR, Noakes M. Effect of weight loss on inflammatory and endothelial markers and FMD using two low-fat diets. Int J Obes (Lond) 2005;29:1445–51.
[30] Skilton MR, Sieveking DP, Harmer JA, et al. The effects of obesity and non-pharmacological weight loss on vascular and ventricular function and structure. Diabetes Obes Metab 2008;10:874–84.
[31] Bergholm R, Tiikkainen M, Vehkavaara S, et al. Lowering of LDL cholesterol rather than moderate weight loss improves endothelium-dependent vasodilatation in obese women with previous gestational diabetes. Diabetes Care 2003;26:1667–72.

7.3 Danksagung

Mein Dank für die hilfreiche Unterstützung bei der Erstellung meiner Doktorarbeit geht an meinen Betreuer Herrn PD Dr. Kilian Rittig.

7.4 Lebenslauf

08.04.1984	Geboren in Kirchheimbolanden
1987 – 1990	Besuch des evangelischen Kindergartens in Alsenz
1990 – 1994	Besuch der Grundschule in Alsenz
1994 – 2003	Besuch des Paul-Schneider-Gymnasiums in Meisenheim
03.2003	Gymnasialabschluss mit Erhalt des Abiturzeugnisses (Notendurchschnitt 1,0)
04.2003 – 07.2003	Work and Travel durch Australien
09.2003-02.2004	internationales Studium Biotechnology an der FH Mannheim
04.2004	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität Tübingen
19.09.2006	Bestehen des Ersten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung mit der Note gut
10.2006 – 07.2009	klinischer Abschnitt des Medizinstudiums in Tübingen
2007 – 2009	Beteiligung an der klinischer Studie „Tübinger Lebensstil Interventions-Programm" (TULIP) der medizinischen Klinik Tübingen Abt. IV im Rahmen meiner Dissertation. *Publikation als Zweitautor: Rittig K, et al.:Reducing visceral adipose tissue mass is essential for improving endothelial function in type 2 diabetes prone individuals. Atherosclerosis 2010; 212(2):575-9*
04.2009 – 07.2009	Tätigkeit als Tutor des Pädiatrie Wochenpraktikums im Bereich Neonatologie an der Universität Tübingen
08.2009 – 07.2010	Praktisches Jahr an den Universitätskliniken Tübingen
03.11.2010	Abschluss des Studiums der Humanmedizin mit Bestehen des Zweiten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung mit der Note sehr gut.
01.12.2012	Assistenzärztin, Innere Medizin: Universitätsklinikum Tübingen, Medizinische Klinik, Abt. IV