

**Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz**

**Vergleich der retinalen und dermalen mikrovaskulären
endothelialen Funktion bei
Gesunden, Insulinresistenten und
Typ 2- Diabetikern**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin

der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
vorgelegt von

Michael Mitry
aus Frankfurt am Main

Mainz, 2012

Wissenschaftlicher
Vorstand:

1.Gutachter:

2.Gutachter:

Tag der Promotion: 11.12.2012

Für den Herrn Jesus,
meine Eltern Nelly und Boutros

„Der Herr ist mein Licht und mein Heil.“
(Psalm 27,1)

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und Ziel der Dissertation	1
2 Literaturdiskussion	4
2.1 Das Endothel	4
2.1.1 Die Endothelfunktion	5
2.1.2 Pathogenese und Pathophysiologie der endothelialen Dysfunktion	8
2.1.3 Bedeutung der Endotheldysfunktion	9
2.1.4 Quantifizierung der endothelialen Dysfunktion	10
2.1.5 Messung der Endothelfunktion	10
2.2 Insulinresistenz	13
2.2.1 Definition	13
2.2.2 Bedeutung	13
2.2.3 Epidemiologie	14
2.2.4 Pathophysiologie	14
2.2.5 Auswirkung auf Gefäße	15
2.2.6 Auswirkung auf Glukosestoffwechsel	17
2.2.7 Auswirkung auf den Lipidstoffwechsel	18
3 Materialien und Methoden	20
3.1 Studiendesign	20
3.1.1 Studienaufbau	20
3.1.2 Studienteilnehmer	20
3.1.3 Studienablauf	21
3.1.3.1 Screening Visite (V1)	21
3.1.3.2 Untersuchungsvisite (V2)	22
3.1.4 Bestimmung der Parameter	23
3.1.4.1 Insulin	23
3.1.4.2 Glukose	23
3.1.4.3 Hba1c	24
3.1.4.4 Glukosetoleranztest und HOMA-IR Bestimmung	24
3.1.5 Anamneseerhebung und körperliche Untersuchung	25

3.2 Messung der retinalen Endothelfunktion	25
3.2.1 Funktionsprinzip: Physikalische Grundlagen	26
3.2.2 HRF	27
3.2.3 Flickerlicht-Stimulation	28
3.2.3.1 Durchführung	29
3.2.4 Auswertung der Parameter	30
3.2.5 Reliabilität der Methode	30
3.2.6 Definition der Durchblutungsparameter	30
3.2.6.1 Blutfluss (Flow)	30
3.2.6.2 Volumen	31
3.2.6.3 Geschwindigkeit (Velocity)	31
3.2.6.4 Durchmesser und Gefäßwand zu Lumen – Verhältnis (WLR)	31
3.3 Diabetische Retinopathie und Makulopathie	32
3.3.1 Diabetische Retinopathie	32
3.3.2 Diabetische Makulopathie	33
3.3.3 Untersuchung der digitalen Funduskopie	34
3.4 Messung des dermalen Blutfluss und der Sauerstoffsättigung (O2C)	34
3.4.1 Funktionsprinzip	35
3.4.2 Methode und Messparameter	35
3.4.2.1 Parameter Blutfluss	36
3.4.2.2 Parameter SO ₂ (Sauerstoffsättigung)	37
3.4.2.3 Parameter rHb (lokale Hämoglobinmenge)	37
3.4.3 Durchführung	37
4 Ergebnisse	39
4.1 Demographische Daten	39
4.1.1 Allgemeiner Überblick	41
4.1.2 Body Mass Index	42
4.1.3 Systolischer Blutdruck	42
4.1.4 Diastolischer Blutdruck	43
4.2 Oraler Glukosetoleranztest und HOMA-IR-Index	44
4.2.1 Insulinkonzentration	44
4.2.2 Glukosekonzentration	45
4.2.3 HOMA-Score	46
4.3 Glykiliertes Hämoglobin (HbA1c)	47

4.4 Retinaler Blutfluss	48
4.4.1 Zunahme des retinalen Blutflusses	49
4.4.2 Teilung nach Insulinresistenz-Grad	50
4.5 Durchmesser und Gefäßwand zu Lumen – Verhältnis (WLR)	51
4.6 Sauerstoffsättigung und dermaler Blutfluss	52
4.6.1 Dermaler Blutfluss an oberflächlicher Haut	52
4.6.2 Muskulärer Blutfluss	53
5 Diskussion	55
5.1 Einfluss der Insulinresistenz auf die mikrovaskuläre Funktion der Retina	56
5.1.1 Erklärung für vorliegende diskrepante Ergebnisse	58
5.1.2 Limitierende Faktoren	59
5.1.3 Die Subgruppen-Berechnung nach dem Ausmaß der Insulinresistenz	60
5.1.4 Vergleich mit ähnlichen Studienergebnissen	60
5.1.5 Pathophysiologischer Ansatz der gestörten retinalen Flickerlichtreaktion	63
5.1.6 Insulinresistenz und Endotheldysfunktion	63
5.1.7 Interaktion zwischen Endotheldysfunktion und Insulinresistenz	65
5.1.8 Schlussfolgerung und offene Punkte	67
5.2 Ergebnisse der Wall to Lumen Ratio	68
5.2.1 Limitationen	69
5.3 Ergebnisse der dermalen Mikroperfusion	70
5.3.1 Schlussfolgerung	71
6 Zusammenfassung	72
7 Literaturverzeichnis	74
8 Abbildungsverzeichnis	85

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria/ Arterie
ACh	Acetylcholin
AD	Äußere arterioläre Durchmesser
ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
ADP	Adenosindiphosphat
AGE	advanced glycation end products
ASR	Achillessehnenreflex
ATP	Adenosintriphosphat
AU	arbitrary units
BMI	Body Mass Index
BSR	Bizepssehnenreflex
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
DM	Diabetes mellitus Typ 2
eNOS	endotheliale NO-Synthase
ET-1	Endothelin-1
FD	Flow/Fluss-Durchmesser
FMD	flow mediated dilatation (flow-vermittelte Vasodilatation)
GLUT-4	Glukose Transporter-4
Hb	Hämoglobin
HbA1c	Hämoglobin A1c
HDL	High-density-Lipoproteine
HOMA	Homeostasis Model Assessment
HRF	Heidelberg Retina Flowmetrie/Flowmeter
hs-CRP	High Sensitive C-reaktives Protein
Hz	Hertz
ICAM	intercellular adhesion molecules
ID	inner diameter/ innere Gefäßdurchmesser
IDF	International Diabetes Federation
IFG	impaired fasting glucose (gestörte Nüchtern-Glukose)

IGT	impaired glucose tolerance (gestörte Glukosetoleranz)
IL-6	Interleukin-6
IR	Insulinresistenz
KHK	Koronare Herzkrankheit
LD	Lumen-Durchmesser
LDL	Low-density Lipoproteine
LNNA	N-nitro-L-Arginine
MAPK	mitogenaktivierte Proteinkinase
N.	Nervus/ Nerv
NADP	Nikotindiamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Nitric Oxide Synthase
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
O ₂ C	oxygen to see
OD	outer diameter/ äußere Gefäßdurchmesser
PAI-1	Plasminogen Aktivator Inhibitor-1
PAT	periphere arterielle Tonometrie
PC	Personal Computer
PI-3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PGI ₂	Prostazyklin
PSR	Patellarsehnenreflex
rHb	lokale Hämoglobinmenge
RBF	Retinal Blood Flow (Retinaler Blutfluss)
ROS	reactive oxygen species
RNS	reactive nitrogen species
sog.	sogenannt
SBF	Skin Blood Flow (Dermaler Blutfluss)
SLDF	Scanning-Laser-Doppler-Flowmetrie
SO ₂	Sauerstoffsättigung
s.u.	siehe unten
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor α
TPS	Tissue Photo Spectrometry

u.a.	unter anderem
V.	Vena/ Vene
VCAM	vascular adhesion molecules
VLDL	Very low density Lipoproteine
vs.	versus
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor α
WHO	World Health Organisation
WLR	Wall:Lumen Ratio/ Gefäßwand zu Lumen - Verhältnis

1 Einleitung und Ziel der Dissertation

Die Diagnose Diabetes mellitus nimmt weltweit aufgrund von deutlichen Lebensstilveränderungen dramatisch zu. Man betrachtet sie derzeit als Hauptbedrohung für die Gesundheit der Bevölkerung im 21. Jahrhundert (1). Insgesamt schätzt man die Zahl diagnostizierter Diabetiker auf 150 Millionen Menschen und geht davon aus, dass sich diese Zahl in den nächsten 30 Jahren verdoppeln wird (Amos et al. 1997, King et al, 1998).

In Deutschland sind 12 % der 20- bis 79-Jährigen an Diabetes mellitus erkrankt (Angabe der International Diabetes Federation, IDF). Insgesamt sind das 7-8 % der gesamten deutschen Bevölkerung (2).

Bei dem Diabetes mellitus II handelt es sich um eine erbliche chronische Stoffwechselerkrankung, die auf einem absoluten oder relativen Mangel an Insulin beruht und in deren Folge schwerwiegende Schäden an Blutgefäßen und am Nervensystem auftreten können (3).

Diese Gefäßschäden werden als Angiopathien bezeichnet und in unspezifische Makroangiopathien und in diabetesspezifische Mikroangiopathien unterteilt. 80 % aller Diabetiker versterben schließlich infolge dieser Angiopathien an einem kardiovaskulären Ereignis: Myokardinfarkt oder Apoplex. Erkrankungen des kardiovaskulären Systems stellen auch insgesamt in der Bevölkerung Deutschlands die Haupttodesursache dar (3,4).

Als entscheidender pathophysiologischer Mechanismus für die hohe kardiovaskuläre Morbidität bei Diabetikern gilt die sogenannte endotheliale Dysfunktion, also eine folgenschwere Veränderung der normalen Gefäßfunktion (Endothelfunktion). Zusammen mit der Insulinresistenz – d.h. dem verminderten Ansprechen der Körperzellen auf Insulin - spielen beide Faktoren eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose und gelten damit als wichtige Vorboten von mikro- und makrovaskulären Komplikationen.

Die Insulinresistenz ist eng mit der Endotheldysfunktion verknüpft, genauer gesagt gilt die Endotheldysfunktion als ein wesentliches Merkmal in der Phase der

Insulinresistenz, dem sog. „Prädiabetes“, bei dem sich im Verlauf eine gestörte Glukosetoleranz entwickelt (5,6).

Die Insulinresistenz kann der Manifestation des Typ 2-Diabetes bereits um Jahre vorausgehen. In dieser Zeit fördert sie die Entstehung atherosklerotischer Veränderungen, so dass bei vielen Typ 2-Diabetikern bereits zum Diagnosezeitpunkt irreversible Gefäßschäden vorliegen.

So kommt es im Stadium der Insulinresistenz zu erhöhten Konzentrationen des intakten Proinsulins, dem Vorläufermolekül des Insulins, einem Risikofaktor der koronaren Herzerkrankung (7). Er gilt als hochspezifischer Marker der Insulinresistenz.

Aufgrund der schwerwiegenden Folgen des Diabetes mellitus, wäre eine Darstellung der endothelialen Dysfunktion und somit frühfunktioneller Veränderungen entscheidend, da sie schon lange vor pathomorphologischen Veränderungen im Gefäßsystem nachweisbar ist.

Unter der Vorstellung, dass die endotheliale Dysfunktion einen Marker der beginnenden Atherosklerose darstellt, kann man sich mittlerweile einiger nichtinvasiver Untersuchungsmethoden zunutze machen und dadurch auch sehr frühe Phasen der Atherosklerose erfassen.

Eine der neueren Verfahren zur Messung der Endotheldysfunktion ist das Laser-Scanning-Verfahren der retinalen Gefäße, der sog. Laser-Doppler-Flowmetrie, welche einen wesentlichen Bestandteil dieser wissenschaftlichen Arbeit darstellt.

Ein Vergleich der retinalen Endothelfunktion als Zeichen des mikrovaskulären Blutflusses zwischen insulinresistenten Patienten, Typ 2-Diabetikern und Gesunden kann helfen, den wichtigen Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und Angiopathien besser zu verstehen und bessere diagnostische Möglichkeiten zur Früherkennung von Gefäßveränderungen sowie frühzeitige präventive Maßnahmen zu einzuleiten.

Ziel der Studie

Das Ziel dieser Studie ist der Vergleich der mikrovaskulären endothelialen Funktion zwischen übergewichtigen Insulinresistenten und Typ 2- Diabetikern mit einer gesunden Kontrollgruppe.

Hierbei stand die Erforschung von frühen morphologischen und funktionellen pathologischen Veränderungen der retinalen als auch der dermalen Mikrozirkulation im Vordergrund.

Weitere Parameter, die in den 3 Studiengruppen mit der dermalen und retinalen endothelialen Funktion verglichen wurden, waren der HOMA-IR-Wert, die Glukose- und Insulinkonzentration im Rahmen des oGTT (oraler Glukosetoleranztest) sowie der HbA1c-Wert.

Bisherige Studien über den retinalen Blutfluss zeigten teilweise widersprüchliche Ergebnisse. Während über einen herabgesetzten retinalen Blutfluss und retinale arterielle Blutflussgeschwindigkeiten bei Patienten mit früher nicht-proliferativer diabetischer Retinopathie berichtet wurde, dokumentieren andere Autoren einen erhöhten retinalen Blutfluss bei fortgeschrittener nicht-proliferativer diabetischer Retinopathie und proliferative diabetische Retinopathie im Vergleich zu Nicht-Diabetikern.

Wir beabsichtigten mit dieser Studie diesen Sachverhalt zu klären sowie Daten über den retinalen mikrovaskulären Blutfluss bei Insulinresistenten und Typ 2- Diabetikern im Vergleich mit altersentsprechenden Gesunden zu erhalten.

2 Literaturdiskussion

2.1 Das Endothel

Als Endothel bezeichnet man eine Einzelschicht aus Zellen, die alle Gefäße des Körpers auskleidet. Sie grenzt die funktionelle Gefäßmuskelschicht vom Blutstrom ab, bildet somit also die innerste Schicht der Blutgefäße. Die lumenseitige Gefäßoberfläche umfasst ein bedeutsames Oberflächenareal: sie wird bei einem etwa 70 kg schweren Menschen auf 700 m² und das Gewicht auf circa 1000 bis 1500 g geschätzt (8).

Histologisch (siehe Abbildung 2.1) setzt es sich aus nur einer Schicht Zellen zusammen, einem dünnen, zumeist einschichtigem platten Epithel, dass das Endothelrohr bildet. Außen anliegend liegt die Basalmembran (Grenzmembran), ein dünnes hyalines Häutchen, das glasig durchsichtig ist. Sie besteht aus Glykoprotein, umhüllt das Endothelrohr und mit einem äußeren Blatt die Perizyten (kontraktile Zellen).

Aufgrund des direkten Kontaktes mit dem zirkulierenden Blut stellt das Endothel eine kritische Grenzschicht zwischen dem Blut und dem Gewebe dar (6).

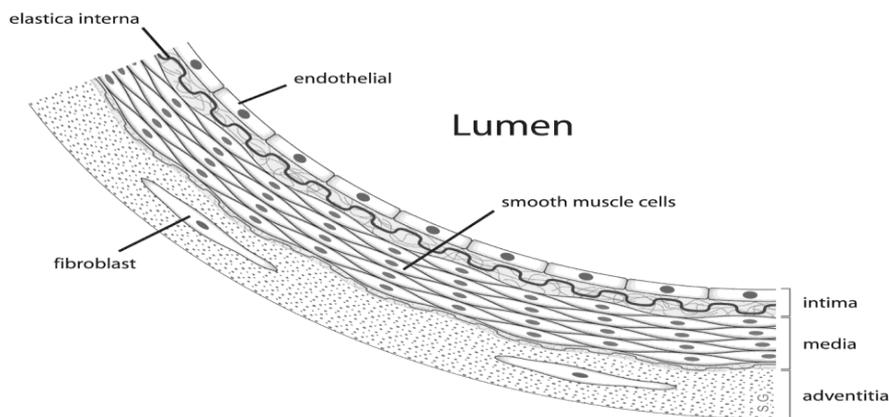


Abbildung 2.1 Schnitt durch ein Segment eines Blutgefäßes

2.1.1 Die Endothelfunktion

Die Gefäßendothelzellen bilden ein einfaches aber funktionelles Organ, welches die unterschiedlichsten biologischen Prozesse reguliert.

Die Funktionen der Gefäße und die Rolle des entsprechenden Endothels unterscheiden sich abhängig von der Lokalisation. Das Endothel übt dabei eine Wirkung auf den Gefäßtonus und die Vasomotorik aus; insgesamt kann man diese in drei Gefäßgruppen unterteilen:

Bei den großen Arterien, zu denen die Aorta, die Karotiden, die Koronar-, Brachial- und die Femoralgefäße gehören, bildet das intakte Endothel eine glatte und ruhige Oberfläche, die einer koagulativen und proinflammatorischen Aktivität entgegenwirkt. Es blockiert außerdem den Transport von Apo-B 100-enhaltenden atherogenen Lipidpartikeln in die Arterienwand. Zudem hemmt es die Freisetzung von Chemokinen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren und verhindert die Adhäsion von Thrombozyten und Monozyten in das Endothel.

Als weitere Gruppe regulieren die Endothelzellen der Widerstandsgefäße den Blutfluss und den systemischen Blutdruck.

Als letzte Gruppe spielt das Endothel der präkapillären Arteriolen und Kapillaren eine Rolle im Transport und in der Verteilung von Nährstoffen und Hormonen, zu denen auch Glukose, Fette und Insulin gehören. Außerdem hat es die Aufgabe Stoffwechselendprodukte zu entsorgen (6).

Der Einfluss des Endothels auf den Gefäßtonus und die Vasomotorik wird hervorgerufen, indem es den lokalen Tonus einerseits durch Freisetzung endogener vasoaktiver Substanzen (Mediatoren) mit para- bzw. autokrinen Effekten (Autakoide) reguliert (9). Dazu gehören Vasodilatoren wie Stickstoffmonoxid (NO) und Prostazyklin (PGI₂) sowie Vasokonstriktoren wie das Peptid Endothelin.

Des Weiteren bildet die Wirkung vasoaktiver Substanzen im Blut durch Aufnahme in die Zelle und anschließender Metabolisierung eine weitere wichtige Säule in der Regulation des lokalen Tonus. Es werden zum Beispiel Serotonin und Noradrenalin durch einen aktiven Transportmechanismus in die Endothelzelle befördert und dort anschließend desaminiert. Das Endothel ist außerdem an der Verstoffwechslung der Adeninnukleotide (ATP und ADP) beteiligt.

Das Zusammenspiel zwischen vasokonstriktorisches und vasodilatatorischen Faktoren mit dem Ziel einer Balance, spielt bei der Stabilisierung des normalen Gefäßtonus eine entscheidende Rolle.

Folglich bezeichnet man das Endothel auch als Schlüssel der vaskulären Gesundheit.

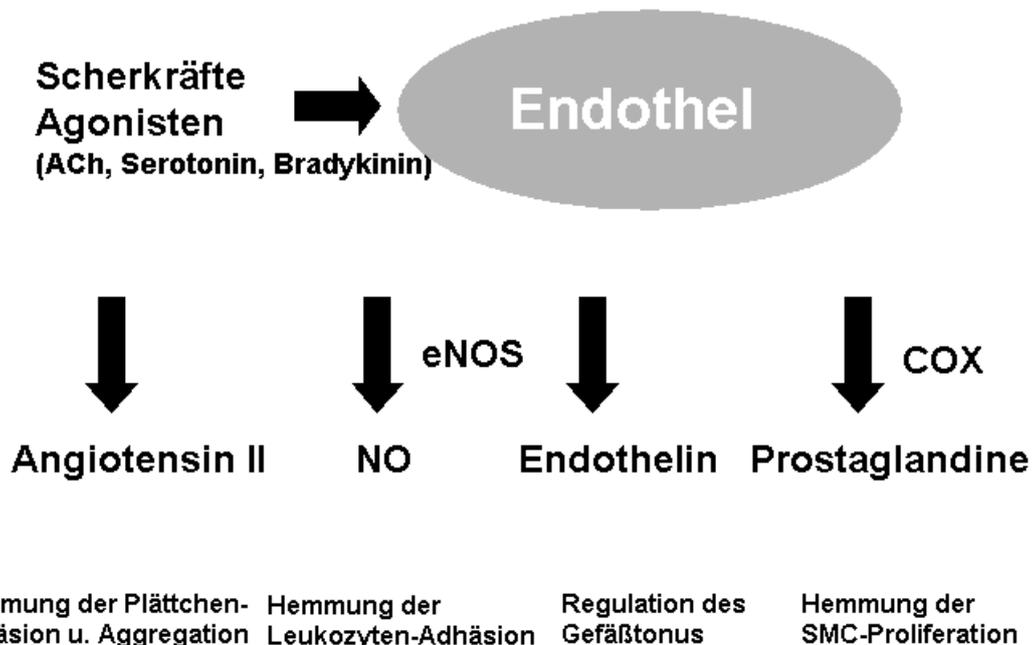


Abbildung 2.2 Die vielseitigen Funktionen der Endothelzellen

Die Aufgaben intakter endothelialer Zellen liegen in der Vasodilatation, Hemmung der Thrombozyten- und Monozytenaggregation und Hemmung der Proliferation glatter Muskelzellen und Fibroblasten.

Unter physiologischen Ruhebedingungen kommt der endothelialen NO-Produktion - und Sekretion eine entscheidende vasodilatatorische und vasoprotektive Funktion zu. Wie in Abbildung 2.2 dargestellt, wird in der Endothelzelle NO als Antwort auf verschiedene Reize durch ein spezifisches Enzymsystem, der endothelialen NO-Synthase (eNOS), sezerniert. Bei den Reizen handelt es sich einerseits um intraluminale Scherkräfte sowie andererseits um die Wirkung bestimmter physiologischer Stimuli durch neurohumorale Faktoren wie Acetylcholin, Bradykinin, Serotonin und Substanz P. NO hat eine stimulierende Wirkung auf die Guanylatzyklase der glatten Gefäßmuskulatur und regt damit die Bildung von cGMP

an, so dass es anschließend zur Vasodilatation führt. Hierbei können auf Endothelzellebene zahlreiche Faktoren die endotheliale NO-Produktion entweder stimulieren (Insulin, C-Peptid, Ischämie etc.) oder inhibieren ADMA (asymmetrisches Dimethylarginin), N-nitro-L-Arginine (L-NAME) etc. (7). Obwohl nur kurz wirksam ist NO der einflussreichste Vasodilatator der glatten Muskelzellen, es besitzt eine Halbwertszeit von 3-20 Sekunden (10).

Neben der beschriebenen direkt relaxierenden und antiproliferatorischen Aktivität auf die glatte Gefäßmuskulatur weist NO noch eine Reihe weiterer wichtiger vasoprotektiver Eigenschaften wie die Hemmung der Thrombozytenaggregation und der Leukozytenadhäsion, die Hemmung der Lipidperoxidation sowie die Aktivierung der Fibrinolyse auf.

Zu erwähnen ist hier, dass das Pankreashormon Insulin auch eine hämodynamische Wirkung auf das Endothel ausübt. In Abhängigkeit von der Konzentration im Gefäßsystem ruft es entweder vasodilatatorische und gefäßprotektive oder aber auch vasokonstriktive und proliferationsfördernde Effekte auf die Gefäßwand aus (7). Damit verbunden sind auch unterschiedliche Signaltransduktionswege: so führt die Aktivierung des PI-3-Kinase-Weges zur Aktivierung der NO-Synthase mit folgender vasodilatatorischer Wirkung und damit zur Steigerung des Blutflusses. Im Gegensatz dazu führt der mitogenaktivierte (MAP)-Kinaseweg am Endothel zu einer Sekretion des Vasokonstriktors Endothelin-1 (11,12).

Vom Endothel wird außerdem das vasodilatatorisch wirkende Prostazyklin sezerniert, welches zur Untergruppe der Prostaglandine gehört. Es wirkt, wie das NO, ebenfalls antiaggregatorisch mittels Aktivierung der Adenylatcyclase und einem Anstieg des cAMP-Spiegels in Thrombozyten. Aufgrund dieser Funktion, ist Prostazyklin ein Thromboxanantagonist, denn das in den Thrombozyten gebildete Thromboxan A₂ induziert die Plättchenaggregation durch einen Abfall der cAMP-Konzentration und agiert so bei der Hämostase.

Eine ausgeglichene Balance von Thromboxan und Prostazyklin ist somit für Aggregation und Antiaggregation der Thrombozyten äußerst wichtig.

Das vom Endothel produzierte, vasokonstriktorisch wirkende Endothelin liegt als Peptid in drei Isoformen vor, wobei hier das Endothelin-1 wichtig ist. Dieses setzt über einen ET-Rezeptor die G-Protein gekoppelte Phospholipase C in Gang, die über eine Kaskade den Calciumspiegel erhöht und so den Gefäßtonus reguliert.

Unter physiologischen Bedingungen wird Endothelin-1 nur in geringen Konzentrationen sezerniert, wohingegen eine endotheliale Dysfunktion zu pathophysiologischen Verhältnissen führen kann und somit eine Erhöhung der Endothelinkonzentration resultiert. Dies ist unter anderem bei Patienten mit Atherosklerose und Hypertonie zu beobachten.

