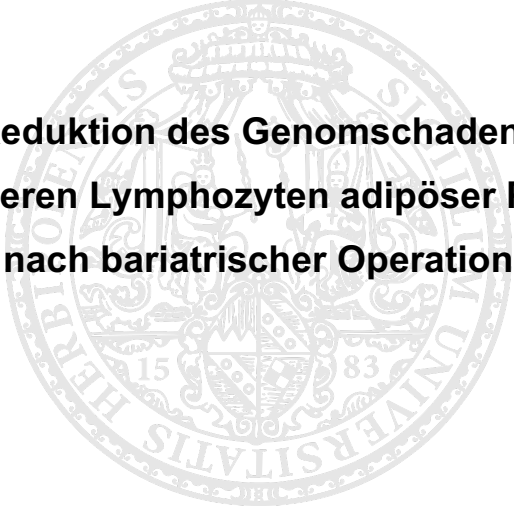


Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Universität Würzburg
Vorstand: Prof. Dr. Helga Stopper



**Reduktion des Genomschadens
in peripheren Lymphozyten adipöser Patienten
nach bariatrischer Operation**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von

Charlotte Antonia Arnold
aus Würzburg

Würzburg, Januar 2019

Referentin: Prof. Dr. rer. nat. Helga Stopper
Koreferent: PD Dr. med. Florian Seyfried
Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 17.08.2020

Die Promovendin ist Ärztin.

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	
1. Einleitung	1
1.1 Adipositas	1
1.1.1 Definition und Prävalenz.....	1
1.1.2 Assoziierte Komorbiditäten.....	2
1.1.3 Karzinogene Wirkung von Übergewicht und Diabetes mellitus	3
1.2 Bariatrische Operationsmethoden	4
1.2.1 Indikation und mögliche Verfahren	4
1.2.2 Auswirkungen der Adipositaschirurgie	7
1.3 Hormonelle Systeme und ihre Bedeutung im Zusammenhang mit Adipositas .	9
1.3.1 Insulin	9
1.3.2 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)	11
1.4 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und oxidativer Stress.....	13
1.5 Antioxidantien	16
1.5.1 Vorkommen, Eigenschaften und antioxidative Wirkungsweise	16
1.5.2 Bioverfügbarkeit, Metabolisierung und mögliche Anwendung.....	17
1.6 Fragestellung	18
2. Material	19
2.1 Verwendete Zelllinien und ihre Kultivierung	19
2.1.1 NRK.....	19
2.1.2 HL60	19
2.2 Getestete antioxidative Substanzen	19
2.2.1 Tricetinidin	19
2.2.2 Curcumin	20
2.2.3 Resveratrol	21
2.3 Arbeitsgeräte.....	22
2.4 Laborchemikalien.....	22
2.5 Puffer und Lösungen.....	24
2.6 Software	25
3. Methoden	25
3.1 Adipositasstudie	25
3.1.1 Studienaufbau	25
3.1.2 Erfasste klinische Parameter.....	26
3.1.3 Isolierung peripherer Lymphozyten	28

3.1.4 Herstellung von Mundschleimhautpräparaten	30
3.1.5 Mikrokern-Test.....	30
3.2 Weitere in den Zellkulturversuchen angewandte Methoden	31
3.2.1 Comet Assay	31
3.2.2 Vitalitätstest	33
3.3 Statistisches Vorgehen	33
4. Ergebnisse	35
4.1 Ergebnisse der Patientenstudie	35
4.1.1 Mikrokernfrequenz in peripheren Lymphozyten im Studienverlauf.....	35
4.1.2 Mikrokernfrequenz in Mundschleimhautzellen im Studienverlauf.....	46
4.1.3 Änderungen klinischer Parameter im Studienverlauf	46
4.1.4 Vergleich mit Comet Assay-Ergebnissen der Patientenproben.....	51
4.2 Ergebnisse der In-vitro-Versuche mit NRK- und HL60-Zellen	52
4.2.1 Comet Assay	52
4.2.2 Vitalitätstest	54
4.2.3 Mikrokerntest	54
5. Diskussion	59
5.1 Ergebnisse der Patientenstudie	59
5.1.1 Insulinresistenz und Diabetes mellitus	60
5.1.2 Inflammatorische Reaktionen und Immuneffekte	62
5.1.3 Reduktion der Steatose, Minderung von Lipidperoxidation und	
oxidativem Stress	63
5.1.4 Auswirkungen auf die Hypertension	65
5.1.5 Bedeutung des Gewichtsverlust für Nebenerkrankungen	67
5.1.6 RYGB und SG im Vergleich	68
5.1.7 Apoptosen, Mitosen und CBPI	68
5.1.8 Oxidativer Stress in Mundschleimhautzellen.....	69
5.1.9 Vergleich mit den Messungen im Comet Assay	70
5.2 Ergebnisse der In-vitro-Zellkulturversuche	70
5.2.1 Versuche mit Insulin und AT-II	70
5.2.2 Versuche mit Antioxidantien	74
5.3 Limitationen und Ausblick	77
5.3.1 Limitationen	77
5.3.2 Ausblick: Bariatrische Chirurgie.....	78
6. Zusammenfassung.....	80

7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	82
7.1 Abbildungsverzeichnis	82
7.2 Tabellenverzeichnis	83
8. Anhang	84
8.1 Übersicht: Adipositaspatienten	84
8.2 Übersicht: Kontrollpersonen.....	86
9. Literaturverzeichnis	88
Danksagung	
Lebenslauf	