2.1.2 Pathogenese und Pathophysiologie der endothelialen Dysfunktion

Die endotheliale Dysfunktion als begleitende Komponente der Insulinresistenz ist charakterisiert durch die Unfähigkeit des Gefäßendothels, die physiologischen Mechanismen zur Regulation des Gefäßradius, der Blutgerinnung, der Produktion antiinflammatorischer Zytokinen oder der morphologischen Regulation der Gefäße in einer adäquaten Weise zu leisten (Gimbrone, Cybulsky et al. 1995). Dabei ist es wichtig festzuhalten, dass diese frühfunktionellen Veränderungen des Gefäßtonus und der Vasomotorik den morphologischen Veränderungen vorausgehen, weshalb die Endotheldysfunktion ein wichtiges Frühereignis der Atherosklerose darstellt (9). Eine vaskuläre Endotheldysfunktion kann an irgendeiner Ebene im arteriellen System auftreten (6).

Zahlreiche Studien belegten nicht nur die Assoziation der Insulinresistenz mit der endothelialen Dysfunktion, sondern dass das vaskuläre Endothelium hohen Spiegeln von Glukose, freien Fettsäuren sowie inflammatorischen Substanzen ausgesetzt ist und von einer reduzierten NO-Bioverfügbarkeit begleitet wird (13,14,15,16). Diese Beobachtungen stützen die Theorie, dass die endotheliale Dysfunktion sowohl als Ursache aber auch als Folge metabolischer Störungen im Stadium der Insulinresistenz zu betrachten ist.

Die Dysfunktion geht mit einer verminderten Fähigkeit des Endothels einher, auf einen Reiz hin mit einer adäquaten NO-Freisetzung zu reagieren. Der Mangel des Vasodilatators NO führt folglich zu einer erhöhten Produktion der Vasokonstriktoren, einschließlich Endothelin-1 (ET-1) und Angiotensin II, und ist von einer gestörten Regulation der Inflammation, Thrombozytenaggregation und des Zellwachstums in der Gefäßwand charakterisiert. Schließlich kommt es zu einem Vasospasmus und zu einer gesteigerten arteriellen Steifheit (17).

Der Mangel an NO ist folgendermaßen bedingt: Die im Rahmen der Insulinresistenz gesteigerte Lipolyse mit konsekutiver Hypertriglyzeridämie sowie die transiente Hyperglykämie triggern inflammatorische Reaktionen, die zu einer Adhäsion von Monozyten und Lymphozyten führt. Ebenso führt das vermehrte Vorkommen von Glukose und freien Fettsäuren in den glatten Muskelzellen und dem umgebenden inflammatorischem Milieu zu einer exzessiven Bildung von toxischen ROS und RNS (Superoxidanionen, Peroxide, Peroxynitrite etc.), die zu den freien Radikalen gehören. Sie spielen eine entscheidende Rolle bei dem durch Hyperglykämie induzierten oxidativem Stress, indem sie weitere hämodynamische und metabolische Schäden hervorrufen (18,19). NO wird nun in seiner vasoprotektiven, antioxidativen und antiproliferativen Wirkung vermehrt gebildet. Dabei entsteht zytotoxisches und proatherogen wirkendes Peroxynitrit, welches die Zellapoptose begünstigt.

Der vermehrte Verbrauch von NO während der Neutralisierung des oxidativen Stresszustandes führt zu dem beschriebenen NO-Mangel und der daraus resultierenden verringerten endothelial – mediitierten Vasodilatation (6,10,11).

Schließlich begünstigt die endotheliale Dysfunktion die Adhäsivität der Gefäßwand für Leukozyten, die Rekrutierung und Transformation von Monozyten zu Schaumzellen, die Inflammation und letztendlich die Ausbildung von Gefäßwandplaques. Zusätzlich verstärkt sie den transendothelialen Transport von atherogenen Lipoproteinen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Abnahme der Bioverfügbarkeit des NO und die vaskuläre Sauerstoffradikalproduktion, die auffälligsten Ereignisse der endothelialen Dysfunktion sind.

2.1.3 Bedeutung der Endotheldysfunktion

Die Endotheldysfunktion tritt wie oben beschrieben nicht erst bei manifester Atherosklerose, sondern bereits bei Vorhandensein von kardiovaskulären und renalen Risikofaktoren und deren konsekutiven Erkrankungen auf. Dazu gehören der Diabetes mellitus - mit den beiden pathophysiologischen Störungen Hyperinsulinämie und Insulinresistenz - , arterielle Hypertonie, Adipositas, Herz- und Niereninsuffizienz und familiäre Belastung (20).

In der Progression der koronaren Herzerkrankung wird die koronare Endotheldysfunktion als wichtiger Schrittmacher der koronaren Atherosklerose

verstanden und besitzt gleichzeitig einen hohen prädiktiven Wert für das Auftreten zukünftiger kardiovaskulärer Ereignisse.

2.1.4 Quantifizierung der endothelialen Dysfunktion

Eine intakte endotheliale Funktion ist zur Aufrechterhaltung eines adäquaten Gefäßtonus und somit auch zur Balance zwischen vasokonstriktorisches und vasodilatatorischen Faktoren unerlässlich.

Falls diese im Rahmen der endothelialen Dysfunktion durch die unterschiedlichsten Ursachen gestört sein sollte, geht die Fähigkeit der endothelabhängigen Vasodilatation verloren.

Von der endothelabhängigen wird die endothelunabhängige Vasodilatation unterschieden. Letztere wird durch exogenes NO, wie zum Beispiel medikamentös als Nitrat, hervorgerufen und bewirkt eine direkte Relaxation der glatten Muskulatur.

Ist die endothelunabhängige Vasodilatation reduziert, kann man Rückschlüsse auf die endogene Endothelfunktion ziehen. Dieses macht man sich bei der Diagnostik zur Darstellung der endothelialen Dysfunktion zunutze. Nachdem bisher in vielen Studien aufwändige und invasive Endothelfunktionsmessungen durchgeführt wurden und es auch durch biochemische und molekularbiologische Marker nicht gelungen war, die Endothelfunktion zufriedenstellend zu präsentieren, rücken zunehmend mehr die einfacheren nicht-invasiven Methoden (Ultraschall, Laser etc.) ins wissenschaftliche Blickfeld.

2.1.5 Messung der Endothelfunktion

Die Tatsache, dass frühfunktionelle Veränderungen des Gefäßtonus und der Vasomotorik den morphologischen Veränderungen in der Atherogenese vorausgehen, macht den frühestmöglichen Nachweis der endothelialen Dysfunktion deutlich (9). Hierbei wird die endothelabhängige Vasodilatation als Marker für die Endothelfunktion gemessen, welcher sich dafür sehr hervorragend eignet.

Das Prinzip der Untersuchung besteht in der Messung der vasodilatatorischen Antwort, die durch eine transiente Ischämie provoziert wird. Diese ist von neurologischen, myogenen und chemischen Faktoren, einschließlich der Freisetzung und der ausreichenden Verfügbarkeit von NO, abhängig (6).

Die endotheliale Dysfunktion lässt sich invasiv, nicht-invasiv und ex vivo messen.

Zu den invasiven Methoden gehört die Bestimmung der koronaren Endothelfunktion durch intrakoronare Gabe des Parasympathomimetikums Acetylcholin (ACh), dem bisherigen Goldstandard. Hierbei wird Acetylcholin in steigender Dosis infundiert und schließlich die Änderung des Lumendiameters mittels Angiographie gemessen. Die dadurch induzierte Aktivierung der eNOS führt zur NO-Bildung und schließlich zur Vasodilatation, vorausgesetzt es handelt sich um intaktes Endothel. Bei pathologischen Zuständen (Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie) kommt es zu einer abnormalen Vasokonstriktion und zu einer reduzierten blutfluss-induzierten Vasodilatation. Nachteile dieser Methode sind außer der Invasivität, die hohen Kosten.

Weitere invasive Methoden sind plethysmographische Bestimmungen oder auch die Bestimmung der vasodilatatorischen Antwort mittels Dopplerflussmessung nach intraarterieller Methacholininfusion (21).

Eine weitere Möglichkeit ist die Gabe von Vasodilatoren, wie z. Bsp. Nitrate oder Natrium-Nitroprussid, welche direkt eine Relaxation der vaskulären glatten Gefäßmuskulatur induzieren und unabhängig vom Endothel und auch in Abwesenheit von NO wirken. Dadurch ist eine Unterscheidung zwischen endothelabhängiger und endothelunabhängiger vasodilatatorischer Antwort möglich.

Nicht-invasive Verfahren wurden bereits 1992 durch Celermajer et al. beschrieben: dabei wurde ebenfalls die flussabhängige Vasodilatation (z. Bsp. der A. brachialis) als Parameter für die endotheliale Dysfunktion erfasst. Die Darstellung erfolgte sonographisch, noch bevor morphologische Veränderungen im Gefäßsystem nachgewiesen wurden (9).

Eine verbreitete nicht-invasive Methode zur Bestimmung der Endothelfunktion ist die Messung der fluss-vermittelten Vasodilatation (FMD = „flow mediated dilatation“) der A. brachialis. Hierbei wird sonographisch der Durchmesser der A. brachialis gemessen, anschließend mittels einer konventionellen Blutdruckmanschette ein suprasystolischer Druck ausgeübt, was beim Lösen deutliche Scherkräfte am Endothel hervorruft. Die daraufhin folgende Freisetzung von NO führt bei intaktem Endothel zu einer lokalen Vasodilatation. Die Endothelfunktion wird schließlich durch

das Ausmaß der scherkraft-induzierten Zunahme des Gefäßdurchmessers im Vergleich zum Ruhezustand abgebildet (11).

Ein neues Verfahren zur Messung der Endothelfunktion ist die periphere arterielle Tonometrie (PAT), eine Form der Okklusionsplethysmographie. Auch hier wird durch eine suprasystolische Oberarmkompression ein Stimulus ausgelöst. Die Messung der NO-abhängigen Vasodilatation erfolgt plethysmographisch an den Fingern. Vorteil gegenüber der FMD-Methode ist die Untersucherunabhängigkeit.

Zunehmend wendet man mittlerweile auch Laserdoppler-basierte Technologien an, bei denen es möglich ist, den endothelialen Blutfluss in der Haut zu messen.

Eine Herausforderung stellte dann die laserbasierte Abbildung der endothelialen Funktion retinaler Gefäße dar (22). Der große Vorteil liegt darin, dass der retinale Kreislauf als Spiegelbild morphologisch und funktionell dem zerebralen Gefäßsystem aufgrund des gemeinsamen Ursprungs, der A. carotis interna, entspricht.

Mittels der direkten Funduskopie war es bereits möglich die Morphologie des Augenhintergrundes zu visualisieren.

Während der letzten Jahre entwickelte sich dann schließlich das Scannen der Retina mithilfe eines Laserdopplers (sog. Scanning Laser Doppler Flowmetrie) als ein Verfahren um den mikrovaskulären Blutfluss der Retina zu messen. Dabei wurde ein stimulierendes Verfahren („flickerndes Licht“) etabliert: durch die Anwendung von flickerndem Licht auf die Retina erhöht sich der retinale Blutfluss mittels einer Stimulation der endothelialen NO- Freisetzung. Laserdoppler Scanning vor (basal) und nach der Anwendung des flickernden Lichtes kann schließlich zur Untersuchung der mikrovaskulären endothelialen Funktion des Auges genutzt werden.

Hierbei ist hervorzuheben, dass die Notwendigkeit einer solchen nicht- invasiven und reproduzierbaren Anwendungsmöglichkeit als Screeningverfahren zur Atherosklerose-Früherkennung und Primärprävention durch unterschiedlichste Studien belegt ist (9). Der Zusammenhang zwischen kausalpathogenetischen Faktoren der Atherosklerose und der endothelialen Dysfunktion konnte in diesen Studien nachgewiesen werden. Zu diesen Faktoren gehören das Alter (23), eine

bestehende Hypercholesterinämie (24), die arterielle Hypertonie (25) und der Diabetes mellitus (26).

Ferner gibt es als letztes noch die Möglichkeit der Laborbestimmung von zirkulierenden Konzentrationen oxidativer Produkten und Markern der endothelialen Schädigung und Inflammation. Dazu gehören z. Bsp. die vaskulären und interzellulären Adhäsionsmoleküle (VCAM und ICAM), ADMA, Nitrotyrosin, cGMP, hs-CRP, Tumor Nekrose Faktor α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) und Endothelin-1. Mit ihnen kann eine indirekte Aussage über die Aktivität und des Grades der Beteiligung des vaskulären Endothels und dessen umgebenden Gewebe im atherosklerotischen Prozess getroffen werden.

Die direkte Messung der NO-Konzentration ist jedoch aufgrund der sehr kurzen Halbwertszeit von 3-20 Sekunden sehr schwierig.

2.2 Insulinresistenz

2.2.1 Definition

Mit der Insulinresistenz wird eine mangelnde Wirkung des Insulins am peripheren Zielgewebe bezeichnet. Sie besteht oft schon lange vor der Manifestation des Typ - 2-Diabetes.

Die Folge ist eine verminderte Glukoseaufnahme in den Muskel und in das Fettgewebe sowie eine gesteigerte hepatische Glukoneogenese. Die verminderte Insulinwirkung beantwortet der Organismus durch eine kompensatorische Hyperinsulinämie. Es entsteht eine generalisierte Stoffwechselstörung, in deren Verlauf sich eine Hyperglykämie, erhöhte Spiegel an freien Fettsäuren (Dyslipidämie) sowie inflammatorische Zustände mit vaskulären Schäden (Endotheldysfunktion) entwickeln, die erst nach vielen Jahren in einen Typ 2- Diabetes münden. Die Insulinresistenz und die Endotheldysfunktion sind in diesem Rahmen eng mit dem metabolischen Syndrom assoziiert.

2.2.2 Bedeutung

Mittlerweile ist hinreichend belegt, dass die Insulinresistenz für das hohe Erkrankungs- und Sterblichkeitsrisiko beim Typ 2 – Diabetes verantwortlich ist (27).

Das Vorliegen einer Insulinresistenz erhöht die kardiovaskuläre Mortalität um das 6-fache (28). Sie gilt heute als eigenständiger kardiovaskulärer Risikofaktor, welcher mit einer Hyperglykämie, einer Hypertonie, einer Dyslipidämie, Adipositas, Gerinnungsstörungen und der Entstehung einer Atherosklerose verknüpft ist.

2.2.3 Epidemiologie

Die Insulinresistenz tritt in der allgemeinen erwachsenen Bevölkerung mit einer hohen Prävalenz von etwa 10-25% auf. In den USA beträgt die Prävalenz bei den 60-69-Jährigen bei 43 % (29).

Sie ist eng mit Übergewicht verknüpft; hierbei nahm die Prävalenz in den meisten westlichen Ländern in den letzten 15 Jahren um 20 % zu.

Innerhalb der Gruppe der Typ-2-Diabetiker beträgt die Prävalenz für Insulinresistenz 83,9 % (30). Patienten mit einem metabolischen Syndrom waren in epidemiologischen Untersuchungen zu 95,2 % insulinresistent (31). 42,1% dieser Patienten waren übergewichtig.

Doch nur ein Teil der Insulinresistenten entwickelt in der Folge einen Typ-2-Diabetes, wobei dies aus pathophysiologischer Sicht hauptsächlich mit der Funktionsfähigkeit der β -Zellen zusammenhängt.

2.2.4 Pathophysiologie

Es gibt mehrere pathophysiologische Faktoren der Insulinresistenz. Dazu gehört die Adipositas mit erhöhter viszeraler Fettgewebsmasse und erhöhter Fetteinlagerung in Leber und Skelettmuskel (28). Hinzu kommen zusätzlich genetische determinierte Veränderungen der Insulinrezeptoren, eine Verminderung der Anzahl der Rezeptoren an der Zelloberfläche sowie Defekte der Transduktion des Insulinsignals mit anschließender Down-Regulation der Isoform-A des Insulinrezeptors (32,33,34).

Der Nachweis, dass die Akkumulation von intraabdominalem viszeralem Fett deutlich mit dem Auftreten der Insulinresistenz und der KHK assoziiert ist, unterstreicht die Rolle des Fettgewebes als endokrin aktives Organ in der Entwicklung der Insulinresistenz (35,36,37). Die Sekretion bestimmter Adipokine (z. Bsp. Adiponektin, Leptin) oder Zytokine (TNF- α) interagieren hier komplex mit dem Insulinzielgewebe und stören die Signaltransduktion des Insulinrezeptors.

Jedoch entwickeln immerhin 80 % der adipösen Menschen trotz Insulinresistenz keinen manifesten Diabetes mellitus, so dass die Insulinresistenz nicht die primäre Ursache des Typ 2-Diabetes darstellt. Erst ein zusätzliches Vorliegen einer der oben beschriebenen genetische Defekte der Insulinsekretion führt schließlich zur Manifestation einer Hyperglykämie (32,38,39). So legten in einer Studie von Kirchhoff et al. Ergebnisse nahe, dass genetische Polymorphismen der Allele TCF7L2, CDKAL1 und SLC30A8 mit einer Betazellfunktionsstörung assoziiert sind. Bei Variationen auf diesen Genen konnte eine verminderte Insulinsekretion als auch eine Verschlechterung der Konversion von Proinsulin zu Insulin festgestellt werden (40).

Als Folge der Hyperglykämie kommt es zu einer kompensatorischen Hyperinsulinämie um den Glukosespiegel im Normbereich zu halten. Viele Menschen mit nachweisbarer Insulinresistenz sind auch noch in der Lage, den erhöhten Insulinbedarf durch eine verstärkte Insulinausschüttung zu kompensieren und den Glukosespiegel so im Normbereich zu halten. Bei ca. einem Drittel der Patienten kommt jedoch die erwähnte zusätzliche Fehlfunktion der β -Zellen hinzu, woraufhin die Insulinsekretion nicht weiter gesteigert werden kann. Diese Phase ist gekennzeichnet durch postprandiale Blutzuckerspitzen, man spricht vom Stadium der gestörten Glukosetoleranz (IGT=impaired glucose tolerance). Dabei werden zunächst Störungen der Insulinsekretion in der prandialen und später in der postprandialen und der Nüchternphase beobachtet (41).

Der Defekt der β -Zellen kann im weiteren Verlauf in ein Sekretionsversagen münden. Insulinresistenz und Insulinsekretionsstörung beeinflussen sich in diesem Stadium gegenseitig. Einige Studien belegen (Eriksson J 1989, Warram J. 1990), dass die Insulinresistenz selbst eine Sekretionsstörung nach sich zieht.

2.2.5 Auswirkung auf Gefäße

Die Insulinresistenz hat einen direkten Einfluss auf das Gefäßendothel und spielt eine entscheidende Rolle bei der Entstehung makro- und mikrovaskulärer Komplikationen.

Jedoch ist die Rolle der Endotheldysfunktion im Zusammenhang mit der Insulinresistenz trotz umfangreicher Forschung noch nicht vollständig verstanden. Insbesondere die Frage, ob die Endotheldysfunktion Folge oder Ursache all der

Veränderungen im metabolischen Syndrom darstellt, kann noch nicht eindeutig beantwortet werden.

Zum einen ist die vaskuläre Schädigung durch eine Hyperglykämie als auch durch Erhöhung der freien Fettsäuren bedingt, welche einen negativen Einfluss auf die Insulinsekretion haben. Zum anderen spielt die reduzierte NO-Bioverfügbarkeit eine wesentliche Rolle (10). In diesem Zusammenhang sind die oben beschriebenen Faktoren wie Zytokine, inflammatorische Vorgänge, Endothelin-1, das Renin-Angiotensin-System und oxidativer Stress ebenfalls an der Entwicklung der Endotheldysfunktion beteiligt.

Die Insulinresistenz ist durch eine signifikante Verschlechterung der endothelabhängigen Vasodilatation gekennzeichnet (5,42). Dies führt zum Überwiegen der vasokonstriktorisches Kräfte, zur Proliferation der glatten Gefäßmuskulatur sowie zur Thrombozytenaggregation. Dabei korrelieren die funktionellen Störungen des Gefäßendothels signifikant mit dem Vorliegen einer Insulinresistenz.

Insbesondere die Hyperglykämie stellt ein entscheidendes Merkmal der vaskulären endothelialen Dysfunktion dar. Man konnte in einer Studie nachweisen, dass diese die mikrovaskuläre vasodilatatorische Reserve negativ beeinträchtigt, welche wiederum mit der Insulinsensitivität invers korreliert (43).

Es werden nun die wesentlichen Mechanismen der endothelialen Dysfunktion erörtert:

NO-Wirkung:

Die Vorstellung, dass die verminderte endothel- medierte NO-Freisetzung für die Endotheldysfunktion verantwortlich ist, wurde in mehreren Studien zur Untersuchung von Koronararterien bewiesen. Dabei wurde eine abnormale vaskuläre Reaktion der peripheren Arterien aufgrund der insuffizienten Verfügbarkeit von NO bestätigt (42, 44,45). Zusätzlich gibt es mehrere experimentelle Befunde, die einen Zusammenhang zwischen der Insulinresistenz und Endotheldysfunktion darlegen. So konnte eine gute Korrelation zwischen Insulinsensitivität und basaler NO-Produktion nachgewiesen werden (46). Auch bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren, aber angiographisch unauffälligen Koronarien konnte eine Störung der endothelabhängigen koronaren Vasodilatation festgestellt werden, welche mit der

Insulinresistenz korreliert (47). Selbst bei gesunden erstgradigen Verwandten von Typ 2-Diabetikern ist eine Endotheldysfunktion nachweisbar (48).

Grund für die mangelnde NO-Bioverfügbarkeit ist zum einen der verstärkte NO-Verbrauch, welcher durch die Reaktion von NO mit ROS und RNS (freie Radikale) zu erklären ist. Diese fallen durch intrazelluläre Defekte im insulin-vermittelten Glukose – und Lipid-Stoffwechsel an. Zum anderen liegt eine verminderte Wirkung der NO-Synthese vor. Durch den NO-Mangel bedingt kommt es zu einer gesteigerten transkapillären Gefäßwandpermeabilität und zu einer verminderten Kapillarausdehnung mit konsekutiv vermindertem Blutfluss (49). Diese verschlechtern wiederum – im Sinne einer negativen Rückkoppelung - den insulin-vermittelten Glukose – und Lipid-Stoffwechsel.

Insulinsignal-Wirkung:

Hinzu kommt die Tatsache, dass die Hyperinsulinämie ein Ungleichgewicht der Insulinsignalwirkung zwischen dem PI-3- und MAP-Kinase-Weg hervorruft, welches zur Überaktivierung des MAPK-Weges und Blockade des PI-3K-Weges führt. Dabei wird die MAP-Kinase ebenfalls durch das proinflammatorische Zytokine Angiotensin-2 stimuliert.

Dies hat insgesamt eine verminderte NO-Produktion und eine gesteigerte ET-1-Sekretion sowie VCAM-1 und E-Selektin-Expression zur Folge (12). ET-1 führt zur Vasokonstriktion und kann wiederum zusätzlich die insulin-stimulierte Translokation des GLUT-4 in Adipozyten verschlechtern (50,51).

2.2.6 Auswirkung auf Glukosestoffwechsel

Als Folge der Insulinresistenz und der gestörten Insulinsekretion kommt es zur Hyperglykämie. Ursache hierfür ist, dass aufgrund der herabgesetzten Insulinwirkung die hepatische Glukoseproduktion erhöht ist. Dies führt im Nüchternzustand zu einem weiteren Anstieg der Blutzuckerwerte (30).

Die Hyperglykämie ihrerseits verstärkt zusammen mit den freien Fettsäuren die Insulinresistenz (Glukolipotoxizität) und führt außerdem auch über die oben beschriebene Störung der Signaltransduktion zu einem Insulinsekretions-Defekt.

Es ist inzwischen erwiesen, dass die Hyperglykämie zur Entwicklung der Endotheldysfunktion beiträgt und somit als wichtiger Kofaktor der Atherosklerose gilt.

Aus der Langzeitbeobachtung der UKPDS-Studie konnte eine signifikante Reduktion von atherosklerotischen kardiovaskulären Ereignissen nach Insulin oder Sulfonylharnstofftherapie gezeigt werden (52). Ebenso wurde in dieser Studie belegt, dass erhöhte HbA1c-Werte mit einem erhöhten Risiko für Herzinfarkt und Schlaganfälle assoziiert sind (53).

Es ist schlussfolgernd festzuhalten, dass die chronische Hyperglykämie einen Risikofaktor in der Entwicklung der Atherosklerose und der KHK darstellt (54).

2.2.7 Auswirkung auf den Lipidstoffwechsel

Dem Fettgewebe kommt bei der Pathophysiologie der Insulinresistenz - wie bereits oben beschrieben - eine Schlüsselrolle zu. Im Mittelpunkt stehen dabei die freien Fettsäuren. Infolge der gesteigerten Lipolyse, gelangen diese vermehrt in die Muskulatur, die Leber und die pankreatischen β -Zellen, was eine Reihe von ungünstigen Folgen mit sich bringt. Zum einen kommt es damit zur Verschlechterung der Insulinwirkung und der Insulinsekretion, den zwei charakteristischen pathophysiologischen Störungen beim Typ 2-Diabetes (54). Des Weiteren ist die Insulinresistenz mit mitochondrialen Defekten assoziiert, welche die Fettsäureoxidation limitieren und die Akkumulation des intrazellulären Acyl-CoA und anderen toxischen Produkten des Fettstoffwechsels begünstigen. Dadurch verschlechtert sich wiederum die Insulinwirkung im Skelettmuskel und damit auch der Glukosemetabolismus, was sich negativ auf die Insulinresistenz auswirkt.

Zum anderen wird die Leber zur Synthese von triglyzeridreichen Lipoproteinen (VLDL) angeregt, weswegen die Hypertriglyzeridämie zu den sehr früh nachweisbaren Folgen der Insulinresistenz gehört.

Der Abbau des gefäßprotektiven HDL- Cholesterin findet hingegen beschleunigt statt. Die mit Triglyzeriden angereicherten LDL werden durch die Lipolyse kleiner und dichter, was zu einer vermehrten Atherogenität führt.

Freie Fettsäuren hemmen außerdem direkt die Glukoseaufnahme in den Muskel und fördern die endogene Glukoseproduktion in der Leber, so dass es zu einem weiteren Anstieg des Blutzuckerspiegels kommt. Ein Circulus vitiosus mit Hyperinsulinämie, Hyperglykämie und Dyslipidämie entsteht.

Inzwischen weiß man außerdem, dass Fettzellen wie ein endokrines Organ Adipozytokine freisetzen, die in Muskeln und in der Leber schädlichen Einfluss haben. Dort üben sie auf den Metabolismus einen schädlichen Effekt aus. Das viszerale Fettgewebe von Übergewichtigen und Typ-2 Diabetikern ist von mononuklearen Zellen infiltriert und befindet sich im Stadium einer chronischen Inflammation. Die Adipozyten und infiltrierten Makrophagen sezernieren nun die proinflammatorischen/prothrombotischen Zytokine: TNF-Alpha, Resistin, IL-6, Leptin, PAI-1 und Angiotensinogen. Sie haben einen fördernden Effekt auf die Atherogenese und Insulinresistenz, indem sie unter anderem die Insulinwirkung in Adipozyten, β -Zellen und Leberzellen hemmen und den Glukosetransport in die Muskelzellen blockieren.

Das insulinsensibilisierende und antiatherogen wirkende Schutz-Zytokin Adiponektin wird jedoch zu wenig von Adipozyten sezerniert.

Zusammenfassend kann man hervorheben, dass die Insulinresistenz zu einer erhöhten Konzentration an freien Fettsäuren, Triglyzeriden und erniedrigten HDL-Spiegeln führt. Außerdem werden vermehrt toxisch wirkende Zytokine freigesetzt und das Schutzhormon Adiponektin vermindert produziert. Lipotoxizität gilt als eine Hauptursache der Insulinresistenz und der verschlechterten Betazellfunktion bei Typ 2-Diabetikern (54).

3 Materialien und Methoden

3.1 Studiendesign

3.1.1 Studienaufbau

Die Studie wurde konzipiert, um die endotheliale Funktion an retinalen und dermalen Gefäßen zwischen Insulinresistenten und Typ 2- Diabetikern mit einer gesunden Kontrollgruppe zu vergleichen.

Es handelte sich dabei um eine offene, monozentrische Studie, die sich aus 2 Visiten zusammensetzte.

Im Rahmen der klinischen Studie rekrutierten wir 54 männliche und weibliche Patienten, die sich in 3 Gruppen wie folgt verteilten:

1. Gruppe: 18 Gesunde mit einem HOMA-Score $\leq 2,0$
2. Gruppe: 18 Insulinresistente mit einem HOMA-Score $> 2,0$
3. Gruppe: 18 Typ 2 – Diabetiker

Die Insulinresistenz wurde anhand des $HOMA_{IR}$ -Scores (s.u.) definiert. Während der Visite 1 wurden ein oraler Glukosetoleranztest und die Laborbestimmung des Plasma-Insulin durchgeführt, nach der der HOMA-Score rechnerisch bestimmt wurde und so die Zuteilung in die Gruppe der Insulinresistenten erfolgen konnte.

3.1.2 Studienteilnehmer

Als Kontrollgruppe wurden gesunde, normalgewichtige Probanden beiderlei Geschlechts mit einem BMI $< 28 \text{ kg/m}^2$ ausgewählt.

Als Einschlusskriterien wurden folgende Bedingungen definiert:

- Alter 30-60 Jahre
- Einverständnis zur Teilnahme an der Studie gemäß den lokalen Regularien
- Verlässliche Patienten, die für die Studiendauer zur Verfügung stehen und die Regeln der Studie einhalten
- BMI für Gesunde: $< 28 \text{ kg/m}^2$, BMI für Insulinresistente $\geq 28 \text{ kg/m}^2$

Ausschlusskriterien der Studie waren:

- Nikotinkonsum in den letzten 6 Monaten
- Diagnose einer präproliferativen oder proliferativen diabetischen Retinopathie
- Anamnese von Drogen- oder Alkoholmissbrauch

- Vorliegen einer Schwangerschaft oder die Absicht während der Studie schwanger zu werden
- Eine Diagnose (einschließlich Drogenmissbrauch, Alkoholmissbrauch oder eine psychiatrische Erkrankung), welche nach Einschätzung des Prüfarztes den Patienten davon ausschließt, dem Studienprotokoll zu folgen und die Studie abschließen zu können
- Diagnose einer Epilepsie
- Mangel an Compliance oder ein anderer ähnlicher Grund, der nach Ansicht des Prüfarztes eine befriedigende Teilnahme der Studie ausschließt
- Vorherige Behandlung mit Nitraten, ACE-Hemmern oder AT-II-Rezeptor-Antagonisten
- Vorherige Behandlung mit Insulinsensitizern (Glitazone)

3.1.3 Studienablauf

3.1.3.1 Screening Visite (V1)

Nach Einholung der Einverständniserklärung wurde die Eignung der Studienteilnehmer anhand der Ein- und Ausschlusskriterien überprüft. Es folgte eine kurze Anamnese und eine körperliche Untersuchung.

Venöses Blut wurde entnommen und ein oGTT wurde bei den Patienten durchgeführt, die sich in den letzten 6 Monaten keinen oGTT unterzogen haben.

Dabei wurden folgende Laborparameter entnommen:

- Glukose und Insulin-Spiegel zum Zeitpunkt 0 min
- Glukose und Insulin-Spiegel zum Zeitpunkt 60 min
- Glukose und Insulin-Spiegel zum Zeitpunkt 120 min.

Aus diesen Parametern wurde der HOMA-IR-Score zur Bestimmung der Insulinresistenz errechnet (s.u.)

Demographische Daten sowie relevante bestehende Diagnosen und die begleitende medikamentöse Therapie wurden dokumentiert.

Falls der Patient alle Ein- und Ausschlusskriterien erfüllte, wurde ein Termin für die kommende Visite 2 vereinbart, welche innerhalb von 2- 28 Tagen absolviert wurde.

3.1.3.2 Untersuchungsvisite (V2)

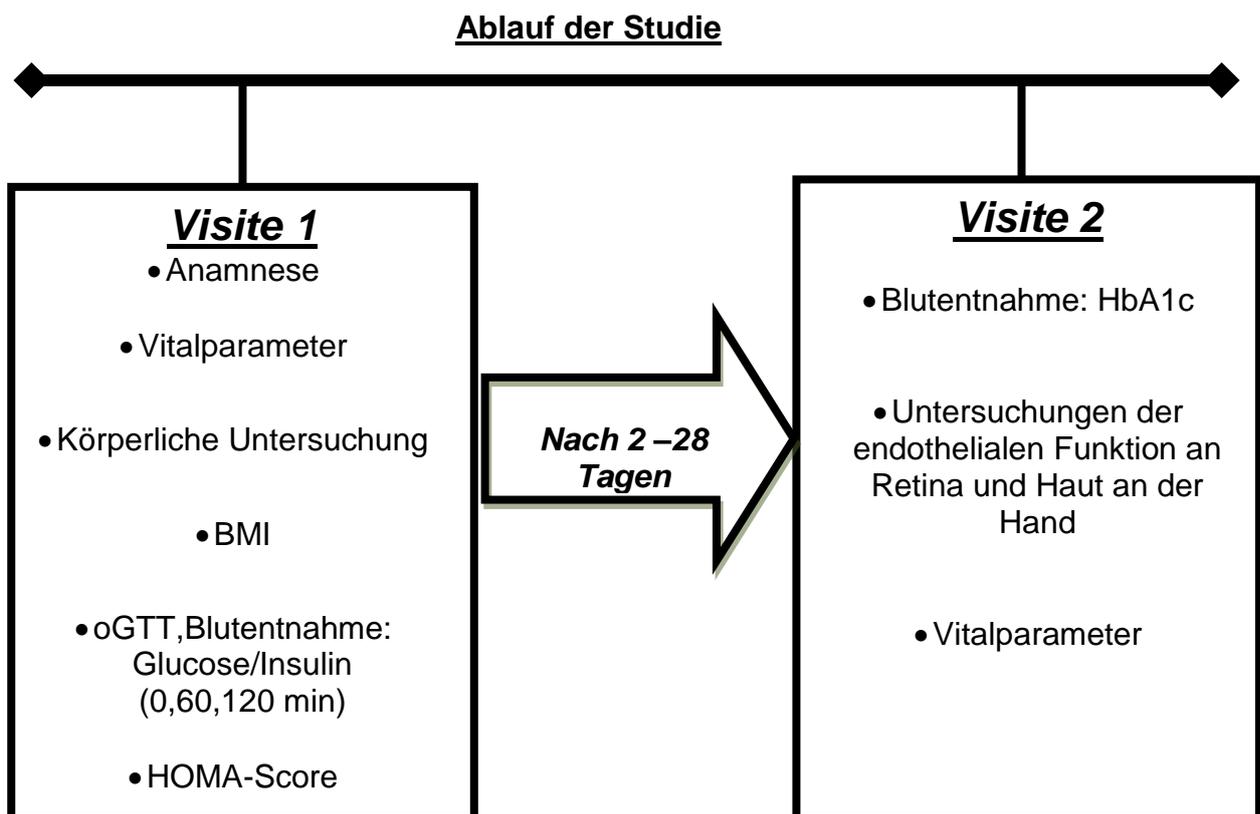
Die für die Studienteilnahme geeigneten Patienten wurden nach einer 8–stündigen Nüchternphase bestellt. Ihre sonstigen Medikamente wurden, abgesehen von Antidiabetika bzw. Insulininjektionen bei Typ 2- Diabetikern, eingenommen.

Der Blutdruck und der Puls der A. radialis wurden gemessen und dokumentiert.

Zusätzlich erfolgte eine venöse Blutentnahme zur Bestimmung des HbA1c-Wertes.

Anschließend wurden die mikrovaskulären endothelialen Untersuchungen an der Retina und an der Haut durchgeführt (s.u.). Zusätzlich wurden retinale Hintergrundbilder mittels einer digitalen non-mydratischen Funduskamera erstellt.

Während der gesamten Studie waren die Patienten unter ärztlicher Aufsicht, Änderungen der Begleitmedikation wurden - ebenso wie das Auftreten unerwünschter Ereignisse - dokumentiert. Am Ende der Studie wurden die Hautareale, die dem Laserkopf anlegen, durch den Arzt kontrolliert.



3.1.4 Bestimmung der Parameter

3.1.4.1 Insulin

Testprinzip:

Die quantitative Bestimmung von Insulin erfolgt mittels eines zweiseitigen Chemilumineszenzimmunoassays (Sandwich). Für die Beschichtung der Magnetpartikel (Festphase) wird ein gegen Insulin gerichteter, hochspezifischer monoklonaler Maus-Antikörper verwendet. Der zweite monoklonale Antikörper, der für ein anderes Epitop des Insulinmoleküls spezifisch ist, wird an ein Isoluminolderivat gekoppelt (Isoluminol-Antikörper-Konjugat).

Analysegerät:

Zur Messung des Insulin wird das Gerät Liaison 2.28 der Firma DiaSorin verwendet.

Testdurchführung:

Bei der Insulinbestimmung führt das Gerät folgende Schritte durch:

**50µl Kalibratoren, Kontrollen, Proben
+ 20µl beschichtete Magnetpartikel
+ 250µl Konjugat**

31,5 Minuten Inkubation mit anschließendem Waschzyklus

3 Sekunden Messung

3.1.4.2 Glukose

Testprinzip:

Die Bestimmung der Glukosekonzentration des Natrium-Fluorid versetzten Serums beruht auf dem Prinzip der enzymatischen Hexokinase-Methode:

Die Hexokinase katalysiert die Phosphorylierung von Glukose durch ATP zu Glucose-6-phosphat. Glucose-6-phosphat wird in Gegenwart von NADP durch die Glucose-6-phosphatdehydrogenase zu Gluconat-6-phosphat oxidiert. Andere Kohlenhydrate werden nicht oxidiert. Die Bildungsgeschwindigkeit von NADPH

während der Reaktion ist direkt proportional zur Glukosekonzentration und wird photometrisch gemessen.

Reaktionsschema:

Glucose + ATP → Glucose-6-P + ADP (Enzym: Hexokinase)

Glucose-6-P + NADP⁺ → Gluconolacton-6-P + NADPH/H⁺ (Enzym: Glucose-6-P-DH)

Total: 1 Glukose + 1 ATP + 1 NADP⁺ → Gluconolacton-6-P + 1 ADP + 1 NADPH / H⁺

Analysegerät:

Die Messung erfolgte mit dem Analysegerät Cobas 6000.

3.1.4.3 HbA1c

Der HbA1c-Wert wird aus Vollblut bestimmt, das mit EDTA versetzt ist.

Analyseverfahren:

Die Analyse erfolgt mittels Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie, einem Verfahren, das äußerst genaue HbA1c-Werte liefert. Mit Hilfe einer Trennsäule werden die labile HbA1c-Fraktion, carbamyliertes Hb und acetyliertes Hb vom stabilen HbA1c separiert.

Analysegerät:

Zur Messung der HbA1C-Werte wird das Gerät Adams TM A1C HA-8160 der Firma Menarini Diagnostics eingesetzt.

3.1.4.4 Glukosetoleranztest und HOMA-IR Bestimmung

Ein oGTT wurde unter Nüchtern-Bedingungen mit Bestimmung der Plasma-Insulin und Glukose-Messungen zum Zeitpunkt 0, 60 und 120 Minuten zur Screening-Visite durchgeführt.

Aus diesen Werten lässt sich anhand folgender Formel der Insulinresistenzindex HOMA-IR ermitteln (55): Ein Wert über 2,0 zeigt eine Insulinresistenz an.

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Nüchtern-Insulin} \times \text{Nüchtern-Glucose}}{22,5}$$

Untersuchungen haben bewiesen, dass das HOMA-Modell sehr gut mit der Insulinresistenz-Messung im euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamp-Test, dem Goldstandard-Verfahren, korreliert (56,57). Das Ausmaß der Insulinresistenz steigt mit der Höhe des HOMA-Wertes an.

3.1.5 Anamneseerhebung und körperliche Untersuchung

Zur Erhebung von Daten der Krankengeschichte der Patienten wurde ein einheitlicher Fragebogen entwickelt. Der Anamnesebogen enthält als allgemeiner Screening-Fragebogen Angaben zur Vorgeschichte, u.a. von kardiovaskulären und pulmonalen Vorerkrankungen, den kardialen Risikofaktoren sowie von Lebensgewohnheiten, der Sozialanamnese und der Medikation. Demographische Angaben wurden ebenso aufgenommen.

Zusätzlich wurde jeder Studienteilnehmer körperlich untersucht und die Ergebnisse auf einem Untersuchungsbogen dokumentiert. Die Untersuchung beinhaltete den Status von Herz, Lunge, Abdomen, Extremitäten, Augen sowie der Haut, den Fußpulsen (A. dorsalis pedis und A. tibialis posterior), der Neurologie mit Reflexstatus (BSR, ASR, PSR) und dem Vibrations- und Temperaturempfinden, die Ermittlung der Körpermaße, des Körpergewichtes und des Body Mass Index.

3.2 Messung der retinalen Endothelfunktion

Die retinalen Gefäße sind die einzigen Gefäße, die einer nicht-invasiven Diagnostik direkt zugänglich sind und als Spiegel der zerebralen Gefäße mit sehr ähnlichen anatomischen und physiologischen Eigenschaften herangezogen werden können.

(58) In der Vergangenheit konnte die retinale Durchblutung nur mit Hilfe invasiver und zum Teil nicht ganz ungefährlicher Methoden gemessen werden (z. B. Fluoreszenz-Angiographie). Diese Methoden waren jedoch sehr umständlich und lieferten außerdem nur qualitative Ergebnisse. Im Anschluss wurde die Farb-Duplex-Sonographie zur Messung der Fließgeschwindigkeit des Blutes eingeführt, jedoch nur in der A. und V. centralis retinae und den hinteren Ciliararterien, aber nicht in den retinalen Gefäßen. Zudem sind diese Methoden sehr kostspielig und nur in Spezialkliniken anzutreffen.

Für den Arzt und den Patienten stellte nun die nicht-invasive Bestimmung von retinalen Durchblutungsparametern einen enormen Fortschritt in der Erforschung und

Diagnostik von Augenerkrankungen dar. Dabei treten nach dem derzeitigem Stand der Forschung keine biologische Schäden auf.

In dieser Studie wurde die retinale endotheliale Funktion mittels einer solchen nicht-invasiven Methode, nämlich der sogenannten Laser- Scanning- Doppler- Flowmetrie (Heidelberg Retina Flowmeter, HRF) gemessen. Es ist das erste und einzige Messsystem (59), welches eine nicht-invasive zweidimensionale Darstellung der retinalen Mikrozirkulation erlaubt. Es wurde vom Labor für okuläre Perfusion der Universitätsklinik Erlangen in Zusammenarbeit mit Heidelberg Engineering entwickelt.

Damit ist die Beurteilung des Gefäßstatus von Typ-2 Diabetikern, insulinresistenten Patienten und gesunden Probanden sehr genau möglich. Es wurden folgende Parameter gemessen:

- Retinale kapilläre Perfusion (Blutfluss, Flow) sowie der Flow der Arterien und Venen
- Durchmesser der Gefäße (Arterie und Vene)
- Gefäßwanddicke
- Gefäßwand zu Lumen-Verhältnis (Wall:Lumen-Relation,W-L-R) sowie
- die Differenz dieser Parameter im Vergleich zu den basalen Werten (vor der Flickerlicht-Provokation)

3.2.1 Funktionsprinzip: Physikalische Grundlagen

Die Prinzip des HRF (Heidelberg Engineering, Heidelberg) basiert auf der Dopplereffektverschiebung von Laserlicht (Doppler-Effekt), dass von sich bewegenden Teilchen reflektiert wird. Man erhält damit Informationen über die Durchblutung der an den Sehnerven angrenzenden Netzhautgefäßen (60).

Dieser Sachverhalt stellt sich wie folgt dar: Laserlicht wird von außen auf Gewebe eingestrahlt und durch die sich bewegenden Teilchen (hier den Erythrozyten) reflektiert und zurückgestreut. Dieses Licht wird mittels einer Photodiode an der Gewebeoberfläche detektiert. Das Laserlicht ist charakterisiert durch eine einzige Wellenlänge bzw. Frequenz. Trifft das Laserlicht auf den Erythrozyten, so werden die Lichtwellen in ihrer Frequenz verschoben, ein Phänomen welches als Doppler-Shift bezeichnet wird, ähnlich den Ultraschallwellen. Da diese

Dopplerfrequenzverschiebung (gemessen in Hertz, Hz) der Geschwindigkeit der Erythrozyten proportional ist, lässt sich somit auch die Geschwindigkeit der Erythrozyten bestimmen. Auf diese Weise können außerdem auch das Blutvolumen und der Blutfluss errechnet werden.

3.2.2 HRF



Abbildung 3.1 Aufbau der HRF-Einheit mit konfokaler Optik (58)

Das HRF ist ein konfokales (zwei optische Systeme mit einem gemeinsamen Brennpunkt) Laser-Scanning-Ophthalmoskop. Die konfokale Technik des Gerätes stellt sicher, dass nur der kapilläre Blutfluss der oberflächlichen retinalen Schicht bis 300 μm erfasst wird. Die Detektion des Laserdoppler-Signals aus tieferen Schichten (Choroidea) ist aufgrund der konfokalen Eigenschaften der Optik ausgeschlossen (61). Dabei misst das HRF den kapillären Blutfluss bei einer Wellenlänge von 720 nm (59,62). Der Laserlichtstrahl der Laserdiode wird mittels einer speziellen Optik durch die Pupille auf die Netzhaut des Patienten fokussiert. Die Positionierung des Strahls wird durch zwei im Strahlengang eingebrachte Spiegel ermöglicht. In der Kamera detektiert eine bestimmte Photodiode das reflektierte bzw. gestreute Licht.

Die Auflösung der HRF beträgt 256 Pixel \times 64 Zeilen \times 128 Zeilen. Die Gesamtmessdauer beträgt 2 Sekunden. Während der Messung wird die Tiefe der

Fokusebene nicht verändert (59). Das Ausgangssignal der Photodiode wird digitalisiert und kann so mit einem PC weiterverarbeitet werden. Dort wurde eine Karte des retinalen Flusses generiert und so konnten mittels eines Analyseprogramms (SLDF, s.u.) die Perfusionsbilder analysiert und ausgewertet werden (61).

3.2.3 Flickerlicht-Stimulation

Durch die Flickerlicht-Provokation mit dem Photo Stimulator 750 (Siemens-Elema AB) auf die Retina kommt es zu einer Erhöhung des retinalen Blutflusses mittels einer Stimulation der endothelialen NO-Freisetzung.

Ursache der Perfusionserhöhung ist ein erhöhter metabolischer Bedarf durch den intensiven Lichtreiz. Die Zellen der Netzhaut (Sehzellen, Nervenzellen) benötigen in größerem Umfang Sauerstoff und es fallen vermehrt Stoffwechselendprodukte an, die abtransportiert werden müssen (59). Die Folge der NO-Freisetzung ist eine Vasodilatation, welcher als Funktionsmarker der endothelialen Funktion herangezogen wird (63). Um Störungen der Messung durch das Licht zu vermeiden, wurden bestimmte Filter (sog. Interferenzfilter) verwendet. So wurde sichergestellt, dass das Licht der Laserwellenlänge von der Blitzlampe nicht in das Auge gelangt.

Die Flickerfrequenz konnte mittels zweier Tasten an der Lichtquelle eingestellt werden. Bei der Lichtquelle handelt es sich um eine Halogenlampe.

Über ein Glasfaserbündel wurde das gefilterte Licht auf das Auge des Patienten geleitet. Die Helligkeit des Flickerlichtes betrug $5,5 \text{ candela/cm}^2$ gemessen an der Kornea. Diese Platzierung führte zu einer vollständigen Erhellung des gesamten posterioren Poles der Retina, was damit einer voll erregten Stimulation entsprach.

Jedes Auge wurde 15 Sekunden lang und mit einer Frequenz von 10 Hz bestrahlt. Die Blitzenergie betrug 4 Watt- Sekunden (Joule). Während der HRF-Messungen wurde das Objektiv der HRF-Kamera vor das Auge eingestellt. Der Abstand zwischen der Optik und der Kornea betrug ungefähr 1 cm (64). Die damit hervorgerufenen Gefäßwandveränderungen, d.h. die Zunahme des Gefäßdurchmessers als auch die Veränderungen des retinalen Blutflusses wurden daraufhin mittels des SLDF gemessen und ausgewertet (s.u.).

3.2.3.1 Durchführung

Die Untersuchungen fanden in einem gänzlich abgedunkeltem Raum unter Raumtemperatur statt. Die Patienten waren zum Zeitpunkt aller Untersuchungen nüchtern. Die Aufnahmen wurden zum Zeitpunkt 0 (Baseline) und anschließend nach 15 Sekunden anhaltender Flickerlicht-Stimulation mit einer Frequenz von 10 Hz durchgeführt.

Baseline:

Der retinale Blutfluss wurde zum Ausgangszeitpunkt mit je 3 Bildern pro Seite erfasst. Bei qualitätsgeminderten Bildern wurde eine entsprechende Anzahl weiterer Bilder erstellt. Der Mittelwert der Parameter der 3 Bilder wurde als der Baseline-Wert definiert. Der retinal kapilläre Blutfluss wurde am juxtapapillären Bereich etwa 2-3 mm temporal und nasal des oberen Poles des N. opticus ausgewertet. Dieser Bereich wurde deswegen ausgewählt, da er während der Messung keine relevanten Fixierungsprobleme zeigte (61,65). Bei allen Patienten wurde ein Bereich mit einer Fläche von $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ untersucht. Dieser galt sowohl vor als auch nach dem Flickerlichtprovokation (64).

Flickerlicht-Provokation:

Ohne jegliche Änderung am Aufbau oder an der Einstellung der Instrumente wurde der Luminanz-Flicker eingestellt und das Flickerlicht auf das Auge über die Optik der HRF-Systems projiziert. Das Flickerlicht wurde für eine Dauer von 15 Sekunden mit einer Frequenz von 10 Hz auf das Auge bestrahlt. Im Anschluss wurde ein Bild auf der jeweiligen Seite erstellt und diese Prozedur so oft wiederholt, bis man 3 Bilder mit guter, auswertbarer Qualität erhalten hat. Dasselbe wurde im Anschluss auf der anderen Seite wiederholt.

Die Aufzeichnungen des Laserscans wurden gespeichert und zur Auswertung mit Analyse der retinalen Morphologie und des retinalen mikrovaskulären Blutflusses an das Interdisziplinäre Zentrum für ophthalmologische präventive Medizin der Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg/ Professor Dr. Michelson versendet.

Damit konnten alle Parameter (Perfusion, Durchmesser, Gefäßwanddicke, WLR) für das arterielle und das venöse Segment errechnet werden.

3.2.4 Auswertung der Parameter

Das Programm SLDF (Scanning-Laser-Doppler-Flowmetrie) wurde zur Analyse der Perfusionsbilder benutzt. Es errechnet nach Aufnahme der Bilder offline für jeden Bildpunkt das Dopplerspektrum und die hämodynamischen Parameter nach der Theorie von Bonner und Nossal (59).