Abkürzungen

A	Ampere
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
Agt	Angiotensinogen
AKT	= Proteinkinase B, benannt nach den AKT-Genen
AMPK	AMP-aktivierte Proteinkinase
AT-II	Angiotensin II
AT ₁ R, AT ₂ R	Angiotensin-II-Rezeptor 1 bzw. 2
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
BPD-DS	Biliopankreatische Diversion mit Duodenalswitch
CBMN Cytome Assay	Cytokinesis Block Micronucleus Cytome Assay
CBPI	Cytokinesis Block Proliferation Index
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CRP	C-reaktives Protein
Cu/ZnSOD	Kupfer-Zink-Superoxiddismutase
DM T2	Diabetes mellitus Typ 2
DNA/DNS	Deoxyribonucleic acid/Desoxyribonukleinsäure
eNOS	endotheliale NO-Synthase
ERK1/2	Extracellular-signal Regulated Kinase 1/2
FITC-Filter	Fluoresceinisothiocyanat-Filter
γGT	γ-Glutamyltransferase
GIP	Glucoseabhängiges insulinotropes Peptid
GLP-1	Glucagon-like Peptide-1
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GSH	Glutathion
h	Stunde
HbA1c	Hämoglobin A1c
HDL	High Density Lipoprotein
HL60	Human Leucemia Cells
HMG-CoA-Reduktase	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
HMP-Agarose	High Melting Point-Agarose
HO-1	Hämoxygenase 1
IFN-γ	Interferon-γ

IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IL-1 β , -2, -6, -12	Interleukin-1 β , -2, -6, -12
IRS1, IRS2	Insulinrezeptorsubstrat 1 bzw. 2
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
LDL	Low Density Lipoprotein
LMP-Agarose	Low Melting Point-Agarose
M	Mol
MAPK	mitogenaktivierte Proteinkinase
min	Minute
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MnSOD	Mangan-Superoxiddismutase
NADPH-Oxidase	Nikotinamadenin dinucleotidphosphat-Oxidase
NAFLD	Nichtalkoholische Fettlebererkrankung
NASH	Nichtalkoholische Fettleberhepatitis (Steatohepatitis)
NRK	epitheliale Nierenzellen der Ratte
PAI-1	Plasminogenaktivatorinhibitor Typ 1
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCOS	Polyzystisches Ovarialsyndrom, PCO-Syndrom
PDK1	Phosphoinositid-abhängige Kinase 1
PHA	Phytohämagglutinin
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKC	Proteinkinase C
PYY	Peptid YY
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROS	Reactive Oxygen Species, reaktive Sauerstoffpezies
rpm	revolutions per minute
RR _{sys/dias}	Blutdruck (nach Riva-Rocci)
RYGB	Roux-en-Y-Magenbypass
SG	Sleeve-Gastrektomie
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
V	Volt
WHO	World Health Organization

1. Einleitung

1.1 Adipositas

1.1.1 Definition und Prävalenz

Eine der größten und ernstzunehmenden Herausforderungen für die Gesundheitssysteme, aber auch ein gesellschaftliches und ökonomisches Problem weltweit ist die steigende Anzahl Übergewichtiger. Für das Jahr 2016 bezifferte die WHO das Auftreten von Übergewicht bereits mit 1,9 Milliarden erwachsener Menschen, davon 650 Millionen adipös. Dies entspricht der Organisation zufolge global einer Verdreifachung der Adipositasprävalenz seit 1975 – die Mortalität infolge Überernährung liegt dabei mittlerweile höher als diejenige infolge Unterernährung (WHO 2017).

Die Klassifikation des Übergewichts erfolgt anhand des Body Mass Index (BMI), der sich als Quotient aus Körpergewicht (in Kilogramm) und dem Quadrat der Körperlänge (in Metern) errechnet. Definitionsgemäß gilt (BMI in kg/m^2):

Normalgewicht:	18,5–24,9
Übergewicht:	$\geq 25,0$
Präadipositas:	25,0–29,9
Adipositas Grad I:	30,0–34,9
Adipositas Grad II:	35,0–39,9
Adipositas Grad III:	$\geq 40,0$

Als Fettleibigkeit (= morbide Adipositas) bezeichnet man einen BMI ab $40 \text{ kg}/\text{m}^2$ oder einen BMI von $35 \text{ kg}/\text{m}^2$ mit Begleiterkrankungen (Deutsche Adipositas Gesellschaft (DAG e. V.) 2012).

Liegen neben dem Übergewicht ein Bluthochdruck und eine Zucker- und Fettstoffwechselstörung vor, spricht man von einem metabolischen Syndrom. Da keine einheitliche Definition dieses Krankheitsbildes existiert, wird hier von den Kriterien der WHO ausgegangen, zu denen

1. eine gestörte Glucosetoleranz oder Diabetes mellitus oder eine Insulinresistenz und
2. mindestens zwei der folgenden Parameter gehören (Cameron, Shaw et al. 2004):
 - a. Arterielle Hypertonie ($\geq 140/90 \text{ mmHg}$)
 - b. Fettstoffwechselstörung
 - c. Taillen-Hüft-Verhältnis $> 0,9$ (♂) bzw. $> 0,85$ (♀) oder BMI $> 30 \text{ kg}/\text{m}^2$
 - d. Mikroalbuminurie

1.1.2 Assoziierte Komorbiditäten

Neben den direkt durch die Adipositas verursachten gesundheitlichen Problemen gilt sie insbesondere ihrer zahlreichen Komorbiditäten und chronischen Folgeerkrankungen wegen als gefährlich: Vor allem Diabetes mellitus Typ 2, nichtalkoholische Fettleberhepatitis, arterielle Hypertonie sowie andere kardiovaskuläre Erkrankungen sind zu nennen (Dieterle and Landgraf 2006). Adipöse leiden zu einem hohen Anteil unter einem niedrigeren Selbstwertgefühl und eingeschränkter Lebensqualität infolge des Übergewichts; psychische Probleme wie Depressionen oder Angststörungen verstärken dies zusätzlich (Jagielski, Brown et al. 2014, Morrison, Shin et al. 2015).