Für eine valide Einschätzung des retinalen Blutflusses durch das HRF müssen einige Voraussetzungen erfüllt sein: eine entsprechende Helligkeit, keine künstlich erzeugte Bewegung und eine Dopplerverschiebung von weniger als 2000 Hz. Um dies zu erreichen wurden die resultierenden Perfusionsbilder im SLDF weiteren Verarbeitungsschritten unterzogen: Rauschkorrektur, Gefäßerkennung und Glättung. Mittels eines interaktiven Analysedialogs unterteilt der Benutzer das Bild in einen temporalen und nasal Bereich und markiert den juxtapapillären Randsaum. Für jeden Bereich errechnet das SLDF ein Histogramm, Mittelwerte, Perzentile, Standardabweichungen sowie sortierte Häufigkeits- und Zeitkurven der angezeigten Perfusionskarten. Zusätzlich werden Bilder der Kapillargefäße errechnet und daraus topologische Parameter abgeleitet. So können die weiteren Parameter Durchmesser und Gefäßwanddicke ermittelt werden.

3.2.5 Reliabilität der Methode

Mehrere Studien haben die Reliabilität der HRF-Methode durch mehrfache Messungen desselben Bereiches eines Patienten einer Fläche von $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ bewertet. Der Reliabilitätskoeffizient des Gerätes wurde mit ungefähr 0,7- 0,8 angegeben (64).

3.2.6 Definition der Durchblutungsparameter

3.2.6.1 Blutfluss (Flow)

Der Flow bezeichnet die Anzahl der Erythrozyten, die sich in einer bestimmten Zeit durch eine bestimmte Volumeneinheit bewegen. Diese Größe kann auch als Maß für die Perfusion herangezogen werden, da sie sich proportional zur mittleren Geschwindigkeit und zur Konzentration der roten Blutkörperchen verhält.

3.2.6.2 Volumen

Die Größe Volumen beschreibt die Anzahl, der sich in einer Volumeneinheit bewegend roten Blutkörperchen. Diese Größe ist daher proportional zur Gesamtleistung aller detektierten Anteile mit einer bestimmten Frequenz.

3.2.6.3 Geschwindigkeit (Velocity)

Das Maß für die mittlere Geschwindigkeit der roten Blutkörperchen wird als „velocity“ bezeichnet. Es wird physikalisch mit dem Verhältnis zwischen der von den Erythrozyten zurückgelegten Wegstrecke und deren Anzahl definiert; dieses Verhältnis entspricht genau der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten.

3.2.6.4 Durchmesser und Gefäßwand zu Lumen – Verhältnis (WLR)

Der Gefäßdurchmesser ist als bestimmender Faktor für den Blutfluss einer der wichtigsten Parameter. Eine Verengung des Gefäßdurchmessers der Arteriolen und kleinen Arterien, welche im Rahmen des arteriellen Remodellings auftritt, spiegelt sich am besten in einer Steigerung des Verhältnisses der Gefäßwand zum Lumen, der sog. Wall-to-Lumen ratio (WLR), wieder. Die nach obigem Prinzip ausgewählte Arteriole wurde für diese Messung herangezogen. Der Mittelwert von 3 Einzelmessungen der gemessenen Durchmesser wurde ermittelt und für die weitere Analyse verwendet. Der äußere arterioläre Durchmesser (AD) wurde in den reflektierten Bildern und der Lumen-Durchmesser (LD) in den Perfusionsbildern gemessen. Bei dem Perfusionsbild handelt es sich um das Bild, welches durch den Doppler-Effekt durch Erythrozyten erzeugt wird. Auf Basis der Messungen von AD und LD wurde die WLR retinaler Arteriolen anhand der folgenden Formel errechnet (65):

$$WLR = \frac{(AD - LD)}{LD}$$

AD=arteriole diameter/ Durchmesser der Arteriole
LD= Lumen diameter/ Durchmesser des Gefäßlumens

Die Gefäßwanddicke errechnet sich durch die folgende Formel:

$$\text{Gefäßwanddicke} = \frac{(OD - FD)}{2}$$

OD = outer diameter/ Äußerer Durchmesser

FD= Flow/ Fluss-Durchmesser

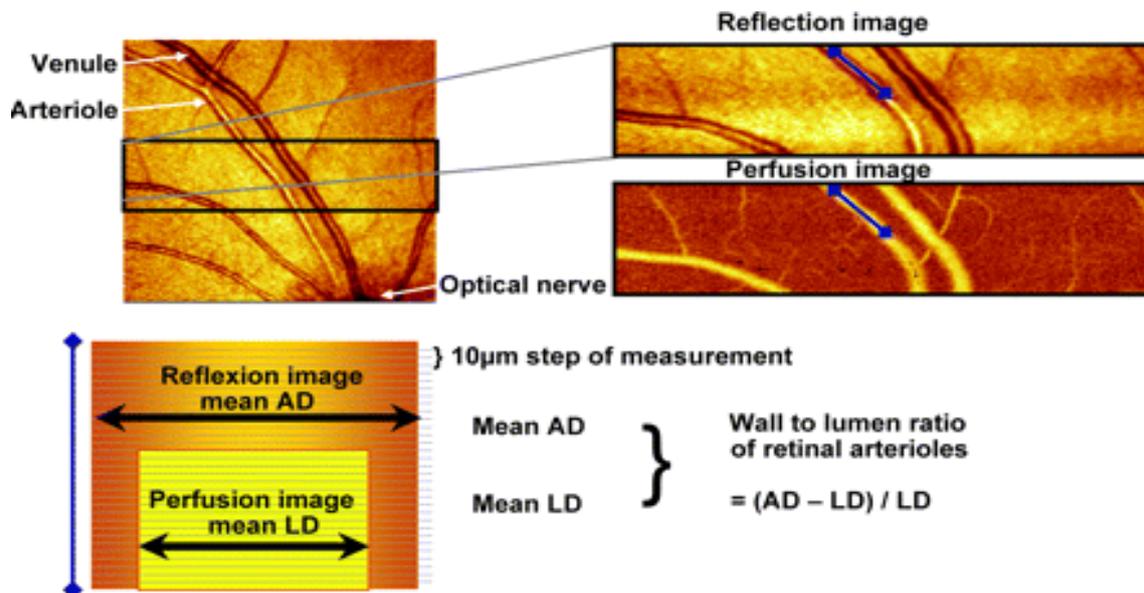


Abbildung 3.2 Errechnung der Wall:Lumen Ratio von retinalen Arteriolen (65)

AD= arteriole diameter/ Durchmesser der Arteriole

LD= lumen diameter/ Durchmesser des Gefäßlumens

3.3 Diabetische Retinopathie und Makulopathie

3.3.1 Diabetische Retinopathie

Die Retinopathie gilt als Folge der diabetischen Mikroangiopathie. Durch eine schlechte Stoffwechseleinstellung, eine lange Diabetesdauer, eine begleitende Nephropathie, eine Hypertonie und durch das Rauchen wird sie negativ beeinflusst.

20 % der Typ 2-Diabetiker haben bei Diagnosestellung bereits eine Retinopathie.

Die diabetische Retinopathie wird in verschiedene Stadien eingeteilt.

Nichtproliferative diabetische Retinopathie

<i>Milde Form</i>	Mikroaneurysmen
<i>Mäßige Form</i>	zusätzlich einzelne intraretinale Blutungen, perlschnurartige Venen (venöse Kaliberschwankungen)
<i>Schwere Form (früher: präproliferativ)</i>	> 20 einzelne Mikroaneurysmen und intraretinale Blutungen in 4 Quadranten oder perlschnurartige Venen in 2 Quadranten oder intraretinale mikrovaskuläre Anomalien (IRMA) in 1 Quadrant

Proliferative diabetische Retinopathie

Klinische Merkmale der proliferativen Retinopathie sind:

- Papillenproliferation
- Papillenferne Proliferation
- Präretinale Blutung
- Glaskörperblutung
- Traktionsbedingte Netzhautablösung

3.3.2 Diabetische Makulopathie

Die Makulopathie ist ausschließlich durch eine binokular-biomikroskopische Untersuchung zu diagnostizieren. Sie wird in 3 Klassifikationen eingeteilt:

1) Fokales Makulaödem:

Es liegen umschriebene Zonen von Ödem, kombiniert mit intraretinalen Blutungen und harten Exsudaten vor. Bei dem „klinisch signifikanten“ Makulaödem handelt es sich um ein visusbedrohendes Stadium; die Veränderungen liegen ganz oder teilweise innerhalb eines Papillendurchmessers von der Foveola.

2) Diffuses Makulaödem:

Ödem und harte Exsudate liegen am gesamten hinteren Augenpol mit massiver Leckage. Der Visus ist meist stark herabgesetzt.

3) Ischämische Makulopathie:

Hier kommt es zu einem ausgedehntem Perfusionsausfall des Kapillarnetzes um die Fovea mit schlechter Visusprognose. Die Diagnose ist nur fluoreszenzangiographisch zu stellen. Mischformen der diabetischen Makulopathie sind möglich.

3.3.3 Untersuchung der digitalen Funduskopie

Um das Stadium der Retinopathie einzuschätzen, wurde ein retinales Farbbild im Winkel von 45° (papilla-zentriert) der Retinae beider Augen erstellt. Hierfür wurde eine digitale Funduskamera Nonmyd α -D der Firma Kowa verwendet, bei der die Pupillen nicht weitgestellt (nicht- mydriatisches System) werden müssen. Das erstellte Bild wurde hinsichtlich diabetischer und hypertensiver Retinopathie und des diabetischen Makulaödems nach einer standardisierten Methode bewertet. Zusätzlich erfolgte die Messung des arteriellen und venösen Durchmessers der retinalen Gefäße. Daraus konnte die sog. arterio-venöse-Ratio (arterielles –venöses Verhältnis) errechnet werden. Auch diese Bilder wurden zur Auswertung an das Teleophthalmologische Institut nach Erlangen / Prof. Dr. Michelson gesendet.

3.4 Messung des dermalen Blutfluss und der Sauerstoffsättigung (O2C)

Die Mikrozirkulation, die postkapilläre Sauerstoffsättigung und die Blutmenge im Gewebe wurden mit einer optischen Methode mit dem Namen O2C (oxygen to see) bestimmt. Bei dem O2C handelt es sich um ein physikalisch optisches Messgerät, welches die orts – und zeitgleiche Bestimmung der genannten 3 Parameter erfassen kann.

3.4.1 Funktionsprinzip

Das O2C (erstmalig 2002 vorgestellt) basiert auf dem Prinzip der simultanen Gewebe-Photospektrometrie (Tissue Photo Spectrometry = TPS), sie besteht aus einer Kombination von Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie. Weißlicht und Laser werden über eine flexible Sonde, die der Haut aufliegt (LF 2, LEA Medizintechnik, Giessen), appliziert (66).



Abbildung 3.3 Gerät mit dem Namen O2C (oxygen to see) zur Messung des dermalen Blutflusses und der postkapillären Sauerstoffsättigung (SO₂) (66)

3.4.2 Methode und Messparameter

Mit dem O2C werden folgende Parameter bestimmt: der mikrovaskuläre Blutfluss als Flow wird in sogenannten arbitrary units (AU), die postkapilläre Sauerstoffsättigung als SO₂ als Absolutwert in Prozent (%) und die lokale Hämoglobinmenge als rHB ebenfalls in AU angegeben. Letztere gibt den mikrovaskulären Füllungszustand und die Gefäßdichte wider.

Das O2C setzt sich aus 2 optischen Techniken zusammen: einerseits wird hierbei Licht aus einem kontinuierlichen Spektrum (Weißlichtspektrometrie) und zum anderen Licht einer spezifischen Wellenlänge (Laser-Doppler) in das Gewebe eingestrahlt. In beiden Techniken wird das eingestrahlte Licht durch die Eigenschaften des untersuchten Gewebes entsprechend verändert.

Das Laser-Doppler Prinzip wurde bereits in 3.2.1 ausführlich erörtert und soll hier lediglich zum Verständnis der O2C-Methode aufgeführt werden. Eingestrahktes Licht wird in abgeschwächter und farbveränderter Form an der Oberfläche detektiert. Der Abstand zwischen der Stelle, an der das Licht in das Gewebe eingestrahkt und der Stelle, an der Licht an der Oberfläche detektiert wird, definiert die Detektionstiefe des Sensors. Man nennt diesen Abstand auch Separation. Durch eine Vergrößerung der Separation kann das Licht aus einer größeren Tiefe detektiert werden. So lassen sich durch die Auswahl der Separation und eines geeigneten Wellenlängenbereichs beliebige Detektionstiefen von 100 µm bis zu 15 mm definieren.

Im O2C wird ein Diodenlaser im CW-Modus betrieben um nah infrarotes Licht bei 820 nm und einer Leistung von 30mW zu generieren (66). Die Bestimmung des Blutflusses mit Hilfe eines Laser-Dopplers im O2C-Verfahren ist sehr einfach in der Handhabung, da – im Gegensatz zum HRF – weder Gefäße noch Gefäßquerschnitt bestimmt werden müssen.

Analog dem Laser-Doppler-Verfahren bei der HRF wird auch beim O2C ein Maß für die Anzahl der bewegten Erythrozyten bestimmt und ein Maß für die Geschwindigkeit von jedem Erythrozyten erfasst.

3.4.2.1 Parameter Blutfluss

Der Blutfluss errechnet sich aus dem Produkt der Geschwindigkeit (v_i) multipliziert mit der Anzahl der Erythrozyten (N_i) dieser Geschwindigkeit summiert über alle auftretenden Erythrozytengeschwindigkeiten Σ_i :

$$\text{Blutfluss} = \Sigma_i \times v_i \times N_i$$

Der Blutfluss wird in AU bestimmt und ist ein Maß für die Anzahl von Erythrozyten, die sich im Messvolumen der Sonde bewegen.

Im Gegensatz zum Blutfluss in den großen Gefäßen (Makrozirkulation) bestimmt das O2C den Blutfluss in den Arteriolen, Kapillaren und Venolen, der Mikrozirkulation.

Dadurch ist es möglich, Aussagen über die nutritive Versorgung einer bestimmten kritischen Region zu treffen (66).

3.4.2.2 Parameter SO₂ (Sauerstoffsättigung)

Die Farbe des Blutes wird durch die Sättigung des Blutes mit Sauerstoff hervorgerufen. Durch die erfasste Farbe des Lichtes, lässt sich die Sauerstoffsättigung (SO₂) des Hämoglobins ermitteln, da jede Sauerstoffsättigung einer eindeutigen Farbe des Hämoglobins zugeordnet ist. Die Bestimmung erfolgt durch einen Vergleich der Hämoglobinspektren mit Referenzspektren.

Die Sauerstoffsättigung entspricht der Beladung des Hämoglobins mit Sauerstoff und wird in % angegeben. Hintergrund für Bestimmung dieses Parameters ist die Tatsache, dass der Sauerstoffmetabolismus im Gewebe, Aussagen über die Vitalität des Gewebes erlaubt. Mit dem O₂C ist damit erstmals eine qualitative Beurteilung des Sauerstoffmetabolismus im Gewebe möglich(66).

3.4.2.3 Parameter rHb (lokale Hämoglobinmenge)

Außerdem wird mittels der Weißlichttechnologie die lokale Hämoglobinmenge (rHb) bestimmt. Dies geschieht durch spektrale Messung der Lichtabschwächung, welche durch das Hämoglobin verursacht wird. Vereinfacht dargestellt wird das ins Gewebe eingestrahlte Licht umso stärker rot gefärbt, je mehr Hämoglobin im Gewebe vorhanden ist. So ist es möglich, die lokal in den mikrovaskulären Gefäßen vorhandene Blutmenge zu bestimmen, was damit auch den Unterschied zur systemischen Hämoglobinmenge darstellt.

Zu bemerken ist in diesem Zusammenhang, dass sich etwa 75 % des Hämoglobins postkapillär in der Mikrozirkulation befinden. Dadurch ist der rHb-Wert ein Maß für die Füllung der Venolen im Blut.

3.4.3 Durchführung

Eine Haut-Sonde wird auf die Oberfläche des Daumenballens der linken Hand zwischen Daumengrundglied und dem Mittelhandknochen des Zeigefingers platziert, direkt neben dem Muskel abductor pollicis.

Der mikrovaskuläre Blutfluss und die postkapilläre Sauerstoffsättigung werden gleichzeitig in einer Gewebstiefe von 2 mm und 8 mm gemessen. Mittels eines Cuffs am Oberarm wird eine supra-systolische Okklusion für 4 Minuten induziert und im Anschluss der postischämische mikrovaskuläre Blutfluss und die SO₂ als Marker für

die mikrovaskuläre Endothelfunktion in der Haut gemessen. Wie in bisherigen Studien gezeigt wurde erlaubt die Methode der Laserdopplerfluxometrie Messungen mit einem Variationskoeffizient von 10 % und Messungen der Sauerstoffsättigung mit einem Variationskoeffizient von weniger als 20 %.

4 Ergebnisse

Diese Studie gestaltete sich als eine klinische Pilotstudie, in der Daten zur Messung der mikrovaskulären Funktion in 3 Gruppen erhoben und verglichen wurden. Im Anschluss fand eine statistische Erhebung statt, um Aussagen treffen zu können.

Aufgrund der Tatsache, dass bisher keine Daten über die retinale vaskuläre Funktion von insulin-sensitiven Gesunden, insulinresistenten Nicht-Diabetikern und diabetischen Patienten erhoben wurden, wurde diese Studie als eine explorative Studie ohne eine entsprechende vordefinierte Fallzahlplanung angelegt.

Die Ergebnisse werden in einer deskriptiven zusammenfassenden Statistik dargestellt. Der Wilcoxon rank-sum test wurde hierbei verwendet, um die zu untersuchenden explorativen Wirksamkeitsvariablen zwischen den Gruppen zu vergleichen. Statistische Signifikanz wurde definiert mit einem p-Wert $< 0,05$.

Für quantitative Größen (wie z. Bsp. das Geschlecht der Patienten) wurde ein arithmetisches Mittel mit (\pm) Standardabweichungen verwendet. Es werden absolute wie relative Häufigkeiten angegeben. Der paired t-Test wurde in der finalen statistischen Auswertung angewendet. Dieser Test wurde herangezogen, um die Null-Hypothese zu prüfen (die Erwartung, dass die Differenz gleich 0 ist), im Gegensatz zur Alternative (die Erwartung ist größer oder weniger als 0). Alle p-Werte und Konfidenzintervalle werden exploratorisch interpretiert.

4.1 Demographische Daten

Insgesamt wurden 78 Teilnehmer für diese Pilotstudie gescreent. Ein Teilnehmer (1,3 %) musste die Studie vorzeitig abbrechen und 16 Teilnehmer (20,5 %) waren gemäß den Ein-und Ausschlusskriterien nicht geeignet (sog. „Screening failures“).

54 Patienten wurden für die Auswertung ausgewählt und in drei Studiengruppen eingeteilt.

Ein Überblick über die Einteilung der Patienten wird in der folgenden Tabelle und Abbildung gezeigt.

Verteilung der Patienten in Studie	N Patienten	Gescreente Patienten in [%]	Studienabbrecher in [%]	Studienabbrecher in N Patienten
Gescreente Patienten	78	100	-	-
Eingeschlossene Patienten	62	79.5	21.8	17

Tabelle 4.1 Einteilung der Patienten in die Studie

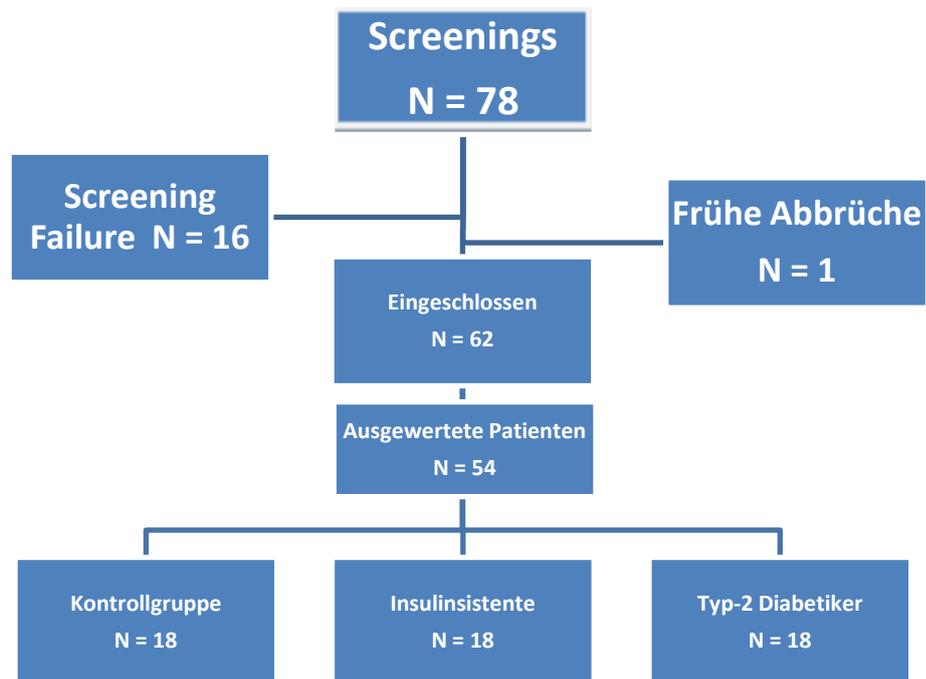


Abbildung 4.1 Anzahl der Studienteilnehmer und Zuteilung für Auswertung

Ausgehend von den ausgewerteten Patienten, ergab sich bei der demographischen Erhebung folgende Aufteilung (s. Tab. 4.2) nach dem mittleren Alter, Größe,

Gewicht, BMI und dem Blutdruck mit der entsprechenden Standardabweichung (\pm). Das mittlere Alter und der BMI waren bei Frauen und Männern ähnlich. Der mittlere systolische Blutdruck war bei der männlichen Gruppe nur leichtgradig erhöht gegenüber der weiblichen Gruppe (nicht signifikant), 128 ± 11 mmHg zu 121 ± 15 mmHg. Der mittlere diastolische Blutdruck war in der männlichen Gruppe signifikant höher: 78 ± 8 mmHg im Vergleich zu 73 ± 8 mmHg bei den Frauen.

4.1.1 Allgemeiner Überblick

	Studienpopulation	Weiblich	Männlich
n	54	28	26
Alter [Jahre]	55.0 ± 9.7	54.1 ± 9.9	56.0 ± 9.5
Körpergröße [cm]	169.6 ± 8.0	164.1 ± 5.0	176.3 ± 6.5
Körpergewicht [kg]	87.0 ± 19.5	80.8 ± 16.8	93.7 ± 20.8
BMI [kg/m²]	30.2 ± 5.9	30.3 ± 6.0	30.2 ± 5.9
Systolischer Druck [mm Hg]	124 ± 14.3	121 ± 15	128 ± 11
Diastolischer Druck [mm Hg]	75 ± 7	73 ± 8	78 ± 8

Tabelle 4.2 Demographische Daten und Vitalzeichen der Studienpopulation

(*n* = absolute Anzahl, BMI Body Mass Index)

Eine Aufteilung der drei Studiengruppen nach dem mittleren Alter, dem mittleren Blutdruck und dem Geschlecht mit der entsprechenden Standardabweichung (\pm) zeigt die folgende Tabelle (Tabelle 4.3). Das Durchschnittsalter war in allen Studiengruppen vergleichbar.

Studien- gruppe	Alter [Jahre]	BMI [kg/m ²]	Blutdruck [mm Hg]		Geschlecht	
			Systo- lisch	Diasto- lisch	M	W
Kontroll	54.3 ± 9.9	25.1 ± 1.6	122 ± 15	71 ± 7	7	11
Typ-2 Diabetiker	55.8 ± 9.6	31.4 ± 4.6	124 ± 13	76 ± 7	12	6
Insulin- resistente	54.9 ± 8.7	34.3 ± 3.9	127 ± 15	78 ± 7	7	11

Tabelle 4.3 Studiengruppen mit den wichtigsten demographischen Daten und Vitalzeichen

4.1.2 Body Mass Index

Abbildung 4.2 illustriert den mittleren BMI der Kontrollgruppe, der Gruppe der Typ 2 – Diabetiker und der Insulinresistenz-Gruppe mit der entsprechenden Standardabweichung (\pm). Die Ergebnisse zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Typ 2- Diabetikern vs. der Kontrollgruppe ($p = 0,0009$) und zwischen den Insulinresistenten vs. der Kontrollgruppe ($p < 0,0001$).

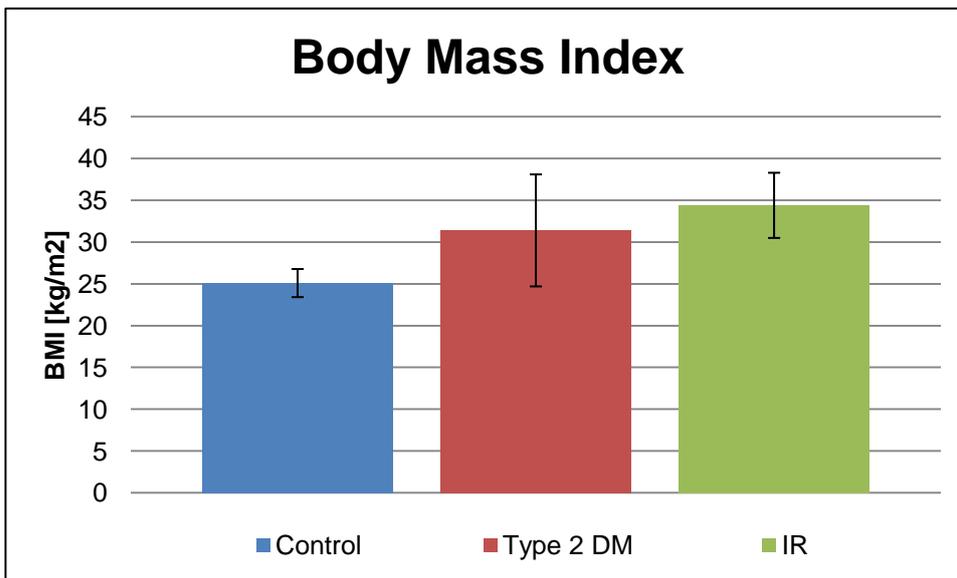


Abbildung 4.2 Mittlerer BMI der Studienpopulation
(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

4.1.3 Systolischer Blutdruck

Der mittlere systolische Blutdruck war in der Insulinresistenz - und Diabetesgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe nur leicht erhöht. Ein statistisch signifikanter Unterschied zeigte sich also nicht (Typ 2-Diabetiker vs. Kontrollgruppe $p = 0,6476$; Insulinresistenz vs. Kontrollgruppe $p = 0,3245$).

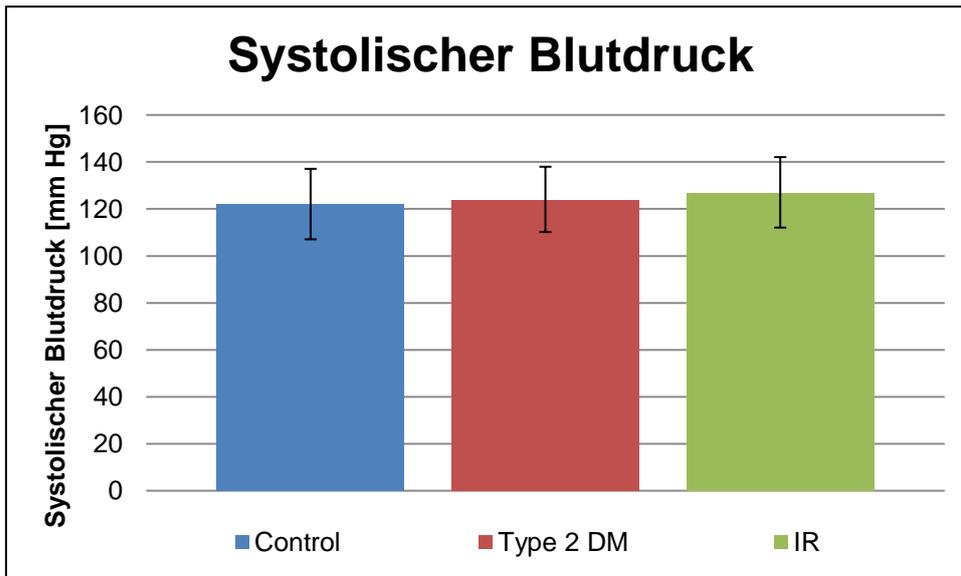


Abbildung 4.3 Mittlerer systolischer Blutdruck

(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

4.1.4 Diastolischer Blutdruck

Der mittlere diastolische Blutdruck in den drei Studiengruppen zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Typ 2-Diabetikern und der Kontrollgruppe ($p=0,0475$) sowie bei den Insulinresistenten im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p=0,0113$).

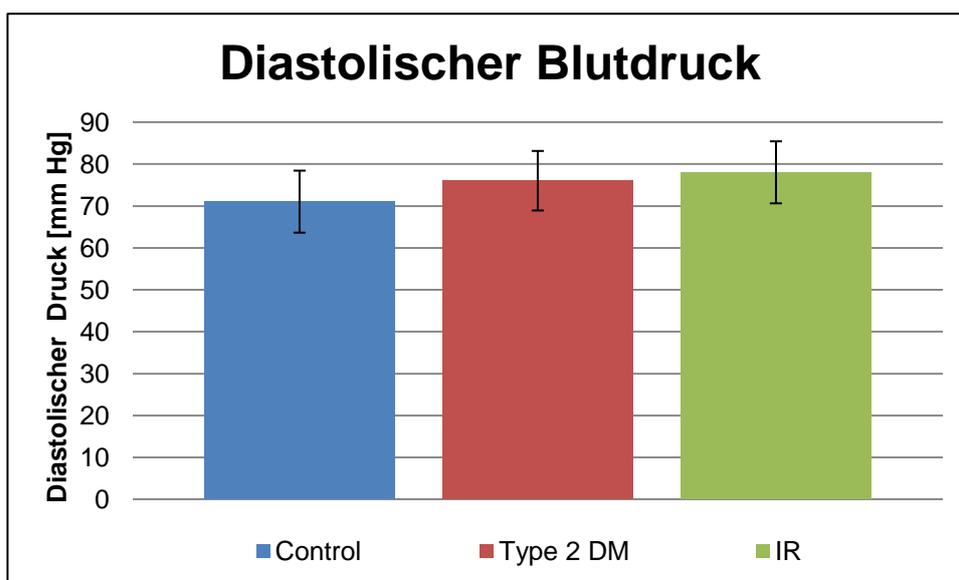


Abbildung 4.4 Mittlerer diastolischer Blutdruck

(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

4.2 Oraler Glukosetoleranztest und HOMA-IR-Index

Zum Zeitpunkt der Visite 1 wurde der oGTT durchgeführt und hierbei die Glukose – und Insulinkonzentration nach Aufnahme von 75 g Glukose zum Zeitpunkt 0 (Baseline), 60 und 120 min bestimmt.

4.2.1 Insulinkonzentration

Die mittlere Insulinkonzentration mit der entsprechenden Standardabweichung zu den genannten Zeitpunkten ist in der folgenden Tabelle (Tabelle 4.4) und Abbildung (Abbildung 4.5) wiedergegeben. Sie ist aufgeteilt nach den Studiengruppen und den verschiedenen Zeitpunkten. Ein signifikanter Unterschied konnte bei den Typ 2-Diabetikern im Vergleich zur Kontrollgruppe (0 min: $p = 0,0017$; 120 min: $p = 0,0091$) und der Insulinresistenzgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (0 min: $p < 0,0001$; 120 min: $p = 0,0022$) beobachtet werden.

Studiengruppe	0min Insulin [pmol/L]	60min Insulin [pmol/L]	120min Insulin [pmol/L]
Kontroll	36.8 ± 8.7	328.9 ± 160.5	225.8 ± 189.7
Typ-2 Diabetiker	109.6 ± 90.9	453.8 ± 269.8	420.5 ± 230.6
Insulinresistente	90.9 ± 32.5	691.9 ± 161.5	537.5 ± 394.2

Tabelle 4.4 Insulinkonzentration bei den 3 Studiengruppen

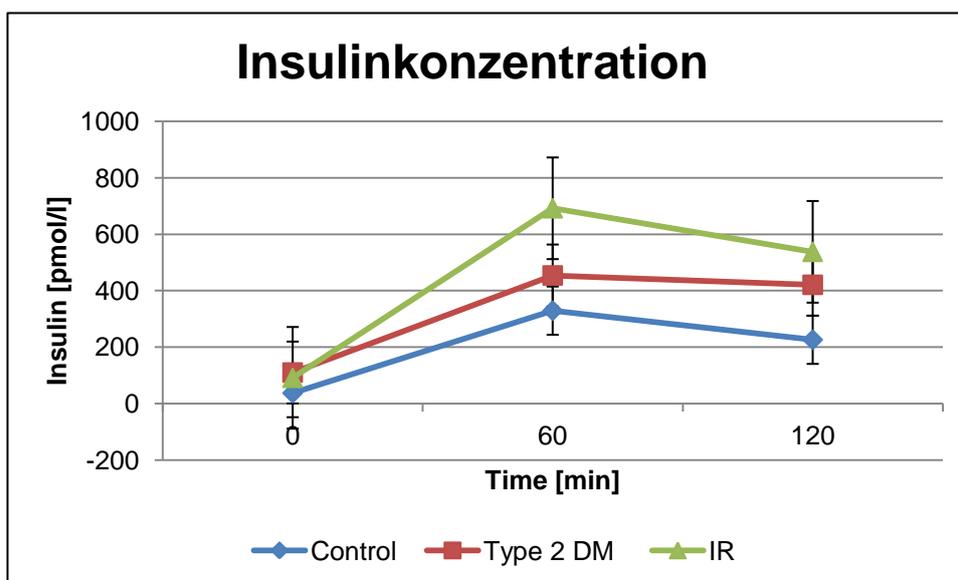


Abbildung 4.5 Mittlere Insulinkonzentration (oGTT)

(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

4.2.2 Glukosekonzentration

Entsprechend wird nachfolgend die Abbildung (Abbildung 4.6) der Glukosekonzentration nach Aufnahme von 75 g Glukose zum Zeitpunkt 0 (Baseline), 60 und 120 min mit der entsprechenden Standardabweichung dargestellt. Tabelle 4.5 zeigt die Studiengruppen mit den entsprechenden Glukosekonzentrationen.

Auch hier ergab sich ein signifikanter Unterschied bei den Typ 2-Diabetikern vs. der Kontrollgruppe (0 min: $p < 0,0001$; 120 min: $p < 0,0001$) und bei der Insulinresistenzgruppe vs. der Kontrollgruppe (0 min: $p < 0,0001$; 120 min: $p = 0,0120$).

Studiengruppe	0min	60min	120min
	Glukose [mmol/l]	Glukose [mmol/l]	Glukose [mmol/l]
Kontroll	5.3 ± 0.5	7.1 ± 2.3	5.7 ± 1.3
Typ 2- Diabetiker	8.0 ± 2.1	15.4 ± 3.4	13.9 ± 4.3
Insulinresistente	6.1 ± 0.4	10.1 ± 2.7	7.2 ± 1.7

Tabelle 4.5 Blutglukose bei allen 3 Studiengruppen

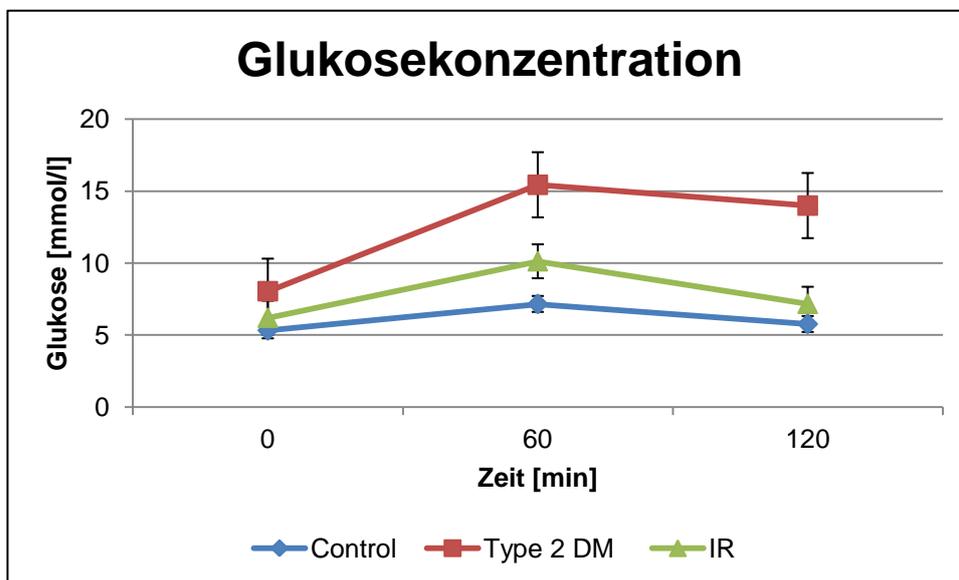


Abbildung 4.6 Mittlere Glukosekonzentration bei den Studiengruppen (oGTT)

(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

4.2.3 HOMA-Score

Tabelle 4.6 und Abbildung 4.7 bilden den mittleren HOMA-IR Wert der drei Studiengruppen ab. Die Ergebnisse zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied bei den Diabetikern vs. der Kontrollgruppe ($p = 0,0104$), und bei den Insulinresistenten vs. der Kontrollgruppe ($p < 0,0001$). Der HOMA-Wert wurde dabei nach folgender Formel errechnet:

$$\text{HOMA - IR} = \frac{\text{Nüchtern - Insulin} \times \text{Nüchtern - Glucose}}{22,5}$$

Studiengruppe	HOMA _{IR}
Kontrolle	1.1 ± 0.3
Typ 2- Diabetiker	5.9 ± 0.4
Insulinresistente	3.5 ± 0.3

Tabelle 4.6 HOMA-Insulinresistenzindex

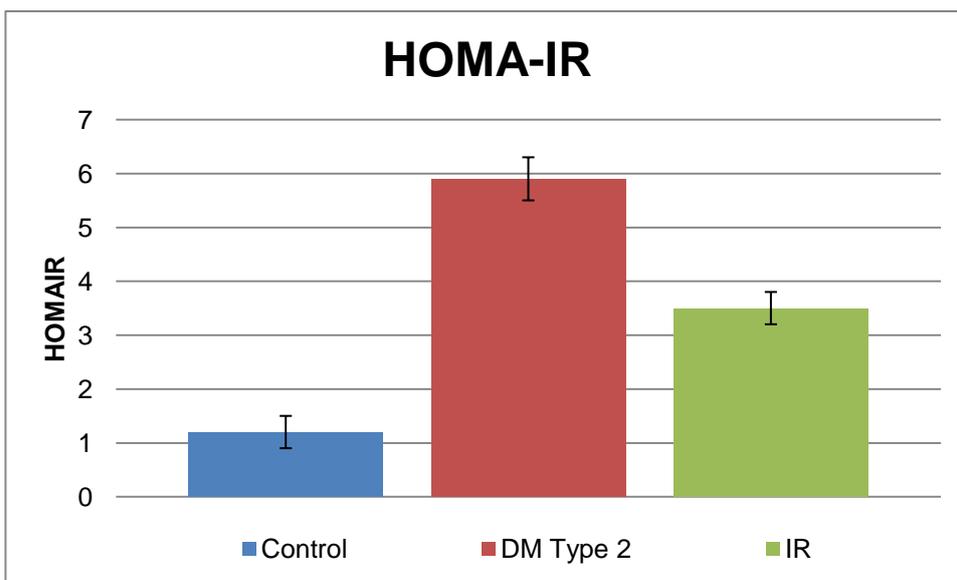


Abbildung 4.7 Mittlerer HOMA-IR bei allen Studiengruppen

(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

4.3 Glykiliertes Hämoglobin (HbA1c)

Tabelle 4.7 und Abbildung 4.8 veranschaulichen den mittleren HbA1c-Wert in den Studiengruppen. Tabelle 4.7 zeigt den Mittelwert in den jeweiligen Studiengruppen. Die Ergebnisse zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied der Typ 2-Diabetiker im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,0001$), hingegen wurde bei den Insulinresistenten vs. der Kontrollgruppe ($p = 0,1259$) kein signifikanter Unterschied beobachtet.

Studiengruppen	HbA1c [%]
Kontrolle	5.4 ± 0.6
Typ 2-Diabetiker	6.3 ± 0.6
Insulinresistente	5.7 ± 0.4

Tabelle 4.7 Mittlerer HbA1c-Wert in den 3 Studiengruppen

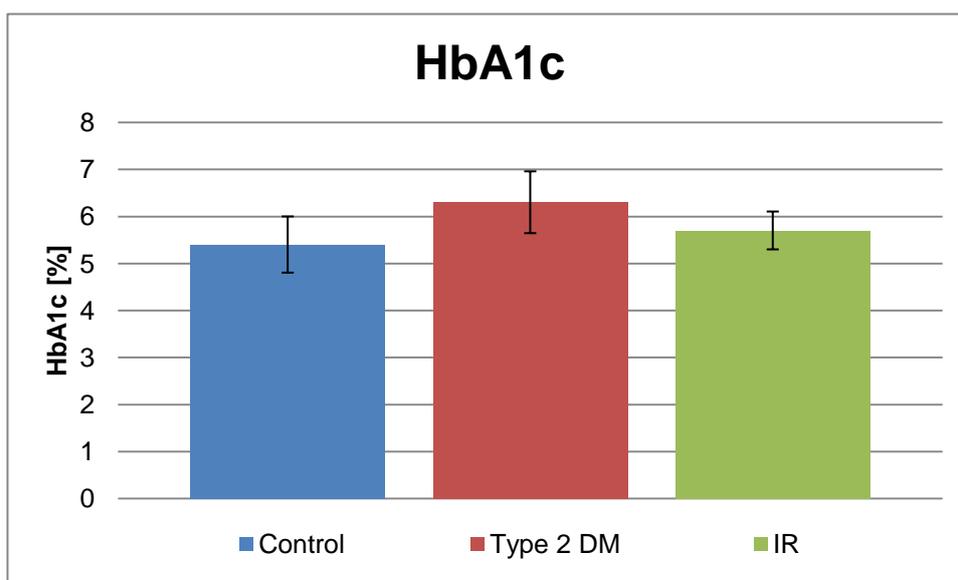


Abbildung 4.8 Mittelwert des HbA1c in den Studiengruppen

(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

Die demographischen Daten der ausgewählten Studienpopulation repräsentieren die deutsche Bevölkerung. Dies erlaubt einen Vergleich der Ergebnisse, auch wenn eine ideale Verteilung des Geschlechtes in den Studiengruppen nicht erreicht werden konnte.

Der oGTT, der HOMA_{IR}-Index und der HbA_{1c} zeigten erwartete Werte der korrespondierenden Studiengruppen, da keine signifikanten Abnormalitäten beobachtet wurden.

4.4 Retinaler Blutfluss

Studiengruppe	RBF vor Flickerlicht-stimulation [AU]	RBF nach Flickerlicht-stimulation [AU]	Delta RBF (AU)	Delta (%)
Kontrolle	220.7 ± 40.8	230.7 ± 50.1	10 ± 41	9 ± 15
Typ-2 Diabetes	208.1 ± 52.7	222.4 ± 50.0	14 ± 38	13 ± 13
Insulinresistente	237.9 ± 61.6	257.5 ± 69.9	19 ± 46	15 ± 19

Tabelle 4.8 Retinaler Blutfluss mit absolutem und relativem Unterschied

RBF = retinalen Blutfluss

AU = arbitrary units

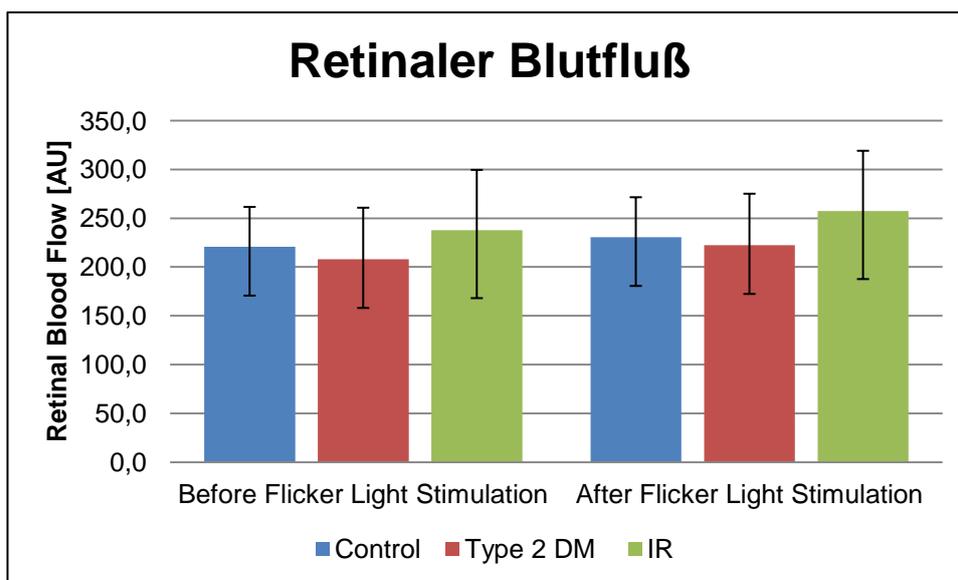


Abbildung 4.9 Mittlerer retinaler Blutfluss vor und nach Flickerlicht-Stimulation
(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

Tabelle 4.8 und Abbildung 4.9 stellen den mittleren retinalen Blutfluss (RBF) dar und zwar vor und nach Flickerlicht-Stimulation mit der entsprechenden Standardabweichung sowie den absoluten Unterschied.

Kontroll- und Insulinresistenzgruppe zeigten dabei tendenziell einen höheren basalen retinalen Blutfluss als die Diabetes Typ 2-Gruppe. Dieser Unterschied wurde auch nach der Stimulation mit Flickerlicht beobachtet.

Jedoch wurde kein signifikanter Unterschied des retinalen Blutflusses zwischen den 3 Gruppen beobachtet und zwar weder zum Baseline-Zeitpunkt noch nach Stimulation (s. Abbildung 4.10).

4.4.1 Zunahme des retinalen Blutflusses

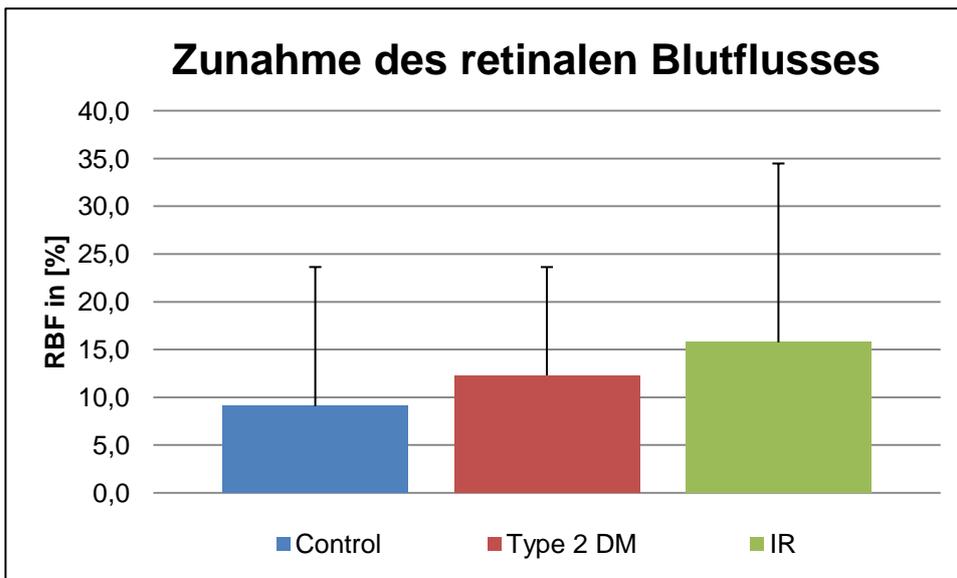


Abbildung 4.10 Zunahme des retinalen Blutflusses

(DM= Diabetes mellitus, IR = Insulinresistenz)

Die Zunahme des retinalen Blutflusses nach Flickerlicht-Stimulation mit der entsprechenden Standardabweichung wird in Abbildung 4.10 gezeigt.

Die Gruppe der Typ 2- Diabetiker und der Insulinresistenten zeigten eine höhere, jedoch nicht signifikante Zunahme im Vergleich mit der Kontrollgruppe (Typ 2- Diabetiker vs. Kontrollgruppe $p = 0,52$; Kontrollgruppe vs. Insulinresistente $p = 0,35$). Zusätzlich konnte kein Unterschied der absoluten und der relativen Zunahme des RBF zwischen den 3 Gruppen festgestellt werden.

4.4.2 Teilung nach Insulinresistenz-Grad

Um genauere Aussagemöglichkeiten zu erhalten, wurden anschließend die insulinresistenten Patienten (IR und Diabetiker) in 3 Subgruppen (Tertiale) entsprechend ihrem Grad der Insulinresistenz (wenig, mäßig und stark) eingeteilt. Die Aufteilung erfolgte durch gleichmäßige Drittelung der Anzahl aller insulinresistenten Patienten entsprechend des HOMA-Wertes in die 3 Tertiale: Gruppe I (n=12) mit den niedrigsten HOMA_{IR}-Werten (0,7 – 2,7), Gruppe II (n=12) mit höheren HOMA_{IR}-Werten (2,9 – 4,2) und Gruppe III (n=11) mit den höchsten HOMA_{IR}-Werten (4,6 – 33,2).

Dabei konnte in diesen Subgruppen eine gleichmäßige Abnahme des retinalen Blutflusses zum Baseline-Zeitpunkt und nach Flickerlicht-Stimulation beobachtet werden (s. Abbildung 4.11).

Der retinale Blutfluss als Reaktion nach Flickerlicht-Stimulation sank von $12 \pm 23 \%$ auf $5 \pm 18 \%$ mit steigendem Grad der Insulinresistenz.