Es gibt inzwischen vermehrt Indizien für ein gehäuftes Auftreten von Neoplasien bei starkem Übergewicht (siehe auch 1.1.3). Speziell der Diabetes mellitus Typ 2 wurde unabhängig von einem bestehenden Übergewicht als Risikofaktor für bestimmte Krebsarten identifiziert, wobei in > 80 % der Diabetes mellitus Typ 2-Fälle zeitgleich eine Adipositas vorliegt (Vigneri, Frasca et al. 2009, Gandhi and Saini 2013).

Bei den Patienten der im Rahmen dieser Arbeit besprochenen Studie lagen zu Beginn folgende Komorbiditäten in der angegebenen Häufigkeit vor, die mutmaßlich bzw. wahrscheinlich in Zusammenhang mit deren Adipositas zu sehen sind:

Erkrankung	Patienten (N=50)		Gesamthäufigkeit	
	ohne met. Syndrom (n=29)	mit met. Syndrom (n=21)	in Patienten	in %
Art. Hypertonie	9	19	28	56
Insulinresistenz	9	9	18	36
Schlafapnoe	6	10	16	32
NAFLD	8	7	15	30
NASH	7	7	14	28
T2DM	3	11	14	28
Hyperlipidämie	5	8	13	26
Hyperurikämie	7	6	13	26
Depression	4	7	11	22
COPD/Asthma	4	5	9	18

Tabelle 1: Bei Adipositas gehäuft auftretende Nebenerkrankungen; met. Syndrom=metabolisches Syndrom, art. Hypertonie=arterielle Hypertonie, NAFLD=Nicht-alkoholische

Fettlebererkrankung (Nonalcoholic fatty liver disease), NASH=Nichtalkoholische Steatohepatitis (Nonalcoholic steatohepatitis), COPD=Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung (Chronic obstructive pulmonary disease). Siehe auch Diagnosenliste im Anhang.

Da der BMI aller Studienteilnehmer zu Beginn bei $> 30 \text{ kg/m}^2$ lag, wird nachstehend all jenen Patienten die Diagnose „Metabolisches Syndrom“ zugeschrieben, bei denen – gemäß der bereits genannten WHO-Definition des metabolischen Syndroms – neben einer Glucosetoleranzstörung bzw. einem Diabetes mellitus bzw. einer Insulinresistenz zusätzlich eine arterielle Hypertonie, eine Fettstoffwechselstörung oder eine Mikroalbuminurie bekannt ist.

1.1.3 Karzinogene Wirkung von Übergewicht und Diabetes mellitus

Zahlreiche Umwelteinflüsse wie Strahlen oder chemische Substanzen können das Erbgut verändern und schädigen. In jeder Säugetierzelle wird die DNA täglich tausendfach geschädigt, hervorgerufen vor allem durch Oxidation, Hydrolyse, Mutagene und DNA-Quervernetzung. Ferner spielen Depurinierung bzw. -pyrimidierung, Strangbrüche und Methylierungen eine Rolle. Die Entstehung von Krebs ist durch Mutationen mitbedingt, die zu einer Aktivierung von Onkogenen oder einer Inaktivierung von Tumorsuppressoren, z. B. p53, führen (Halazonetis, Gorgoulis et al. 2008, Jackson and Bartek 2009). Da die Stabilität der DNA für die Existenz eines Individuums von zentraler Bedeutung ist, existieren vielfältige Reparaturmechanismen, deren Aufgabe es ist, für die Unversehrtheit der genetischen Information zu sorgen: Einzelstrangbrüchen begegnet die Zelle neben dem Korrekturlesen durch die DNA-Polymerase beispielsweise mit der Basen- und Nukleotidexzisionsreparatur. Doppelstrangbrüche können durch die verschiedenen Varianten der Rekombinationsreparatur mit Hilfe des jeweiligen Schwesterchromosoms korrigiert werden (Friedberg 2003).

Es besteht ein sehr sicherer Zusammenhang zwischen einem erhöhten BMI und dem Risiko für verschiedene Krebserkrankungen, namentlich Endometrium-, ösophageales Adeno- und kolorektales Karzinom sowie das postmenopausale Mamma- und das Prostatakarzinom (Freisling, Arnold et al. 2017). Maligne Erkrankungen von Schilddrüse, Pankreas und Niere treten ebenfalls gehäuft auf (Roberts, Dive et al. 2010). Der genaue Pathomechanismus der karzinogenen Wirkung der Adipositas ist noch unklar; diskutiert werden hormonelle Störungen besonders der Insulin/IGF-1-Achse wie im Rahmen des Diabetes mellitus Typ 2, vom Fettgewebe freigesetzter Adipokine und von Sexualhormonen (Lee, Woo et al. 2015, Renehan, Zwahlen et al. 2015). Daneben scheinen oxi-

dativer Stress und durch den Angriff freier Radikale an der DNA verursachte Genomschäden gewichtige Faktoren zu sein, hinsichtlich der möglichen Zusammenhänge existieren bisher lediglich Hypothesen (Donmez-Altuntas, Sahin et al. 2014, Karaman, Aydin et al. 2015, Bankoglu 2016).

1.2 Bariatrische Operationsmethoden

1.2.1 Indikation und mögliche Verfahren

Um die Adipositas zu therapieren, muss zunächst obligat einer konservativer Behandlungsversuch unternommen werden. Dies geschieht in Form eines multimodalen Konzeptes, welches sich auf die drei Säulen Ernährung, Bewegung und Verhalten stützt. Bleiben die konservativen Maßnahmen, die medikamentös unterstützt werden können, allerdings innerhalb von zwei Jahren erfolglos – i. e. bei einem BMI $> 35 \text{ kg/m}^2$ wurde eine Reduktion des Ausgangsgewichts von $< 10 \%$ erzielt –, können 18- bis 65-jährigen Patienten als Ultima ratio verschiedene adipositaschirurgische Verfahren angeboten werden. Als Indikation gelten (Hauner, Berg et al. 2014, Hauner, Moss et al. 2017):

- Adipositas Grad III (BMI $\geq 40 \text{ kg/m}^2$) oder
- Adipositas Grad II (BMI ≥ 35 und $< 40 \text{ kg/m}^2$) mit erheblichen Komorbiditäten (z. B. Diabetes mellitus Typ 2) oder
- Adipositas Grad I (BMI > 30 und $< 35 \text{ kg/m}^2$) bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (Sonderfälle).

Bei besonderer Schwere der Komorbiditäten oder einem BMI $> 50 \text{ kg/m}^2$ kann auch ohne vorherige konservative Maßnahmen eine chirurgische Therapie erwogen werden. Im Folgenden sollen nun die am häufigsten angewandten Formen der sogenannten bariatrischen Chirurgie kurz erläutert werden; die Zahl derartiger Operationen ist in den vergangenen Jahren drastisch angestiegen (Angrisani, Santonicola et al. 2017).

Techniken wie das adjustierbare Magenband zählen zu den restriktiven Verfahren: Sie beschränken auf mechanische Weise die Nahrungszufuhr. Das Band unterteilt den Magen im Bereich des Fundus in einen kleinen Pouch und größeren Restmagen, wobei der Durchmesser des Bandes über einen flüssigkeitsgefüllten Ballon reguliert werden kann. Der Eingriff wird laparoskopisch wenig invasiv durchgeführt, ist reversibel und führt innerhalb eines Jahres zu einer Reduktion des BMI um etwa 5 kg/m^2 (Lee, Nguyen et al. 2016). Spezielle Komplikationen sind Verrutschen des Bands, Dilatationen oder Banderosionen, so dass in knapp 80 % der Fälle Revisionsoperationen notwendig werden.

Als langfristige Lösung sind deshalb tendenziell andere Verfahren zu bevorzugen (Toolabi, Golzarand et al. 2016).

Von den 50 hier besprochenen Studienteilnehmern war bei zwei Personen vor der Operation mittels Sleeve-Gastrektomie (SG) oder Roux-en-Y-Magenbypass (RYGB) der Versuch einer Gewichtsreduktion mit Hilfe eines Magenbands unternommen und dieses aufgrund von Komplikationen bzw. Erfolglosigkeit wieder entfernt worden, in zwei weiteren Fällen wurde eine frühere SG in einem erneuten Eingriff zu einem RYGB umgeformt. Bei einem Patienten war vor der Operation ein Magenballon zur Anwendung gekommen.

Die Biliopankreatische Diversion mit Duodenalswitch (BPD-DS) nach Scopinario kombiniert das restriktive mit dem malabsorptiven Wirkprinzip. Nach einer Sleeve-Gastrektomie verbleibt ein 200 ml fassender Pouch inklusive des Pylorus, der mit dem distalen Ende des – ca. 250 cm aboral der Ileozökalklappe durchtrennten – Ileums anastomosiert wird. Der biliopankreatische Schenkel wird 100 cm vor der Ileozökalklappe mit dem Ileum verbunden. Zwar kann mit dieser Methode zuverlässig ein starker und rascher Gewichtsverlust herbeigeführt werden, allerdings ist auch das perioperative Risiko am höchsten und die Langzeitauswirkungen der Malabsorption, z. B. infolge Vitamin- und Nährstoffmangels, bislang noch unsicher (Buchwald, Avidor et al. 2004, Nguyen 2008).

Eine weitere restriktive Operationsart ist die Formung eines Schlauchmagens, die sogenannte Sleeve-Gastrektomie (SG), die erstmals 1987 von David Johnston durchgeführt wurde und sich als ursprünglich erster Teil der BPD-DS zu einer eigenständigen Operation entwickelte. Das Magenvolumen wird hierbei durch eine subtotale Längsresektion entlang der großen Kurvatur auf nur etwa 100 ml verkleinert, was in der Regel zu einer deutlichen Gewichtsabnahme führt (Hüttl, Obeidat et al. 2009).

Vorteilhaft ist die Vermeidung von Fremdmaterial im Vergleich zum Magenband und weitestgehend der Malabsorption gegenüber dem RYGB. Mit 45,9 % gegenüber 39,6 % hat die SG daher im Jahr 2014 den RYGB, bis dahin das weltweit am häufigsten angewandte bzw. präferierte Verfahren, als Goldstandard abgelöst (Angrisani, Santonicola et al. 2017). Aus metabolischer Perspektive ist die SG so effektiv, weil durch die Entfernung der großen Kurvatur die Plasmaspiegel dort produzierter Hormone wie der des Ghrelins enorm sinken. Gleiches gilt für Nüchterninsulin, Glucagon und die Adipokine Leptin und PAI-1 (Peterli, Wölnerhanssen et al. 2009, Farey, Preda et al. 2017). Gefahren im postoperativen Verlauf stellen neben allgemeinen Operationsrisiken (Thrombosen, Embo-

lien) v. a. Nachblutungen, Nahtinsuffizienzen, Stenosen und die gastroösophageale Refluxkrankheit dar (Sarkhosh, Birch et al. 2013).