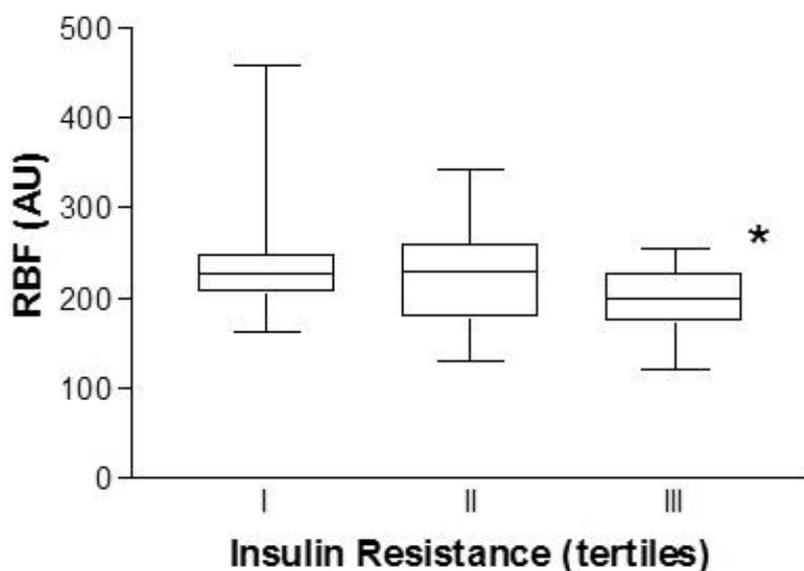


Abbildung 4.11 Retinaler Blutfluss zum Baseline - Zeitpunkt bei Insulinresistenten und Typ 2 - Diabetikern nach Einteilung gemäß dem Grad der Insulinresistenz (Tertiale; * p < 0.05 verglichen mit I, AU= arbitrary units)

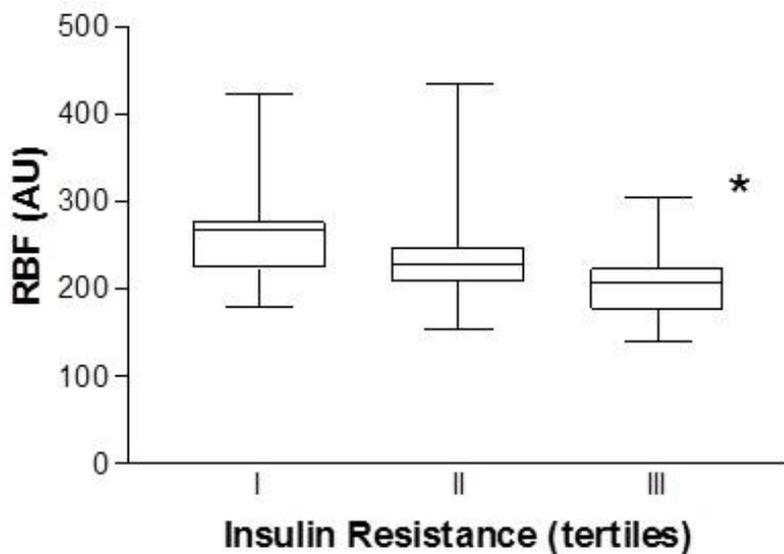


Abbildung 4.12 Retinaler Blutfluss nach Flickerlicht – Stimulation bei Insulinresistenten und Typ 2 - Diabetikern nach Einteilung gemäß dem Grad der Insulinresistenz

(Tertiale; * $p < 0.05$ verglichen mit I, AU= arbitrary units)

4.5 Durchmesser und Gefäßwand zu Lumen – Verhältnis (WLR)

Als Marker für vaskuläre Schädigung wurde eine Steigerung des Verhältnisses der Gefäßwand zum Lumen, der sog. Wall-to-Lumen ratio (WLR), in dieser Studie untersucht.

Wie in Tabelle 4.9 zu sehen, war die WLR bei der Diabetes-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe geringer und bei der IR- Gruppe signifikant geringer im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Studiengruppe	WLR
Kontrolle	0.45 ± 0.09
Typ 2-Diabetiker	0.41 ± 0.09
Insulinresistente	0.40 ± 0.09 *

Tabelle 4.9 Mittelwert der Wall to Lumen Ratio in den Studiengruppen

(* = $p < 0.05$ vs. Kontrollgruppe)

Insgesamt konnten damit in unserer Studie nur sehr geringe Unterschiede der retinalen arteriolen WLR zwischen Gesunden, Insulinresistenten und Typ 2-Diabetikern festgestellt werden. Eine klinische Signifikanz erscheint fraglich.

Nach der Einteilung der IR und D in Subgruppen entsprechend dem Grad der Insulinresistenz fiel die WLR mit steigendem Grad der Insulinresistenz.

Die WLR fiel $0,41 \pm 0,09$ in Tertial I auf $0,40 \pm 0,09$ in Tertial II und auf $0,39 \pm 0,03$ ($p < 0,05$) in Tertial III.

4.6 Sauerstoffsättigung und dermaler Blutfluss

4.6.1 Dermaler Blutfluss an oberflächlicher Haut

Studiengruppen	pre-ischemia		post-ischemia		Zunahme
	SO2 [%]	SBF [AU]	SO2 [%]	SBF [AU]	SBF [AU]
Kontrolle	55.2 ± 11.3	21.2 ± 13.9	76.9 ± 9.2	88.7 ± 32.0	67,4 ± 25.4
Typ 2-Diabetiker	56.9 ± 11.8	23.8 ± 21.3	74.3 ± 9.0	82.1 ± 36.0	58.3±22.1
Insulinresistente	54.4 ± 10.0	19.6 ± 14.9	71.6 ± 11.5	74.7 ± 33.7	55.1±33.9

Tabelle 4.10 Prä-ischämischer und post-ischämischer mittlerer Blutfluss und mittlere Sauerstoffsättigung der oberflächlichen Haut (2 mm Tiefe)

(AU= arbitrary units)

Der mikrovaskuläre Blutfluss (auch als „flow“ bezeichnet, SBF = Skin blood flow) wird in sogenannten arbitrary units (AU) angegeben, die postkapilläre Sauerstoffsättigung (SO2) als Absolutwert in Prozent (%).

Der dermale Blutfluss und die Sauerstoffsättigung wurden in 2 Tiefen bestimmt: in 2 mm zur Erfassung des dermalen Blutflusses und Oxygenierung und in 8 mm zur Messung des oberflächlichen muskulären Blutflusses und Oxygenierung.

Tabelle 4.10 zeigt die Messergebnisse der dermalen Bestimmung prä – und postischämisch. Hierbei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Studiengruppen.

4.6.2 Muskulärer Blutfluss

Studiengruppen	pre-ischemia		post-ischemia	
	SO2 [%]	SBF [AU]	SO2 [%]	SBF [AU]
Kontrolle	68.8 ± 18.9	72.3 ± 27.1	73.2 ± 6.2	150.0 ± 30.6
Typ 2-Diabetiker	59.2 ± 6.6	66.8 ± 41.9	63.6 ± 18.3	146.9 ± 38.8
Insulinresistente	64.8 ± 8.0	48.2 ± 21.2	68.5 ± 7.0	133.4 ± 30.6

Tabelle 4.11 Muskulärer Blutfluss und Sauerstoffsättigung (8 mm)

(SBF = Skin Blood Flow/ dermaler Blutfluss)

SO2 = Sauerstoffsättigung

AU= arbitrary units)

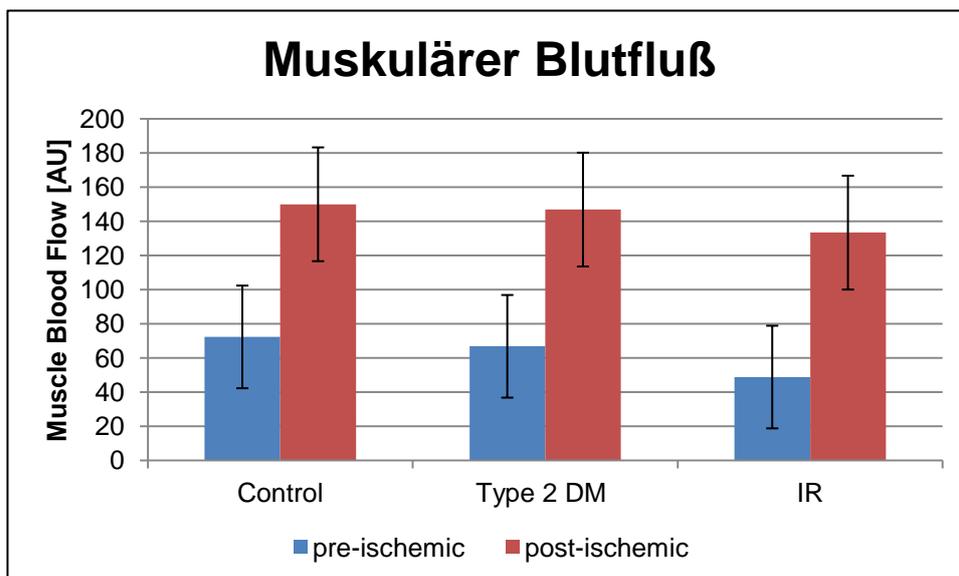


Abbildung 4.13 Prä-ischämischer und post-ischämischer mikrovaskulärer muskulärer Blutfluss

(AU= arbitrary units)

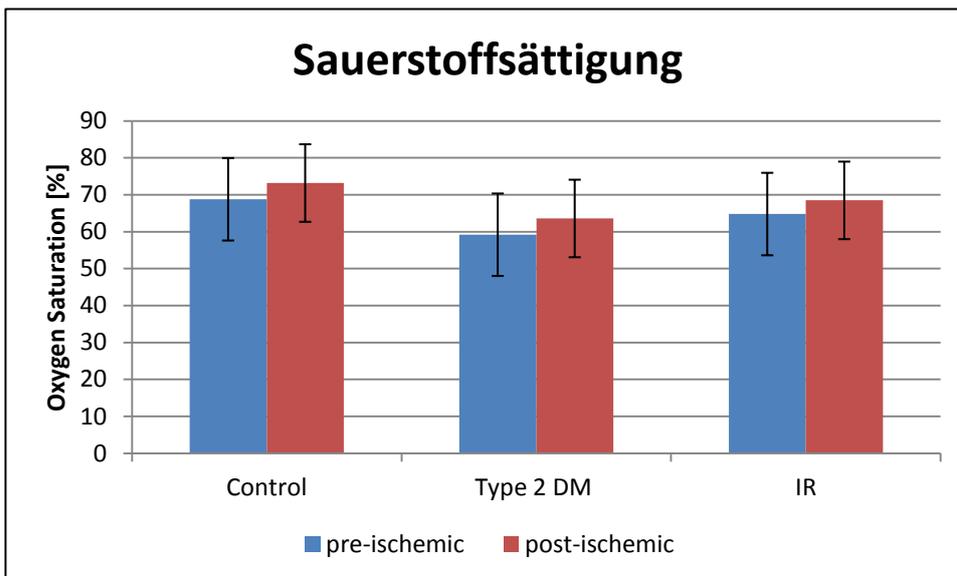


Abbildung 4.14 Prä-ischämischer und post-ischämischer Gewebesättigung mit Sauerstoff

Tabelle 4.11 zeigt den prä-ischämischen und post-ischämischen mittleren Blutfluss und die mittlere Sauerstoffsättigung in der oberen Muskelschicht (8mm) in den drei Studiengruppen. Es werden die Messergebnisse vor und nach Okklusion mit den jeweiligen Standardabweichungen gezeigt.

Die Ergebnisse der muskulären Blutflussmessung (s. Abbildung 4.13) lieferten einen signifikanten prä-ischämischen Unterschied zwischen der Insulinresistenzgruppe und der Kontrollgruppe ($p = 0,0006$).

Die post-ischämische hyperämische dermale Reaktion (Zunahme) war in der IR-Gruppe und Diabetes-Gruppe nur geringgradig weniger als in der Kontrollgruppe.

5 Diskussion

Aus der durchgeführten Studie zur Untersuchung der mikrovaskulären Endothelfunktion lassen sich folgende Erkenntnisse ziehen:

Retinaler Blutfluss

1. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied des retinalen Blutflusses sowohl vor (basal) als auch nach Flickerlichtstimulation zwischen den Diabetikern und den Nicht-Diabetikern
2. Es ergab sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied der absoluten und relativen Zunahme des retinalen Blutflusses
3. Mit zunehmendem Grad der Insulinresistenz wird jedoch beim basalen als auch beim flickerlicht-stimulierten retinalen Blutfluss eine Abnahme deutlich

Dermaler Blutfluss

4. Es ergab sich keine Korrelation zwischen der mikrovaskulären Antwort in der Haut und in der Retina

Wall to Lumen Ratio

5. Es lassen sich in den 3 Gruppen nur geringe Unterschiede in der Wall to Lumen-Ratio erheben
6. Mit zunehmendem Grad der Insulinresistenz kommt es zu einer Abnahme der Wall to Lumen-Ratio – dem Marker für vaskuläre Schädigung

5.1 Einfluss der Insulinresistenz auf die mikrovaskuläre Funktion der Retina

Die Stimulation mittels Flickerlicht auf das Auge führt zu einer Zunahme des retinalen Blutflusses, hervorgerufen durch eine NO-vermittelte Vasodilatation, welche einen sehr guten Marker der endothelialen Funktion darstellt (67).

Die Retina als Spiegelbild zerebraler Gefäße ist zur Erfassung der mikrovaskulären Endothelfunktion optimal geeignet. In einer Studie von Michelson et al. wurde 2002 bereits nachgewiesen, dass Flickerlicht den retinalen Blutfluss im Durchschnitt um $46 \pm 19 \%$ signifikant erhöht (64).

Bei den Typ 2-Diabetikern ist die flickerlicht-induzierte vaskuläre Reaktion jedoch herabgesetzt. Aus bisherigen Studien wurde nachgewiesen, dass dieser autoregulatorische Prozess signifikant reduziert ist (62,63,67):

Es zeigten sich dabei folgende Erkenntnisse:

- a) keine signifikante Zunahme des retinalen Durchmessers auf Flickerlicht-Provokation bei Diabetikern, wohingegen bei gesunden Probanden es zu einer Dilatation von ungefähr 2-3 % der retinalen Arterien und Venen kam (62)
- b) eine signifikante Reduktion der Vasodilatation retinaler Gefäße nach Flickerlicht-Provokation bei Diabetikern im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (62,63)
- c) eine verminderten retinalen Blutfluss bei Diabetikern im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (63).

In unserer Studie beobachteten wir eine Zunahme des retinalen Blutflusses auf Flickerlicht-Provokation in allen drei Studiengruppen.

Unerwartet waren hierbei zum einen das geringe Ausmaß der mittleren Zunahme mit nur 12,3 % sowie andererseits der fehlende signifikante Unterschied zwischen den drei vordefinierten Studiengruppen:

Die Zunahme des retinalen Blutflusses war in der Gruppe der Insulinresistenten am höchsten mit $15,2 \pm 18,5 \%$, in der Gruppe der Typ 2- Diabetiker $12,8 \pm 13,3 \%$ und in der Kontrollgruppe am niedrigsten mit $9,02 \pm 15,3 \%$.

Insgesamt konnte damit zum einen kein signifikanter Unterschied des basalen als auch des flickerlicht-stimulierten retinalen Blutflusses zwischen der Gruppe der Diabetiker und der Nicht-Diabetiker festgestellt werden. Die Zunahme des retinalen mikrovaskulären Blutflusses der Gruppe der Insulinresistenten und der Diabetiker

war zwar leicht, jedoch nicht signifikant höher im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe.

Zum anderen fällt auf, dass der mittlere Blutfluss vor (basal) als auch nach Flickerlicht-Stimulation in der Insulinresistenz-Gruppe höher ausfiel im Vergleich zur Kontrollgruppe, wohingegen die Gruppe der Typ 2 – Diabetiker niedrigere Werte zeigte (basal: Insulinresistente: $237,9 \pm 61,6$ AU, Kontrollgruppe: $220,7 \pm 40,8$ AU, Typ 2- Diabetiker: $208 \pm 52,7$ AU, nach Flickerlicht-Stimulation: Insulinresistente: $257,5 \pm 69,9$ AU, Kontrollgruppe: $230,7 \pm 50,1$ AU, Typ 2- Diabetiker: $222,4 \pm 50,0$ AU; s. *Tab. 4.8 und Abb. 4.9*).

Diese Ergebnisse stehen teilweise im Widerspruch zu den initial beschriebenen Feststellungen ähnlicher Studien (63,64).

Zwar ist hierbei limitierend festzuhalten, dass in den bisherigen Untersuchungen hauptsächlich der arterielle bzw. venöse Durchmesser (basal und nach Flickerlichtstimulation) und dessen prozentuale Zunahme zum Ausgangswert als Parameter (Vasodilatation) gemessen wurde, wohingegen in unserer Studie der retinale Blutfluss als Hauptparameter herangezogen wurde, welcher sich proportional zur Geschwindigkeit der Erythrozyten verhält. Dieser ist aber der aussagekräftigere Parameter (62). Des Weiteren lässt sich aufgrund der physiologischen Gegebenheiten von Veränderungen des Gefäßdurchmessers auf Veränderungen des Blutflusses schließen, was anhand der folgenden Formel – welche den Blutfluss eines großen retinalen Gefäßes beschreibt – deutlich wird:

$$\pi D^2 V_{\text{mittel}} / 4 \quad (68)$$

(*D= Gefäßdurchmesser, V= mittlere Geschwindigkeit des Blutes*).

Hierbei zeigt sich, dass eine Verdopplung des Durchmessers zu einer Vervierfachung des Blutflusses führt.

5.1.1 Erklärung für vorliegende diskrepante Ergebnisse

Zur Klärung unserer erhobenen Befunde ist zu beachten, dass in den bisherigen wissenschaftlichen Untersuchungen mitunter auch widersprüchliche Erkenntnisse offenbar wurden.

So konnte ein im Vergleich zur Kontrollgruppe niedrigerer retinaler Blutfluss bei Diabetikern bereits im Frühstadium beobachtet werden (69,70,71), wohingegen sich in einer Studie von Grunwald et al. zeigte, dass die retinale Perfusion ebenfalls bei Diabetikern im Frühstadium (Diabetesdauer < 4 Jahre) *erhöht* war (72). Passend zum Letzteren belegten mehrere Studien ebenfalls eine erhöhte Zunahme der retinalen Perfusion bei Diabetikern gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe, welche im Rahmen einer kurzzeitigen Hyperglykämie induziert wurde. Diese Beobachtung wurde hauptsächlich mit einer Zunahme der Blutflussgeschwindigkeit erklärt (73,74,75).

Ein weiteres Beispiel kontroverser Ergebnisse ist eine Studie von Pemp et al. mit Typ 1-Diabetikern. Hier zeigte sich auf Flickerlicht-Provokation eine signifikante Reduktion bei Typ 1-Diabetikern, jedoch blieb die vaskuläre Antwort der retinalen Gefäße auf direkte exogene NO-Gabe unverändert, weswegen man davon ausgeht, dass die gestörte flicker-induzierte Vasodilatation keine Folge einer reduzierten vaskulären Reaktivität, sondern auf die endotheliale Dysfunktion zurückzuführen ist (76).

Ebenso ist zu beachten, dass die diabetische Retinopathie Einfluss auf die retinale Perfusion hat. So wurde bewiesen, dass Diabetiker mit Zeichen einer milden nicht-proliferierenden Retinopathie einen signifikant niedrigeren retinalen Blutfluss verglichen mit gesunden Probanden haben (62,77). Es konnte ferner bei Patienten mit einer diabetischen Retinopathie eine reduzierte retinale arterielle und venöse Blutflussgeschwindigkeit nachgewiesen werden (78). Mit zunehmendem Stadium der diabetischen Retinopathie verschlechtert sich die Reaktion auf Flickerlicht-Provokation in den retinalen Gefäßen (63), wofür eine abnormale retinale vaskuläre Autoregulation ursächlich ist (72,79,80).

Obwohl in unserem Patientenkollektiv - auf Basis der durchgeführten digitalen Funduskopie - nur Patienten ohne diabetische Retinopathie ausgewertet worden sind, ist jedoch nicht auszuschließen, dass unter ihnen einige Patienten Prä-Retinopathie-Stadien aufweisen. Dies würde den niedrigeren retinalen Blutfluss bei

Typ 2-Diabetikern und schließlich auch die nicht signifikante Zunahme des retinalen Blutflusses auf Flickerlichtprovokation erklären.

5.1.2 Limitierende Faktoren

Folgende limitierende Faktoren kommen hierbei noch hinzu: Es kann ebenfalls nicht ausgeschlossen werden, dass die retinalen Gefäße der Insulinresistenten und Typ 2-Diabetiker bereits prädilatiert sind und dies zu den im Verhältnis niedrigen Flicker-Reaktionen beigetragen hat. Diese Beobachtung wird der verminderten mikrovaskulären vasodilatatorischen Reserve zugeordnet. Bekräftigt wird diese Vorstellung durch die Tatsache, dass in einigen Studien größere arterielle und venöse Durchmesser retinaler Gefäße bei Patienten mit lang bestehendem Diabetes festgestellt wurden (67,72,81).

Jedoch bleibt bei diesem Hintergrund ungeklärt, weshalb die Kontrollgruppe eine niedrigere Zunahme des retinalen Blutflusses im Vergleich zu den Diabetikern und Insulinresistenten aufweist. Hierbei muss jedoch - ebenfalls limitierend - erwähnt werden, dass Änderungen der retinalen Gefäßdurchmesser zwischen Diabetikern und gesunden Probanden aufgrund der hohen interindividuellen Unterschiede der retinalen Gefäßarchitektur schwer zu evaluieren sind.

Ebenso limitierend für unsere Studie ist die Einschränkung, dass keine Daten über die Plasma-Nitratkonzentration der Studienpopulation vorliegen. Obwohl keiner der Patienten unter regelmäßiger Nitrattherapie stand (s. Ausschlusskriterium Nr. 8), können wir nicht vollständig ausschließen, dass eine nitratreiche Ernährungsform die flicker-induzierte Vasodilatation beeinflussen kann.

Ferner liegt eine Einschränkung der Studienergebnisse in Bezug auf mögliche nicht erfasste Glaukom-Patienten vor, bei denen aufgrund nachgewiesener gestörter neuronaler Aktivität (s.u.) ebenfalls eine reduzierte Flickerlicht-Reaktion der Retina hervorgerufen wird. Diese Gegebenheit könnte daher auch teilweise zur Erklärung der vorliegenden Ergebnisse des retinalen Blutflusses herangezogen werden (67).

5.1.3 Die Subgruppen-Berechnung nach dem Ausmaß der Insulinresistenz

In Anbetracht der bisherigen teilweise widersprüchlichen Ergebnisse wurde im Rahmen der Auswertung eine weiterführende Aufteilung der Studiengruppen IR und DM nach dem Grad der Insulinresistenz (gemessen am HOMA-Resistenzindex) in drei Tertiale vorgenommen. Hierdurch sollte der Zusammenhang zwischen der Insulinresistenz und der retinalen mikrovaskulären Endothelfunktion besser zum Ausdruck kommen und damit genauere Aussagen getroffen werden können.

Die Aufteilung erfolgte durch gleichmäßige Drittelung der Anzahl aller insulinresistenten Patienten entsprechend des HOMA-Wertes in die 3 Tertiale: Gruppe I (n=12) mit den niedrigsten HOMA_{IR}-Werten (0,7 – 2,7), Gruppe II (n=12) mit höheren HOMA_{IR}-Werten (2,9 – 4,2) und Gruppe III (n=11) mit den höchsten HOMA_{IR}-Werten (4,6 – 33,2).

Nach der Auswertung kristallisierte sich interessanterweise heraus, dass mit steigendem Grad der Insulinresistenz der basale als auch der flickerlicht-stimulierte retinale Blutfluss reduziert war (Abb. 4.11 und 4.12). Der mittlere retinale Blutfluss als vaskuläre Antwort nach Flickerlicht- Stimulation sank nach dieser neuen Berechnung von $12 \pm 23 \%$ auf $5 \pm 18 \%$ mit steigendem Grad der Insulinresistenz.

Diese Beobachtung belegt eine Störung der retinalen mikrovaskulären endothelialen Funktion mit der Entwicklung der Insulinresistenz. Mehrere ähnliche Studien haben den Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und retinaler vaskulärer Funktion untersucht und dazu gleichartige Ergebnisse erbracht.

5.1.4 Vergleich mit ähnlichen Studienergebnissen

So konnte eine Assoziation zwischen den Änderungen retinaler Gefäßeigenschaften mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse und kardiovaskulärer Mortalität bei Typ 1-Diabetikern bereits gezeigt werden (76). Hierbei wird deutlich, dass diese mikrovaskulären Funktionsstörungen der Retina im Stadium der Insulinresistenz den späteren makrovaskulären Komplikationen lange vorausgehen.

Untersuchungen der retinalen Gefäßfunktion demonstrierten, dass eine flicker-induzierte Vasodilatation hauptsächlich von einer intakten NO-Synthese abhängig ist. (76,62,63). Daten zur Untersuchung der endothelialen Dysfunktion zeigten deutlich,

dass eine Inhibition der NO-Synthase signifikant die flicker-induzierte Vasodilatation reduziert (82).

Eine andere Untersuchung zur flicker-induzierten und flow-vermittelten Vasodilatation bei Patienten mit endothelialer Dysfunktion und Gesunden demonstrierte, dass eine reduzierte Flickerlicht-Reaktion mit einer verschlechterten endothelialen Vasodilatation der retinalen Gefäße zusammenhängt (82). Außerdem belegten Tabit et al., dass vaskuläre Abnormalitäten bereits sehr früh, nämlich vor dem Auftreten angiopathischer Läsionen bzw. klinischer Symptome, nachweisbar sind (17,24).

Ebenso konnte eine reduzierte retinale Flickerlichtreaktion bei Patienten mit systemischer Hypertension ermittelt werden (83,84).

Ferner zeigt sich als weiterer Hinweis für den Zusammenhang einer gestörten retinalen vaskulären Funktion mit dem metabolischen Syndrom eine negative Korrelation zwischen flicker-induzierter Vasodilatation und dem Spiegel für Gesamt-Cholesterin (67,85).