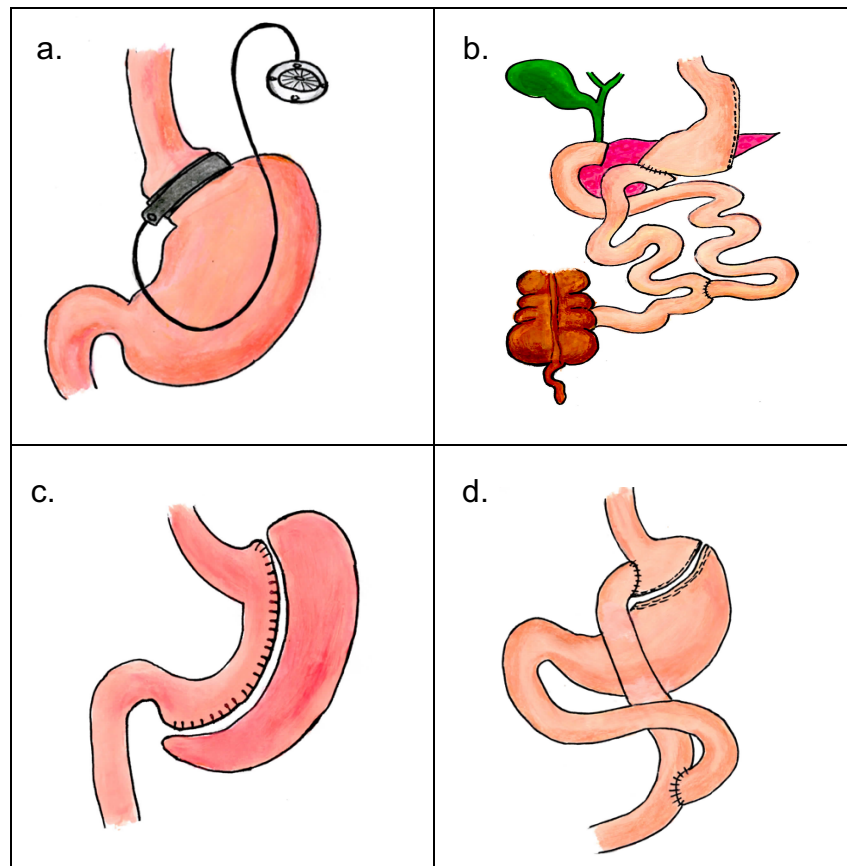


Abbildung 1: Wichtige bariatrische Operationsverfahren sind a. Magenband (mit Portzugang), b. Biliopankreatische Diversion, c. Sleeve-Gastrektomie (Schlauchmagen und entfernter größerer Magenanteil) sowie d. Roux-en-Y-Magenbypass.

Der Roux-en-Y-Magenbypass (RYGB) schließlich basiert auf der Formung eines nur 15–30 ml großen Magenpouchs mit Hilfe einer Staplernaht. Dieses Reservoir wird mit dem etwa 50 cm distal des Treitz-Bands durchtrennten Jejunum anastomosiert. Der größere Restmagen wird blind verschlossen und die biliodigestive Schlinge Seit-zu-Seit etwa 100–200 cm (interindividuell je nach Operateur bzw. Patient leicht variierend) unterhalb der Anastomose wieder in den Dünndarm eingeleitet (Arterburn and Courcoulas 2014, Lo Menzo, Szomstein et al. 2015). Infolge der Malabsorption kommt es zu einer starken Gewichtsabnahme, wobei diese mittlerweile nicht mehr als effizienter im Vergleich zur SG betrachtet wird. Da der RYGB zudem einen größeren Eingriff mit längerer Operationsdauer bedeutet und häufiger mit postoperativen Komplikationen behaftet ist, wird zunehmend die SG vorgezogen (Peterli, Borbély et al. 2013, Chang, Stoll et al. 2014).

1.2.2 Auswirkungen der Adipositaschirurgie

Für viele adipöse Patienten ist eine bariatrische Operation die Ultima ratio bei dem Versuch, das starke Übergewicht und die damit verbundenen Einschränkungen wirksam zu therapieren. Der Erfolg, der sich auf diese Weise erzielen lässt, ist jedoch nicht auf die reine Gewichtsabnahme limitiert, sondern es zeigen sich in vielerlei Hinsicht positive Effekte: Zwei Jahre nach Magenbypass- bzw. BPD-Operation kann in ca. 75 % der Fälle eine Remission eines assoziierten Diabetes mellitus Typ 2 erreicht werden, eine Verbesserung in Bezug auf die Glykämie bereits nach etwa 1–3 Monaten. Diese Beobachtung ist unabhängig von BMI, Alter, Geschlecht und der bisherigen Dauer der Diabeteserkrankung (Buchwald, Estok et al. 2009, Mingrone 2012). Schauer et al. fanden, dass sich RYGB und SG – kombiniert mit medikamentöser Therapie – selbst nach 5 Jahren im Vergleich zu alleiniger Medikamentengabe erheblich wirksamer in der Kontrolle des Diabetes erweisen (Schauer, Bhatt et al. 2017).