Auch ist insgesamt die Assoziation zwischen Insulinresistenz und endothelialer Dysfunktion mehrfach belegt (5,6,17):

Es konnte bewiesen werden, dass die für die Insulinresistenz charakteristischen Merkmale der Hyperinsulinämie, der gestörten Nüchtern-Glukose (IFG) und der gestörten Glukose-Toleranz (IGT) eine signifikante Verschlechterung der endothel-abhängigen Vasodilatation hervorbrachten. Letztere wird dabei häufig als Surrogatparameter der Endothelfunktion herangezogen (17).

Diese ist nachgewiesenermaßen verschlechtert bei Patienten mit dokumentierter koronarer Herzkrankheit und bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren (86,87,88). Solche vaskulären Dysfunktionen sind – wie bereits beschrieben – schon sehr früh erkennbar, bevor messbare Läsionen oder klinische Symptome auftreten (24).

Bei den Insulinresistenten in unserer Studie bestätigte sich im oGTT das Vorliegen des IFG (zwischen 100-125 mg/dl) mit einer durchschnittlichen Nüchtern-Glukosekonzentration von 6,1 mmol/l (109 mg/dl). Somit korrelieren hier unsere Ergebnisse, da diese Patienten einen verschlechterten retinalen Blutfluss aufwiesen.

Tooke et al. beschrieben bereits 1999, dass Patienten mit erhöhter Nüchtern-Glukose eine verschlechterte mikrovaskuläre vasodilatatorische Reserve zeigten;

ferner ist eine inverse Korrelation zwischen der vasodilatatorischen Reserve und der Insulinsensitivität beobachtet worden (5,43,89).

Ebenso zeigte sich in der erwähnten Untersuchung eine Korrelation zwischen Insulinsensitivität und der Zunahme des dermalen Blutflusses (induziert durch Acetylcholin bei übergewichtigen Frauen) sowie zwischen erhöhten Plasma-Insulinspiegeln und der endothelialen Dysfunktion des koronaren Kreislaufs (17). Hohe Plasma-Insulinspiegel korrelierten dabei ebenfalls invers mit der A. brachialis-vermittelten-Dilatation (90). Dabei konnte auch eine inverse Korrelation des HOMA-IR mit dem Blutfluss am Bein als Reaktion auf Methacholin-Provokation sowie des dermalen Blutflusses als Reaktion auf Acetylcholin-Provokation bei Diabetikern im Vergleich mit Nicht-Diabetikern beobachtet werden (91,92).

In der Framingham Herz Studie korrelierte die A. brachialis vermittelte Dilatation ebenfalls invers mit dem HOMA-IR (93).

Auch in unserer Studie fällt ein entsprechendes Ergebnis auf: so wird eine Assoziation zwischen den erhöhten Insulinspiegeln bei den Insulinresistenten im oGTT (nüchtern 90,9 pmol/L, 2h-Wert 537,5 pmol/l) und bei den Diabetikern (nüchtern 109,6 pmol/L, 2h-Wert 420,5 pmol/l) mit dem reduzierten retinalen Blutfluss indirekt erkennbar.

Pathophysiologisch lässt sich dies auch mit Störungen in der Signaltransduktion erklären. Bei Insulinresistenz führen erhöhte Konzentrationen an freien Fettsäuren, Hyperglykämie oder auch inflammatorische Zustände zu einer selektiven Blockade des PI-3-Kinasepfades mit verminderter NO-Freisetzung. Die kompensatorische Hyperinsulinämie aktiviert in Folge vermehrt den MAP-Kinase-Weg und daraus resultiert eine vermehrte Sekretion des vasokonstriktorisches Endothelin -1 (11).

Insgesamt lässt sich aus dieser großen Evidenzlage - auch unter Beachtung der limitierenden Faktoren unserer Studie - hervorheben, dass die Insulinresistenz stark mit einer verschlechterten retinalen mikrovaskulären Funktion assoziiert ist. Als pathophysiologisches Korrelat ist eine Störung des vaskulären Tonus als auch der Blutflussregulation des retinalen Endothels bei Insulinresistenten und Diabetikern zu vermuten.

Ferner wird dabei ebenso deutlich, dass funktionelle Störungen des Gefäßendothels signifikant mit dem Vorliegen einer Insulinresistenz korrelieren.

5.1.5 Pathophysiologischer Ansatz der gestörten retinalen Flickerlichtreaktion

Als pathogenetische Mechanismen werden dafür die reduzierte endothelabhängige vasodilatatorische Kapazität retinaler Gefäße als auch die erniedrigte Kapazität zur Anpassung auf Änderungen des Perfusionsdruckes diskutiert (62,80,94). Mehrere Studien an Tieren und Menschen zeigten, dass Diabetes mellitus mit einer abnormalen retinalen vaskulären Reaktion auf Hyperoxie (95,96) und einer abnormalen retinalen Autoregulation (80,97) assoziiert ist. In diesem Zusammenhang ist als einer der frühesten Veränderungen der diabetischen Retina ein Verlust an Perizyten (98) aufgefallen, der die veränderte Ansprechbarkeit auf lokal generierte Mediatoren erklärt.

Neben diesen vaskulären Abnormalitäten ist auch die neuronale Aktivität gestört. Es gibt mehrere Untersuchungen, die eine Zunahme des retinalen Blutflusses als Reaktion auf Flickerlichtstimulation als direkte Folge einer erhöhten retinalen neuronalen Aktivität, hauptsächlich einer gesteigerten Ganglion-Zell-Aktivität, werten (99). Diese Störung liegt bereits vor dem Auftreten klinischer Symptome der Retinopathie vor (62).

5.1.6 Insulinresistenz und Endotheldysfunktion

Ursache der zugrundeliegenden Abnormalität ist folgender Prozess:

Unter physiologischen Bedingungen wird der vasoprotektive und detoxifizierende Vasodilatator NO durch die enzymatische NO-Synthase (eNOS) in glatten Muskelzellen als Reaktion auf Stimuli wie Insulin, Acetylcholin, Bradykinin sowie mechanischer Scherkräfte synthetisiert.

Bei Patienten mit nachgewiesener Insulinresistenz ist das NO-abhängige System gestört:

Die im Rahmen der Insulinresistenz und des Diabetes mellitus auftretende Hyperglykämie gilt als einer der wichtigsten Ursachen von oxidativem Stress;

dem Ungleichgewicht zwischen Entstehung und Abbau toxisch wirkender freier Radikale (reaktive Sauerstoff - oder aber auch Stickstoffmoleküle).

Zu diesen toxischen Endprodukte zählen unter anderem sogenannte AGE's (advanced glycation end products), die wiederum erhöhte ROS - Produktion und damit weitere vaskuläre Schädigung generieren.

Durch Reaktion von NO mit den freien Radikalen kommt es zu einer erhöhten Aktivität der NO-Synthase und damit dem erhöhten Verbrauch von NO (10).

Zusätzlich liegt die oben beschriebene Störung der unterschiedlichen Signaltransduktionswege an den Endothelzellen vor. Der durch die Hyperinsulinämie blockierte Weg der PI-3-Kinase führt folglich zur Überaktivierung des MAP-Kinaseweges am Endothel mit Sekretion des Vasokonstriktors Endothelin-1 (11,12).

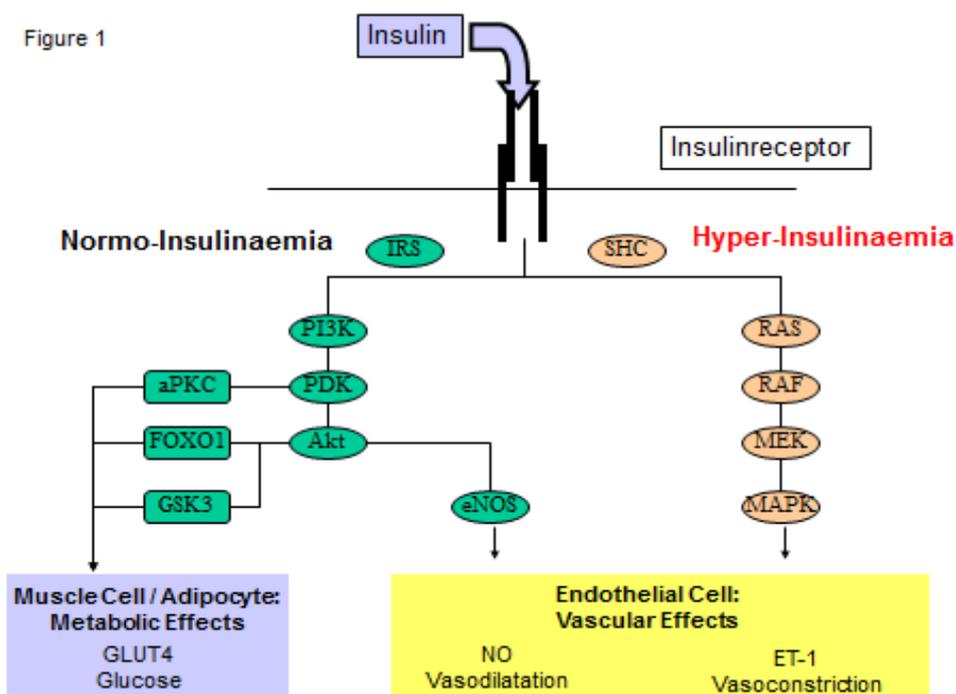


Abbildung 5.1 Schematische Darstellung der intrazellulären Insulinsignalwirkung (100)

(aPKC: atypical protein-kinase C; eNOS: endothelial nitric oxide synthase; ET1: endothelin 1; FOXO1: forkhead Box01; IRS: insulin receptor substrate; MAPK: mitogen activated proteinkinase; MEK: mitogen activated proteinkinase kinase; NO: nitric oxide; PDK: phosphoinositide-dependent kinase; PI3K: phosphatidylinostol 3 kinase; RAS, RAF: proto-oncogenes; SHC: adapter protein)

Schließlich steht immer weniger NO zur vasodilatatorischen Regulation zur Verfügung, mit der Folge einer reduzierten Vasodilatation und des Überwiegens der vasokonstriktorischen Wirkung (48,101,102). Die verminderte Bioverfügbarkeit für NO gilt daher als ein wesentliches Merkmal der gestörten flicker-induzierten Vasodilatation (82) und als grundlegender Defekt, der die Endotheldysfunktion und Insulinresistenz miteinander verbindet.

Mehrere Studien belegen den beschriebenen Sachverhalt:

Bei Patienten mit IGT führt die beschriebene reduzierte Vasodilatation führt zu gesteigerter Hypertension (102).

In einer Studie von Kawano et al. wurde deutlich, dass bei Patienten mit IGT eine transiente orale Glukosezufuhr die endothel-abhängige Vasodilatation der A. brachialis reduzierte, welche durch eine signifikante Steigerung der zirkulierenden freien Sauerstoff- Radikale begleitet wurde (103).

So lässt sich daraus zusammenfassen, dass die endotheliale Dysfunktion mit einer reduzierten NO Bioverfügbarkeit assoziiert ist, bedingt durch Verlust infolge verminderter NO-Produktion oder durch Verlust infolge erhöhter biologischer NO-Aktivität.

Sie stellt damit ein frühes Merkmal der endothelialen Schädigung dar, was auch für retinale Gefäße gilt. Des Weiteren muss die endotheliale Dysfunktion als ein über Jahre dynamischer akkumulierender Prozess verstanden werden.

5.1.7 Interaktion zwischen Endotheldysfunktion und Insulinresistenz

Die endotheliale Dysfunktion geht der Entwicklung des Diabetes mellitus lange voraus.

In Querschnittsstudien konnte gezeigt werden, dass gesunde Menschen mit Verwandten 1. Grades eines Typ 2-Diabetikers zum einen eine verschlechterte endothel-abhängige Vasodilatation und zum anderen deutlich erhöhte Plasmamarker der endothelialen Zellaktivierung offenbarten (48,92,104). Auch waren Blutmarker der endothelialen Dysfunktion und der systemischen Inflammation bei gesunden Nachkommen mit nachgewiesener Insulinresistenz im oGTT erhöht (104).

Zusätzlich erbrachten prospektive Studien, dass Blutmarker der endothelialen Dysfunktion die Inzidenz des Typ 2-Diabetes mellitus voraussagen konnten, wenn andere Risikofaktoren wie der Body Mass Index, körperliche Aktivität, Lipide, positive Familienanamnese für Diabetes und Glukosetoleranz mitberücksichtigt wurden. (105,106).

Das Auftreten der Endotheldysfunktion vor der Entwicklung des Typ 2-Diabetes mellitus verdeutlicht damit die gemeinsamen pathophysiologischen Mechanismen zwischen Insulinresistenz und Endotheldysfunktion.

Jedoch ist bislang die genaue Interaktion zwischen metabolischer und endothelialer Insulinresistenz noch nicht ganz verstanden. So ist die Frage, ob die endotheliale Dysfunktion als Folge oder nicht doch als Ursache all der beschriebenen Veränderungen des metabolischen Syndroms zu sehen ist, noch nicht abschließend geklärt.

Hierfür sprechen beispielsweise einige epidemiologische Studienergebnisse, welche vaskuläre Komplikationen deutlich häufiger bei insulinresistenten Patienten noch vor der Entwicklung einer Hyperglykämie beschreiben (107). Auch zeigte sich bei normoglykämischen und normotensiven Patienten mit einer positiven Familienanamnese, dass eine vorliegende Insulinresistenz mit einer verminderten NO-abhängigen Vasoreaktivität großer Gefäße korreliert (10,48,92). In vielen weiteren Studien wurde eine Assoziation zwischen Insulinresistenz und mikrovaskulären Komplikationen bei normoglykämischen Patienten beschrieben. Ferner wird die Insulinresistenz auch mit makrovaskulären Komplikationen, insbesondere dem Myokardinfarkt, bei noch normoglykämischen Patienten beobachtet (10,17,108).

So scheinen die vasotoxische Wirkungen auch unabhängig von einer Hyperglykämie auftreten zu können.

Dementsprechend gibt es Überlegungen, dass die Endotheldysfunktion gemeinsam mit einer gestörten kapillären Wirkung selbst eine Ursache der Insulinresistenz darstellt und damit noch vor der Hyperglykämie auftritt. Grund dafür ist die mangelnde Wirkung des Insulins auf das Endothelium glatter Muskelzellen und die herabgesetzte Glukose-Freisetzung, was als endotheliale Insulinresistenz bezeichnet wird (109).

Ein weiterer Ansatzpunkt zur Klärung dieser Beobachtungen ist die Hypothese, dass sowohl metabolische als auch endotheliale Schädigungen gemeinsam an der Pathogenese von Komplikationen bei Patienten mit IGT beteiligt sind. Dabei ist der Anteil jeder dieser Mechanismen an den Komplikationen unterschiedlich (10). So wird die inflammatorisch bedingte Atherogenese und Defekte der Thrombololyse für Komplikationen an großen Gefäßen, wie dem Myokardinfarkt und dem Apoplex, verantwortlich gemacht.

Die Entwicklung der chronischen Atherogenese und Thrombusformation wird hingegen vielmehr der Insulinresistenz, den erhöhten freien Fettsäuren und den inflammatorischen Zytokinen zugeschrieben als einer Hyperglykämie. Dies würde auch die Assoziation der Insulinresistenz mit Komplikationen wie dem Myokardinfarkt bei noch normoglykämischen Patienten erklären.

Hierbei wird deutlich, dass der Zusammenhang zwischen endothelialer Dysfunktion und Diabetes mellitus aufgrund von vielen unabhängigen Faktoren einschließlich Insulinresistenz, Alter, Übergewicht, Hyperlipidämie, Hypertension, Inflammation und Hyperglykämie trotz breiter Forschung noch nicht vollständig verstanden ist und kontrovers diskutiert wird.

Weitere Studien sind zur Klärung der progressiven Glukoseintoleranz und der Untersuchung der Interaktionen als auch der direkten metabolischen Effekte der Hyperglykämie, Insulinresistenz, Hyperinsulinämie auf die vaskuläre Funktion erforderlich. Hier insbesondere die komplizierte regulatorische Beziehung zwischen Insulin und NO im vaskulären Gewebe als auch der Effekt der direkten Hyperglykämie auf Insulinresistenz.

5.1.8 Schlussfolgerung und offene Punkte

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstreichen schlussfolgernd den verschlechterten retinalen mikrovaskulären Blutfluss und damit die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit Insulinresistenz und manifestem Diabetes mellitus. Hierbei zeigt sich die Rolle der Insulinresistenz als ein wesentlicher pathogenetischer Faktor in der Entwicklung vaskulärer Komplikationen, wie sie bei den mikrovaskulären (Retinopathie, Neuropathie, Nephropathie) und makrovaskulären Schäden (Myokardinfarkt und zerebrovaskuläre Ereignisse) beschrieben ist.

Die Evidenz der frühen retinalen vaskulären Veränderungen im Zusammenspiel mit dem Glukose - und NO-Metabolismus ist teilweise inkonsistent und noch nicht abschließend geklärt.

Der Grund für die fehlende Korrelation zwischen retinaler und dermalen mikrovaskulärer Funktion sowie für die geringen Unterschiede in der Wall to Lumen-Ratio zwischen der Kontroll- und der Insulinresistenzgruppe und der fehlenden Korrelation zwischen der der Wall to Lumen-Ratio (s.u.) und der Insulinresistenz, sollte Gegenstand weiterer Studien sein.

In Bezug auf die Untersuchungsmethode sollte in weiteren Longitudinalstudien gezeigt werden, ob die Flickerlicht-Stimulation als ein Prädiktor für systemische Erkrankungen herangezogen werden kann, wie es bereits für die flow-vermittelte Vasodilatation (FMD) der A. brachialis der Fall ist.

Jedoch ist die retinale Flickerlichtuntersuchung eine exzellente Methode zur Messung der endothelialen Funktion in der klinischen Routine, da sie

- a) vaskuläre Schäden frühzeitig diagnostiziert (abnormale Freisetzung von NO)
- b) eine sehr gute Reproduktivität und Sensitivität vorweist
- c) nicht-invasiv durchgeführt wird und damit kein nennenswertes Unwohlsein für den Patienten bedeutet
- d) keine subjektive Untersucherkomponente innehat (solange ein optimales Fundusbild erstellt wurde)

5.2 Ergebnisse der Wall to Lumen Ratio

Die oben beschriebenen frühen morphologischen vaskulären Veränderungen in der Entwicklung des Diabetes mellitus bezeichnet man als arterielles Remodelling. Dazu gehören die vaskuläre Fibrose (Akkumulation von extrazellulären Matrixproteine in die Gefäßwand), das Wachstum aber auch die Apoptose glatter Muskelzellen und schließlich die Gefäßlumeneinengung des Durchmessers von Arteriolen und kleinen Arterien. Arteriell Remodelling wird am besten durch das Verhältnis der Gefäßwand zum Lumen (WLR) beschrieben.

Studien konnten demonstrieren, dass hypertensive Patienten mit einer Anamnese zerebrovaskulärer Ereignisse im Vergleich zu hypertensive und normotensive Patienten ohne eine entsprechende Anamnese eine größere WLR der retinalen Arteriolen aufweisen (65). Ebenso konnte belegt werden, dass die WLR retinaler Arteriolen mit der Albuminausscheidung - einem etablierten Parameter für renale und mikrovaskuläre Schädigung - korreliert (110). Ein erhöhter Wert spiegelt also eine vaskuläre Schädigung wider.

In unserer Studie ergaben sich jedoch nur geringe Unterschiede zwischen der Gruppe der Nicht-Diabetiker, den Insulinresistenten und den Patienten mit Typ 2-Diabetes mellitus. Selbst nach Einteilung nach dem Grad der Insulinresistenz fiel merkwürdigerweise die WLR mit steigendem HOMA-Resistenzindex. Eine niedrige WLR bei Insulinresistenten und Typ 2-Diabetikern zu finden, war unerwartet. Insgesamt scheint die klinische Bedeutung daher fraglich.

5.2.1 Limitationen

Mehrere Gründe kommen dafür in Frage: Ein Problem technischer Natur ist beispielsweise das Errechnen der äußeren Gefäßwandgrenze, wenn die Gefäße sehr kleinkalibrig sind.

Ferner können Streuungseffekte des reflektierten Laserlichtes zu Messungenauigkeiten des Flussdurchmessers führen.

Eine weitere Limitation dieser Untersuchungsmethode ist die Artefaktentstehung: Für die Auswertung ist eine Fixation des Auges erforderlich. Kleine Augenbewegungen und Sakkaden während der Messdauer von 2,048 Sekunden können solche Artefakte auslösen.

Auch anatomische Abnormalitäten wie ein Astigmatismus, eine Hornhaut -, eine Linse - oder eine Glaskörpertrübung kann ebenso zu Fundusbildern führen, die außerhalb des Fokus liegen oder eine verzerrte Reflektion hervorrufen.

Hinzu kommen Einflüsse von großen Änderungen des systemischen Blutdruckes. So hat ein gesteigerter retinaler Blutdruck auch Veränderungen des inneren und damit auch des äußeren Gefäßdurchmessers zur Folge.

Auch muss der laminare Blutfluss berücksichtigt werden, der als Schutzschicht zwischen dem Endothel und den Blutkörperchen fungiert. Bei älteren Menschen ist

dieser reduziert, folglich entstehen vermehrt Scherkräfte auf das Endothel. So erklären sich deutliche Unterschiede zwischen jüngeren und älteren Menschen. Letztlich müssen die absoluten Messwerte des Gefäßdurchmessers und des Flusssdurchmessers vorsichtig betrachtet werden (58).

5.3 Ergebnisse der dermalen Mikroperfusion

Die Untersuchung der Sauerstoffsättigung und des mikrovaskulären dermalen und muskulären Blutflusses mittels der O2C-Methode ergab Folgendes:

Der prä- und postischämische dermale mikrovaskuläre Blutfluss und die Sauerstoffsättigung zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den 3 Studiengruppen (*Dermaler Blutfluss*: Kontrollgruppe vs. IR $p > 0.05$, Kontrollgruppe vs. Typ-2 DM $p > 0.05$; *Dermale Sauerstoffsättigung*: Kontrollgruppe vs. IR $p > 0.05$, Kontrollgruppe vs. Typ-2 DM $p > 0.05$).

Diese Beobachtung korrespondiert nicht mit Ergebnissen vergleichbarer Studien, in denen der dermale mikrovaskuläre Blutfluss und die Sauerstoffsättigung signifikante Unterschiede zwischen den Diabetikern und den nicht-diabetischen Patienten zeigten (111).

Ebenso war in unserer Studie der präischämische dermale Blutfluss signifikant niedriger (um mehr als 50 %) im Vergleich zu einer ähnlichen Studie. (111)

Diese Vermutung basiert auch auf der Tatsache, dass die Ergebnisse der Sauerstoffsättigung und des muskulären Blutflusses mit der oben erwähnten Studie übereinstimmen.

Auch fiel am präischämischen Zustand auf, dass der dermale Blutfluss (Tab. 4.10) in der Diabetiker-Gruppe am höchsten war, gefolgt von der Kontroll – und der Insulinresistenzgruppe. Diese Reihenfolge änderte sich in der postischämischen Phase: die Kontrollgruppe zeigte hier die höchsten Werte, gefolgt von den Diabetikern und den Insulinresistenten. Dieser Verlauf war ebenso bei der Sauerstoffsättigung der Haut zu beobachten, jedoch nicht für den muskulären Blutfluss und dessen Sauerstoffsättigung

Der präischämische muskuläre Blutfluss (Tab. 4.11 und Abb. 4.13) war in der Insulinresistenzgruppe signifikant geringer im Vergleich zur Kontrollgruppe (Kontrollgruppe: 72.3 ± 27.1 AU, IR: 48.2 ± 21.2 AU, Typ-2 DM: 66.8 ± 41.9 AU). Jedoch war die postischämische Reaktion in der Insulinresistenz – und Diabetesgruppe nur geringgradig geringer als in der Kontrollgruppe. Die Zunahme des Blutflusses war somit in der Insulinresistenz – und Diabetesgruppe nicht signifikant höher (C: 77.2 ± 23.1 AU, IR: 85.1 ± 33.9 AU, Type-2 DM: 80.1 ± 28.1 AU). Die Sauerstoffsättigung im postischämischen Zustand war in der Insulinresistenz – und Diabetesgruppe signifikant geringer (Kontrollgruppe: 73.2 ± 6.2 %, IR: 68.5 ± 7.0 %, $p < 0.05$, Typ-2 DM: 63.6 ± 18.3 %, $p < 0.05$).

5.3.1 Schlussfolgerung

Insgesamt bestätigt die Studie damit eine gestörte Sauerstoffsättigung in der Haut insulinresistenter und diabetischer Patienten. Die muskuläre Mikroperfusion war bei den Insulinresistenten ebenso signifikant reduziert, während die Typ 2-Diabetiker keinen signifikant niedrigeren Blutfluss zeigten.

Es wurde keine Korrelation zwischen der mikrovaskulären Antwort in der Haut und in der Retina beobachtet, da beide Verfahren gegensätzliche Reaktionen auf Stimulation bzw. auf Ischämie offenbarten.

Darüber hinaus gab es auch keine Korrelation zwischen der mikrovaskulären Reaktion der Haut in 2 mm und in 8 mm Tiefe.

Gleichwohl sollte weitere Forschung aufklären, ob diese Unterschiede in der mikrovaskulären Physiologie gewebeabhängig oder auf die unterschiedlichen Stimulationsmethoden zurückzuführen sind.