Insulinresistenz, Dyslipidämie und arterielle Hypertonie sind nur einige der kardiovaskulären Risikofaktoren, deren Auftreten positiv mit (krankhaftem) Übergewicht assoziiert ist. Sie bedingen bei solchen Patienten z. B. eine frühzeitige Manifestation von Atherosklerose und koronarer Herzerkrankung sowie ein erhöhtes Risiko, einen Herzinfarkt zu erleiden. Die Verbesserung des metabolischen und kardiovaskulären Risikoprofils vermittels bariatrischer Chirurgie wurde mehrfach belegt, während die dazu führenden Mechanismen noch unvollständig geklärt sind (Apovian and Gokce 2012). Häufig kann eine antidiabetische Medikation adipöser Personen reduziert oder sogar abgesetzt werden, wenn das Körpergewicht sinkt (Puzziferri, Roshek et al. 2014, Inge, Courcoulas et al. 2016). Gleiches scheint für antihypertensive Therapien zu gelten – auch hier ist Gegenstand der Forschung, welche Faktoren maßgeblich sind (Sjöström, Peltonen et al. 2000). Eine weitere bislang diskutierte Auswirkung ist eine Linderung asthmatischer Beschwerden übergewichtiger Patienten (Dixon 2011). Als letztes Beispiel soll ein Wiedereinsetzen der Menstruation bzw. ein gleichmäßigerer Zyklus bei ehemals übergewichtigen Frauen mit PCO-Syndrom erwähnt werden, der die wichtige Rolle der Adipositas auf die Regulation der hormonellen Systeme verdeutlicht (Skubleny, Switzer et al. 2016). Interessant ist zudem, dass am PCO-Syndrom erkrankte adipöse Frauen, die ihr Gewicht verringern, Soares et al. zufolge weniger DNA-Schädigung im Comet Assay aufweisen. Der Gewichtsverlust wurde in dieser Studie allerdings nicht chirurgisch, sondern diätetisch erzielt (Soares, Santos et al. 2016).

Es sollte andererseits nicht vergessen werden, dass fast alle operativen Therapieformen der Adipositas einen massiven Eingriff in die Stoffwechselforgänge bedeuten und demzufolge auch eine Reihe unerwünschter Nebeneffekte mit sich bringen. Dazu zählt die Malabsorption, die zwar intentionsgemäß zu einer reduzierten Kalorienaufnahme beiträgt, gleichzeitig aber eine Minderversorgung mit Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen herbeiführt. Einige davon müssen deshalb nach der Operation lebenslang supplementiert und ihre Spiegel regelmäßig bestimmt werden (s. Tabelle 2). Besonders betroffen sind die Vitamine B₁ und B₁₂, zu deren Aufnahme der Intrinsic Factor aus Zellen im Magenfundus benötigt wird, die nach einer Magenverkleinerung fehlen. Der Mangel an proteolytischen Pepsinen geht häufig mit einer zu geringen Eiweißaufnahme einher, der mit Proteinshakes, -pulver und ähnlichem begegnet werden muss. Unter den Mineralstoffen ist vor allem auf eine Deckung des Bedarfs an Calcium zu achten, welches wichtig für die Knochen ist und zwecks Osteoporoseprophylaxe zusammen mit Vitamin D postoperativ gegeben wird (Becker, Balcer et al. 2012, Mechanick, Youdim et al. 2013).

Die Patienten haben oft mit Verdauungsbeschwerden und Unverträglichkeiten zu kämpfen, sie sollten strikt die Aufnahme von fester Nahrung und Flüssigkeiten trennen und in mehreren kleinen Portionen über den Tag verteilt essen. Diese Notwendigkeit ergibt sich aus dem kleineren Magenvolumen und einer drohenden sogenannten Frühdumping-Symptomatik, einer Sturzentleerung des Magens mit starker Dehnung des nachgeschalteten Dünndarms. Strömt in diesen osmotisch bedingt Flüssigkeit ein, besteht die Gefahr eines Blutdruckabfalls und Kollapses. Ein Spätdumping tritt auf, wenn wasserlösliche Kohlenhydrate in Ermangelung einer Vorverdauung schneller im Dünndarm resorbiert werden und einen raschen Anstieg des Blutzuckers sowie eine sehr plötzliche Insulinausschüttung aus dem Pankreas bewirken. Dies mündet gegebenenfalls in eine reaktive Hypoglykämie nach Senkung des übermäßig erhöhten Blutglucosespiegels. Derartige Komplikationen sind daher v. a. für Diabetiker ein Problem (Seyfried, Wierlemann et al. 2015).

Nach der Anlage eines Magenbypass können insbesondere bei raschem Gewichtsverlust Hyperbilirubinämie und Gallensteinbildung auftreten, für die Übergewichtige – der häufig assoziierten Hypercholesterinämie wegen (bis zu 80% der Gallenblasensteine sind Cholesterinsteine) – und Diabetiker ohnehin eine Prädisposition besitzen. Prophylaktisch erhalten die Patienten deshalb Ursodesoxycholsäure, die die Steine auflösen kann und zudem eine hepatoprotektive Wirkung hat (Kowdley 2000, Siewert, Rothmund et al. 2011, Gutt, Jenssen et al. 2018).