6 Zusammenfassung

Die vorliegende klinische Studie hatte zum Ziel, die mikrovaskuläre Endothelfunktion retinaler und dermaler Gefäße von Insulinresistenten und Typ 2- Diabetikern ohne Zeichen einer diabetischen Retinopathie mit einer gesunden insulin sensitiven nicht-diabetischen Kontrollgruppe hinsichtlich früher morphologischer und funktioneller Veränderungen zu vergleichen.

Methode:

Es wurden 54 Patienten ohne Nachweis einer diabetischen Retinopathie eingeschlossen und in 3 Gruppen entsprechend ihren metabolischen Ergebnissen eingeteilt: 1.) **Gruppe K** (Kontrollgruppe) setzte sich aus gesunden, nicht-diabetischen, insulin-sensitiven (HOMA \leq 2) Probanden mit einem BMI \leq 28 kg/m² zusammen; 2.) **Gruppe IR** bestand aus den nicht-diabetischen, insulin-resistenten (HOMAs $>$ 2), übergewichtigen Patienten mit einem BMI $>$ 28 kg/m² und 3.) **Gruppe DM** war definiert als Patienten mit einem manifesten Typ 2-Diabetes mellitus.

Die mikrovaskuläre Funktion der Retina wurde mittels eines Laserdoppler-Verfahrens (Heidelberg Retina Flowmeter) untersucht und hierbei der retinale Blutfluss und das Verhältnis der Gefäßwand zum Lumen (WLR, wall-to-lumen-ratio) basal und nach Flickerlicht-Stimulation (10 Hz, Photo Stimulator 750) gemessen. Letzterer gilt als Marker für vaskuläre Schädigung.

Zusätzlich wurde die dermale Mikrozirkulation (Blutfluss, O₂-Sättigung) als weiterer Faktor der mikrovaskulären Endothelfunktion in den 3 Studiengruppen untersucht und miteinander verglichen.

Ergebnisse:

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied des retinalen Blutflusses zwischen den 3 Gruppen weder basal noch nach Flickerlicht-Stimulation. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen der mikrovaskulären Funktion der Haut und der Retina.

Die arterielle WLR zeigte nur geringe Unterschiede zwischen den 3 Gruppen.

Mit zunehmendem Grad der Insulinresistenz wurde jedoch eine Reduktion des basalen als auch des flickerlicht-stimulierten retinalen Blutflusses deutlich, dabei zeigte sich unerwarteter Weise eine Abnahme der WLR.

Der (prä-ischämische) muskuläre Blutfluss war in der IR-Gruppe signifikant geringer als in der K-Gruppe. Auch war die postischämische dermale O₂-Sättigung in der DM und IR-Gruppe signifikant niedriger im Vergleich zur K-Gruppe. Jedoch war die postischämische hyperämische dermale Reaktion in der IR und DM-Gruppe nur geringgradig weniger als in der K-Gruppe.

Schlussfolgerung:

Eine Korrelation zwischen der Entwicklung der Insulinresistenz und retinaler sowie dermalen mikrovaskulärer endothelialer Funktion wurde bei der Studie deutlich. Mithilfe des neuen Verfahrens der Laser Scanner Flowmeter zur Messung der retinalen Endothelfunktion lassen sich sehr frühe morphologische Veränderungen des mikrovaskulären Blutflusses erfassen.

Die fehlende Korrelation zwischen retinaler und dermalen mikrovaskulärer Funktion als auch die geringen Unterschiede der WLR sollte Gegenstand weiterer Studien sein.

7 Literaturverzeichnis

1. Dietze-Schroeder D. Adipokine in der Entwicklung der muskulären Insulin-Resistenz: Charakterisierung mit Hilfe eines Co-Kultur Systems primärer humaner Fett- und Skelettmuskelzellen (Dissertation). Düsseldorf: Universität; 2005.
2. Hien P, Böhm B. Diabetes-Handbuch. Heidelberg: Springer-Verlag; 2010.
3. Herold G, Hrsg, Innere Medizin. 2006, Köln, Gerd Herold; 2006; 614.
4. Schulze M B, Rathmann W, Giani G, Joost H-G. Diabetesprävalenz: Verlässliche Schätzungen stehen noch aus. Deutsches Ärzteblatt. 2010; 107 (36):A-1694-6.
5. Tooke J E, Goh K L. Vascular function in Type 2 diabetes mellitus and pre-diabetes: the case for intrinsic endotheliopathy. Diabetic Medicine. 1999; 16:710-715.
6. Cersosimo E, DeFronzo R. Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases. Diabetes/Metabolism Research and Reviews. 2006; 22:423-424.
7. Hohberg C, Forst T, Pfützner A. Postprandialer Stoffwechsel, endotheliale Dysfunktion und Arteriosklerose. Diabetes, Stoffwechsel und Herz. 2008; Review: 6. 467-473.
8. Cryer A. Scale and diversity of interactions at the vascular endothelium. In: Cryer A. Biochemical interactions of the endothelium. Elsevier Amsterdam, New York, Oxford. 1983; 1-3.
9. Born S. Kollagen 1 alpha 1 Sp1 Genpolymorphismus und endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (Dissertation). Universität Bochum; 2007.
10. Robinson Singleton J, Gordon Smith A, Russel JW, Feldman EL. Microvascular Complications of Impaired Glucose Tolerance. Diabetes. 2003; 52:2867-2873.
11. Tripolt N, Sourij H. Diabetes mellitus und endotheliale Dysfunktion. Journal für Klinische Endokrinologie und Stoffwechsel. 2010; 3(2):20-24.

12. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 2006; 113:1888–1904.
13. Wiensperger N. Vascular defects in the aetiology of peripheral insulin resistance in diabetes. A critical review of hypothesis and facts. *Diabetes Metab Rev* 1994; 10(3):287–307.
14. Steinberg HO, Baron AD. Vascular function, insulin resistance and fatty acids. *Diabetologia* 2002; 45:623–634.
15. Tripathy D, Mohanty P, Dhindsa S, et al. Elevation of free fatty acids induces inflammation and impairs vascular reactivity in healthy subjects. *Diabetes* 2003; 52:2882–2887.
16. Arcaro G, Cretti A, Balzano S. Insulin causes endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2002; 105:576–588.
17. Tabit CE, Chung WB, Hamburg NM et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: Molecular mechanisms and clinical implications. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010, 11(1):61-74.
18. Mulac K. Pathomechanismen der Atherosklerose bei Diabetes mellitus. *J Kardiol* 2005; 12:9–14.
19. Bakker W, Eringa EC, Sipkema P, van Hinsbergh VW. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell Tissue Res* 2009; 335:165–89.
20. Vallbracht-Israng K. Endothelfunktion bei kardialen Erkrankungen unter Berücksichtigung immunologischer Prozesse (Habilitation). Berlin: Universität, 2008.
21. Vincent M, Barrett E, Lindner J. Inhibiting NOS blocks microvascular recruitment and blunts muscle glucose uptake in response to insulin. *American Journal of Physiology- Endocrinology and Metabolism*. 2003; 285:E123-E129.
22. Delles C, Michelson G, Harazny J, Oehmer S, Hilgers K, Schmieder R. Impaired Endothelial Function of the Retinal Vasculature in Hypertensive Patients. *Stroke*. 2004; 35:1289-1290.

23. Celermajer D, Sorensen K, Spiegelhalter D, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield J. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *Journal of the American College of Cardiology*. 1994; 24, 471-6.
24. Sorensen K, Celermajer D, Georgakopoulos D, Hatcher G, Betteridge D, Deanfield J. Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. *The Journal of Clinical Investigation*. 1994; 93, 50-5.
25. Panza J, Quyyumi A, Brush J, Epstein S. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *New England Journal of Medicine*. 1990; 323, 22-7.
26. McVeigh G, Brennan G, Johnston G, McDermott B, McGrath L, Henry W et al. Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1992; 35, 771-6.
27. Bierwirth R, Funke K, Grüneberg M, Leinhos B, Huptas M, Kron P et al. Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes: Eine ökonomische Perspektive. *Diabetes und Stoffwechsel*. 2003; 3:135-144.
28. Juhan-Vague I, Alessi M, Mavri A, Morange E. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2003; 1:1575-1579.
29. Ford E, Giles W, Dietz W. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults- Findings From the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of the American Medical Association*. 2002; 287:356-9.
30. Kerner W. Diabetische Makroangiopathie und Insulinresistenz. *Journal für Kardiologie*. 2003; 10:320-326.
31. Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Targher G et al. Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders: the Bruneck Study. *Diabetes*. 1998; 47:1643-9.
32. Pfützner A, Forst T. Insulinresistenz und Dysfunktion der Betazellen früher erkennen-Können Typ 2 Diabetiker noch gezielter behandelt werden. *MMW-Fortschritte der Medizin*. 2004; 146:419-422.

33. Meiners I. Insulinresistenz-ein Risikofaktor mit Folgen. Zitiert am 14.08.2011.
URL: www.uni-leipzig.de/~pharm/phfn/MsyndromMeiners.pdf
34. Haak T, Palitzsch K-D. Diabetologie für die Praxis. Stuttgart: Thieme; 2012.
35. Bays H, Mandarino L, DeFronzo RA. Role of the adipocytes, FFA, and ectopic fat in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: PPAR agonists provide a rational therapeutic approach. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89:463–478.
36. Lapidus L, Bengtsson C, Larsson B et al. Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *BMJ.* 1984; 289:1257–1261.
37. Despre JP, Moorjani S, Lupien PJ et al. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vas Biol.* 1990; 10:497–511.
38. Meier JJ. Beta cell mass in diabetes: a realistic therapeutic target? *Diabetologia* 2008; 51:703-713.
39. Pfützner A, Forst T. Intaktes Proinsulin als kardiovaskulärer Risikofaktor und prädikativer diagnostischer Marker für die Insulinresistenz bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. *Diabetes und Stoffwechsel.* 2004; 4:187-194.
40. Kirchhoff K, Machicao F, Haupt A, Schäfer S, Tschritter O, Staiger H, Häring H et al. Polymorphisms in the TCF7L2, CDKAL1 and SLC30A8 genes are associated with impaired proinsulin conversion. *Diabetologia.* 2008. 51:597–60.
41. Pfeifer MA, Halter JB, Porte D Jr. Insulin secretion in diabetes mellitus. *Am J Med* 198; 70: 579-588.
42. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; 97: 2601–10.
43. Jaap AJ, Shore AC, Tooke JE. Relationship of insulin resistance to microvascular dysfunction in subjects with fasting hyperglycaemia. *Diabetologia.* 1994; 40:238-243.

44. Williams SB, Cusco JA, Roddy MA, et al. Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 567–574.
45. Patterson GC, Whelan RF. Reactive hyperemia in the human forearm. *Clin Sci* 1955; 44: 197–211.
46. Petrie JR, Ueda S, Webb DJ, Elliott HL, Connell JM. Endothelial nitric oxide production and insulin sensitivity. A physiological link with implications for pathogenesis of cardiovascular disease. *Circulation* 1996; 93: 1331–3.
47. Inoue T, Matsunaga R, Sakai Y, Yaguchi I, Takayanagi K, Morooka S. Insulin resistance affects endothelium-dependent acetylcholine-induced coronary artery response. *Eur Heart J* 2000; 21: 895–900.
48. Balletshofer BM, Rittig K, Enderle MD, Volk A, Maerker E, Jacob S, Matthaer S, Rett K, Haring HU. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation* 2000; 101: 1780–4.
49. S. Kawashima, “The two faces of endothelial nitric oxide synthase in the pathophysiology of atherosclerosis,” *Endothelium*, vol. 11, no. 2, pp. 99–107, 2004.
50. Z. Y. Jiang, Q.-L. Zhou, A. Chatterjee, et al., “Endothelin-1 modulates insulin signaling through phosphatidylinositol 3-kinase pathway in vascular smooth muscle cells,” *Diabetes*, vol. 48, no. 5, pp. 1120–1130, 1999.
51. A. B. Strawbridge and J. S. Elmendorf, “Endothelin-1 impairs glucose transporter trafficking via a membrane-based mechanism,” *Journal of Cellular Biochemistry*, vol. 97, no. 4, pp. 849–856, 2006.
52. Holman RR, Paul SK, Bethel MA et al. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; 359:1577–1589.
53. Stratton LM, Adler AJ, Neil HA et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000; 321:405–412.
54. DeFronzo R. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia*. 2010; 53:1270-1287.

55. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*.1985; 28:412-419.
56. Wallace TM, Matthews DR. The assessment of Insulin resistance in man. *Diabetic Medicine*. 2002; 19:527-534
57. Bonora E,Formentini G,Calcaterra F. HOMA estimated insulin resistance is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects: prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*. 2002; 25:1135–1141.
58. Michelson G, Wärtges S, Baleanu D, Welzenbach J, Harazny J. Morphometric Age-related Evaluation of small retinal vessels by Scanning Laser Doppler Flowmetry. Determination of a vessel wall index.*Retina-The Journal of retinal and vitreous diseases*. 2007; 27,490-498.
59. Welzenbach J.Quantifizierung der retinalen Durchblutung mittels Laser-Scanning-Doppler-Flowmetry (Dissertation).Erlangen-Nürnberg: Klinik der Augenheilkunde der Universität Erlangen-Nürnberg: 2002.
60. Netz U. Laser-Doppler-Blutflußmessung an der Haut (Diplomarbeit). Berlin: Fachbereich Physik der Technischen Universität Berlin; 1997.
61. Michelson G,Wärtges S,Leidig S,Lötsch J,Geisslinger. Nimodipine Plasma Concentration and Retinal Blood Flow in Healthy Subjects. *Investigative Ophtalmology & Visual Science*. August 2006; 47,8:3479-3486.
62. Garhöfer G,Zawinka C,Resch H,Kothy P,Schmetterer,Dorner G T.Reduced response of retinal vessel diameters to flicker stimulation in patients with diabetes. *BrJ Ophthalmol*. 2004; 88:887-891.
63. Mandecka A,Dawczynski J,Blum M,Müller N,Kloos C,Wolf G et al.Influence of flicker in Light on the Retinal Vessel in Diabetic Patients.*Diabetes Care*. 2007; 30:3048-3052.
64. Michelson G, Patzelt A, Harazny J.Flickering light increases retinal blood flow. *Retina*. 2002; 22:336-343.

65. Harazny J, Ritt M, Baleanu D, Ott C, Heckmann J, Schlaich M, Michelson G et al. Increased Wall: Lumen Ratio of Retinal Arterioles in Male Patients with a History of a Cerebrovascular Event. *Hypertension*. 2008; 50:623-629.
66. Krug A. Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes- Methode des sogenannten O₂C (oxygen to see). *Phlebologie*. 2007; 36:300-312.
67. Berthold Pemp et al. Correlation of Flicker-induced and Flow-Mediated Vasodilatation in patients with endothelial dysfunction and healthy volunteers. *Diabetes Journals*. 2009; 32: 1536-41.
68. Ganong W. Review of medical physiology. New York: Lange Medical, 1995.
69. Arend O, Wolf S, Harris A, et al. The relationship of macular microcirculation to visual acuity in diabetic patients. *Arch Ophthalmol*. 1995; 113:610-4.
70. Bursell SE, Clermont AC, Kinsley BT, et al. Retinal blood flow changes in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and no diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996; 37:886-97.
71. Grunwald JE, Brucker AJ, Schwartz SS, Braunstein SN, Baker L, Petrig BL, Riva CE: Diabetic glycemic control and retinal blood flow. *Diabetes*. 1990; 39:602-607.
72. Grunwald JE, DuPont J, Riva CE: Retinal haemodynamics in patients with early diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol*. 1996; 80:327-331.
73. Atherton A, Hill DW, Keen H et al. The effect of acute hyperglycaemia on the retinal circulation of the normal cat. *Diabetologia*. 1980; 18:233-7.
74. Ernest JT, Goldstick TK, Engerman RL. Hyperglycemia impairs retinal oxygen autoregulation in normal and diabetic dogs. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1983; 24:985-9.
75. Luksch A, Polak K, Matulla B, et al. Glucose and insulin exert additive ocular and renal vasodilator effects on healthy humans. *Diabetologia* 2001; 44:95-103.
76. Pemp B et al. Reduced retinal vessel response to flicker stimulation but not to exogenous nitric oxide in type 1 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50:4029-4032.
77. Burgansky E. Reduced Retinal Blood Flow Velocity in Diabetic Retinopathy. *Retina* 2010; 30:765-773

78. Grunwald JE, Riva CE, Sinclair SH: Laser Doppler velocimetry study of retinal circulation in diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol*. 1986; 104:991–996.
79. Falck A, Laatikainen L. Retinal vasodilatation and hyperglycaemia in diabetic children and adolescents. *Acta Ophthalmol Scand* 1995; 73:119-24.
80. Rassam SM, Patel V, Kohner EM: The effect of experimental hypertension on retinal vascular autoregulation in humans: a mechanism for the progression of diabetic retinopathy. *Exp Physiol*. 1995; 80:53–68.
81. Grunwald JE, Riva CE, Baine J, Brucker AJ. Total retinal volumetric blood flow rate in diabetic patients with poor glycemic control. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992; 33(2):356–363.
82. Dorner GT, Garhofer G, Kiss B, et al. Nitric oxide regulates retinal vascular tone in man. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003; 285:631–6.
83. Garhofer G, Zawinka C, Huemer KH. Flicker light induced vasodilatation in the human retina: effect of lactate and changes in mean arterial pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44:5309–5314.
84. Garhofer G, Resch H, Weigert G. Shortterm increase of intraocular pressure does not alter the response of retinal and optic nerve head blood flow to flicker stimulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46:1721–1725.
85. Anderson TJ, Meredith IT, Charbonneau F. Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation* 1996; 93:1647–1650.
86. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315:1046–1051.
87. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340:1111–1115.
88. Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, et al. Clinical correlates and heritability of endothelial function in the community: the Framingham heart study. *Circulation* 2004; 109:613–619.
89. Jaap AJ, Hammersley MS, Shore AC. Reduced microvascular hyperaemia in subjects at risk developing type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1994; 37:214-216.

90. Ardigo D, Franzini L, Valtuena S, Monti LD, Reaven GM, Zavaroni I. Relation of plasma insulin levels to forearm flow-mediated dilatation in healthy volunteers. *Am J Cardiol* 2006; 97:1250–1254.
91. Lteif AA, Han K, Mather KJ. Obesity, insulin resistance, and the metabolic syndrome: determinants of endothelial dysfunction in whites and blacks. *Circulation* 2005; 112:32–38.
92. Caballero AE, Arora S, Saouaf R, et al. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes* 1999; 48:1856–1862.
93. Hamburg NM, Larson MG, Vita JA, et al. Metabolic syndrome, insulin resistance, and brachial artery vasodilator function in framingham offspring participants without clinical evidence of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2008; 101:82–88.
94. Frederiksen CA, Jeppesen P, Knudsen ST, Poulsen PL, Mogensen CE, Bek T. The blood pressure-induced diameter response of retinal arterioles decreases with increasing diabetic maculopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006; 244(10):1255–1261.
95. Grunwald JE, Riva CE, Brucker AJ, et al. Altered retinal vascular response to 100% oxygen breathing in diabetes mellitus. *Ophthalmology.* 1984; 91:1447–52.
96. Patel V, Rassam SM, Chen HC, et al. Oxygen reactivity in diabetes mellitus: effect of hypertension and hyperglycaemia. *Clin Sci (Lond)* 1994; 86:689–95.
97. Sinclair SH, Grunwald JE, Riva CE, et al. Retinal vascular autoregulation in diabetes mellitus. *Ophthalmology.* 1982; 89:748–50.
98. Paget C, Lecomte M, Ruggiero D, et al. Modification of enzymatic antioxidants in retinal microvascular cells by glucose or advanced glycation end products. *Free Radic Biol Med* 1998; 25:121–9.
99. Falsini B, Riva CE, Logean E. Flicker-evoked changes in human optic nerve blood flow: relationship with retinal neural activity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002; 43:2309–16.
100. Forst T, Hohberg C, Pfützner A. Cardiovascular Effects of Disturbed Insulin Activity in Metabolic Syndrome and in Type 2 Diabetic Patients. *Horm Metab Res* 2009; 41: 123 – 131.

101. Schmetterer L, Wolzt M. Ocular blood flow and associated functional deviations in diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 1999; 42:387–405.
102. Higashi Y, Oshima T, Sasaki N, Ishioka N, Nakano Y, Ozono R, Yoshimura M, Ishibashi K, Matsuura H, Kajiyama G: Relationship between insulin resistance and endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *Hypertension* 1997; 29:280–285.
103. Kawano H, Motoyama T, Hirashima O, Hirai N, Miyao Y, Sakamoto T, Kugiyama K, Ogawa H, Yasue H: Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34:146–154.
104. Tesouro M, Rizza S, Iantorno M, et al. Vascular, metabolic, and inflammatory abnormalities in normoglycemic offspring of patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2007; 56:413–419.
105. Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2004;291:1978–1986.
106. Meigs JB, O'Donnell CJ, Tofler GH, et al. Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 2006; 55:530–537.
107. Isomaa B, Henricsson M, Almgren P, Tuomi T, Taskinen MR, Groops L: The metabolic syndrome influences the risk of chronic complications in patients with type II diabetes. *Diabetologia*.2001; 44:1148–1154.
108. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen MR, Groop L: Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*.2001; 24:683–689.
109. Van den Oever IAM, Raterman HG, Nurmohamed MT Simsek S. Endothelial Dysfunction, Inflammation, and Apoptosis in Diabetes mellitus. *Mediators of Inflammation*. 2010; 792393, 1-15.
110. Ritt M, Harazny JM, Ott C, Schneider MP, Schlaich, Michelson G, Schmieder RE. Wall-to-lumen ratio of retinal arterioles is related with urinary albumin excretion and altered vascular reactivity to infusion of the nitric oxide synthase inhibitor N-monomethyl-L-arginine. *Journal of hypertension*. 2009; 27:2201-2208.

111. Forst T et al. (2008). Reliability of lightguide spectrophotometry (O2C) for the investigation of skin tissue microvascular blood flow and tissue oxygen supply in diabetic and nondiabetic subjects. *Journal of diabetes science and technology* 6:1151-1156.

8 Abbildungsverzeichnis

Literaturdiskussion

Abbildung 2.1 Schnitt durch ein Segment eines Blutgefäßes	4
Abbildung 2.2 Die vielseitigen Funktionen der Endothelzellen	6

Materialien und Methoden

Abbildung 3.1 Aufbau der HRF-Einheit mit konfokaler Optik (58).....	27
Abbildung 3.2 Errechnung der Wall:Lumen Ratio von retinalen Arteriolen (65)	32
Abbildung 3.3 Gerät mit dem Namen O2C (oxygen to see) zur Messung des dermalen Blutflusses und der postkapillären Sauerstoffsättigung (SO ₂) (66)	35

Ergebnisse

Tabelle 4.1 Einteilung der Patienten in die Studie	40
Abbildung 4.1 Anzahl der Studienteilnehmer und Zuteilung für Auswertung	40
Tabelle 4.2 Demographische Daten und Vitalzeichen der Studienpopulation	41
Tabelle 4.3 Studiengruppen mit den wichtigsten demographischen Daten und Vitalzeichen	41
Abbildung 4.2 Mittlerer BMI der Studienpopulation	42
Abbildung 4.3 Mittlerer systolischer Blutdruck	43
Abbildung 4.4 Mittlerer diastolischer Blutdruck.....	43
Tabelle 4.4 Insulinkonzentration bei den 3 Studiengruppen	44
Abbildung 4.5 Mittlere Insulinkonzentration (oGTT)	44
Tabelle 4.5 Blutglukose bei allen 3 Studiengruppen.....	45
Abbildung 4.6 Mittlere Glukosekonzentration bei den Studiengruppen	45
(oGTT).....	45
Tabelle 4.6 HOMA-Insulinresistenzindex	46
Abbildung 4.7 Mittlerer HOMA-IR bei allen Studiengruppen	46
Tabelle 4.7 Mittlerer HbA1c-Wert in den 3 Studiengruppen	47
Abbildung 4.8 Mittelwert des HbA1c in den Studiengruppen.....	47
Tabelle 4.8 Retinaler Blutfluss mit absolutem und relativem Unterschied	48
Abbildung 4.9 Mittlerer retinaler Blutfluss vor und nach Flickerlicht-Stimulation.....	48
Abbildung 4.10 Zunahme des retinalen Blutflusses.....	49

Abbildung 4.11 Retinaler Blutfluss zum Baseline - Zeitpunkt bei Insulinresistenten und Typ 2 - Diabetikern nach Einteilung gemäß dem Grad der Insulinresistenz	50
Abbildung 4.12 Retinaler Blutfluss nach Flickerlicht – Stimulation bei Insulinresistenten und Typ 2 - Diabetikern nach Einteilung gemäß dem Grad der Insulinresistenz.....	51
Tabelle 4.9 Mittelwert der Wall to Lumen Ratio in den Studiengruppen	51
Tabelle 4.10 Prä-ischämischer und post-ischämischer mittlerer Blutfluss und mittlere Sauerstoffsättigung der oberflächlichen Haut (2 mm Tiefe)	52
Tabelle 4.11 Muskulärer Blutfluss und Sauerstoffsättigung (8 mm)	53
Abbildung 4.13 Prä-ischämischer und post-ischämischer mikrovaskulärer muskulärer Blutfluss.....	53
Abbildung 4.14 Prä-ischämischer und post-ischämischer Gewebesättigung mit Sauerstoff	54

Diskussion

Abbildung 5.1 Schematische Darstellung der intrazellulären Insulinsignalwirkung (100).....	64
--	----