Supplement	Dosierung
Multivitaminpräparat	1–2-tägig mit Vit. B ₁
Calciumcitrat mit Vitamin D	1200–2000 mg/d + 800 U/d
Folsäure	400 µg/d in Multivitamin
Elementares Eisen	40–65 mg/d (nur bei Bedarf)
Vitamin B ₁₂	3000 µg alle 6 Monate i. m.
postoperative Medikation	Dosierung
Enoxaparin-Na ⁺ (Clexane®-Spritzen)	60–80 mg 2 x/d s. c. stationär nach OP zur Thromboseprophylaxe
Metamizol (Novalgin®-Tropfen)	4 x 30 Tropfen/d, schrittweise Reduktion, als Analgetikum
Protonenpumpeninhibitor (z. B. Pantozol®)	40 mg/d für 3 Wochen postoperativ, zur Reflux-Prophylaxe
Ursodesoxycholsäure (Ursofalk®-Filmtabletten)	2 x 300 mg/d bis zu 6 Monate postoperativ, zur Prophylaxe einer Cholelithiasis

Tabelle 2: Nach RYGB und SG (teils lebenslang) notwendige Supplemente sowie die postoperative Medikation der adipositaschirurgischen Patienten.

1.3 Hormonelle Systeme und ihre Bedeutung im Zusammenhang mit Adipositas

1.3.1 Insulin

Das lebenswichtige Polypeptidhormon Insulin wird in den β -Zellen der Langerhans-Inseln des Pankreas gebildet. Als vornehmliche Aufgabe des Insulins kann die Regulation des Blutzuckerspiegels angesehen werden, außerdem ist das endokrine Hormon essenziell als Signal für diverse metabolische Effekte im Körper wie die Glykogensynthese in Muskel- und Leberzelle oder die Förderung der Lipogenese im weißen Fettgewebe. Der wichtigste direkte Reiz zur akuten Ausschüttung des Insulins aus der β -Zelle ist der Blutzuckerspiegel, ferner die Anwesenheit verschiedener Aminosäuren, freier Fettsäuren und einiger Hormone, wie z. B. Sekretin, GIP und GLP-1. Neben der rein mechanischen Verkleinerung des Magens sind deshalb beispielsweise ansteigende Spiegel des Inkretinhormons GLP-1 und des Peptids YY und eine geringere Freisetzung des Hungerhormons Ghrelin mitursächlich für die Wirksamkeit der bariatrischen Verfahren. Sie kommen vermutlich durch infolge der Resektion veränderte Kontaktzeit der Nahrung mit den sezernierenden Zellen zustande bzw. durch Ausschaltung ganzer Teile des Gastrointestinaltrakts, welche endokrine Funktionen besitzen (Holst and Gromada 2004, Yousseif, Emmanuel et al. 2014, Petersen and Shulman 2018).

Seine Wirkung entfaltet Insulin über den Insulinrezeptor, eine Rezeptortyrosinkinase, die einen Signaltransduktionsweg über das Insulinrezeptorsubstrat 1 (IRS1), die Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K), den second messenger Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP₂), die Phosphoinositid-abhängige Kinase-1 (PDK1) und schließlich die Proteinkinase B (PKB = AKT) in Gang setzt. Hierdurch wird die Glucoseausschüttung aus Hepatozyten mittels verminderter Glycolyse und Gluconeogenese reduziert und umgekehrt die Glucoseaufnahme stimuliert, insbesondere über GLUT4-Transporter in quergestreiftes Muskel- und Fettgewebe. Insulin wird ferner für die Aufnahme von Kalium und Magnesium in die Zellen benötigt, es wirkt antilipolytisch, hemmt als Gegenspieler des Glucagons dessen Freisetzung und schützt durch die Entfernung der Glucose aus dem Blut vor übermäßig hohen Blutzuckerkonzentrationen, die für den Körper toxisch wären. Bei übergewichtigen Menschen kann sich durch vermehrte und zu häufige Nahrungszufuhr – und damit über längere Zeiträume hohe Glucosespiegel – eine Resistenz der Körperzellen gegenüber Insulin entwickeln, so dass immer mehr von dem Hormon benötigt wird, um die Glucoseaufnahme in die Zellen zu erreichen. Die Insulinresistenz kann schließlich in einen manifesten Diabetes mellitus Typ 2 münden. Ist die Bauchspeicheldrüse mit der Produktion des notwendigen Insulins irgendwann zunehmend überfordert und versagt durch einen Untergang der β -Zellen gänzlich, wird diese Form des Diabetes mellitus insulinpflichtig. Ein solcher vollständiger Mangel des Hormons liegt auch beim Diabetes mellitus Typ 1 – der sogenannten jugendlichen Form – vor, die allerdings i. d. R. (auto-)immunologisch bedingt zu einer Zerstörung des Pankreasgewebes führt und nicht im Zusammenhang mit Adipositas steht oder mit der peripheren Insulinresistenz verwechselt werden darf (White 2003).

Über die oben genannten wichtigen Funktionen des Insulins für den menschlichen Stoffwechsel hinaus stimuliert das Hormon über den PI3K/PKC-Signalweg die NADPH-Oxidase (Goldstein, Mahadev et al. 2005, San José, Bidegain et al. 2009). Dieses Enzym liegt an die Zellmembran gebunden vor und katalysiert die Bildung von O₂⁻ (Superoxid-anionen), freien Radikalen, aus molekularem Sauerstoff. Aus ihnen entstehen dann weitere reaktive Sauerstoffspezies (ROS), die Zellen durch Reaktionen mit Protein- oder Lipidbausteinen sowie der DNA schädigen (s. auch 1.4).

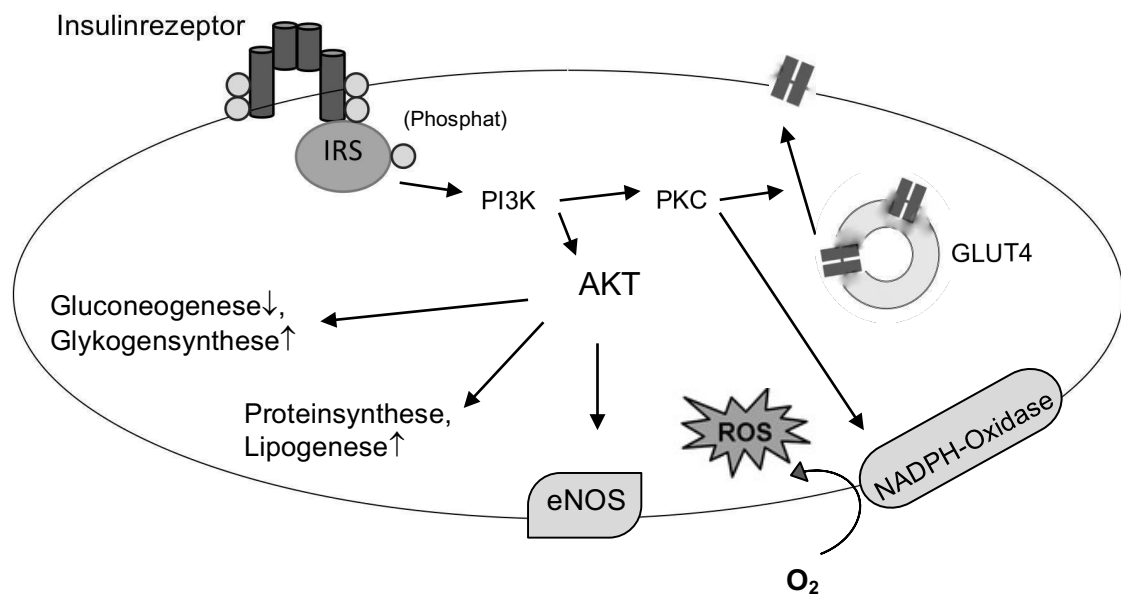


Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung der über Insulin vermittelten Signalwege und Wirkungen sowie der ROS-Produktion.

Hayden und Tyagi gelangen zu dem Schluss, dass im Zustand der Insulinresistenz, also z. B. beim metabolischen Syndrom, die vorliegende Hyperinsulin- und Hyperproinsulinämie die Reninproduktion des lokalen Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) im Pankreas stimulieren und damit ein Milieu schaffen, in dem zusätzliche und übermäßige Angiotensin II (AT-II)-Bildung die Kaskade AT-II – NADPH-Oxidase – ROS-Produktion befeuern (Hayden and Tyagi 2002).

1.3.2 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Bedeutende Aufgaben des RAAS im menschlichen Körper sind die Regulierung kardiovaskulärer Funktionen, insbesondere des Blutdrucks, sowie die Aufrechterhaltung eines adäquaten Wasser- und Elektrolythaushalts. Das Propeptid Angiotensinogen wird beim schlanken Menschen hauptsächlich in der Leber produziert und vom aus der Niere sezernierten Renin im Plasma zunächst zu Angiotensin, anschließend vom endothelständigen Angiotensin Converting Enzyme (ACE) v. a. in der Lunge zum Effektorhormon Angiotensin II (AT-II) gespalten. Neben einem systemischen sind mittlerweile viele lokale RAAS bekannt – beispielsweise in Gehirn, Herz, Pankreas und Fettgewebe –, die alle nötigen Komponenten des RAAS selbst exprimieren. Im Gehirn synthetisiertes AT-II fungiert so z. B. als Neurotransmitter, bei adipösen Patienten wird Angiotensinogen ver-

stärkt im Fettgewebe gebildet und fördert die Hypertrophie der Adipozyten (de Kloet, Krause et al. 2010).

AT-II entfaltet seine Wirkung in erster Linie über den AT₁- sowie AT₂-Rezeptor. Eine Bindung an den AT₁-Rezeptor (AT₁R) bedingt eine Vasokonstriktion, Blutdrucksteigerung mittels Natrium- und Wasserretention, Herabregulation der Lipolyse sowie teilweise fibrotische und inflammatorische Reaktionen. Die Bedeutung des AT₂-Rezeptors bleibt bislang umstritten, er hat mutmaßlich antagonisierende Funktionen zum AT₁R und wirkt unter anderem antiinflammatorisch (Steckelings 2011). Eventuell vermittelt er vasodilierende und antiproliferative Effekte sowie oxidativen Stress (Atlas 2007).

AT-II fördert die Differenzierung von Monozyten aus hämatopoetischen Stammzellen sowie deren Chemotaxis (über Hochregulierung des Chemokinrezeptors CCR₂) und dürfte mitverantwortlich für eine verstärkte Immunzell-Rekrutierung an Entzündungsorten sein – so auch dem Fettgewebe, in dem ein Übermaß an AT-II eine chronische niederschwellige inflammatorische Reaktion hervorruft (Tsubakimoto, Yamada et al. 2009, Yvan-Charvet and Quignard-Boulangé 2011). Als mitursächlich für die Entzündungsförderung wird zudem die durch AT-II verstärkte Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) betrachtet, die in der Folge u. a. Atherosklerose und vaskuläres Remodeling begünstigt. Diese Generierung freier Radikale findet zum einen über den AT₁R und die Aktivierung der NADPH-Oxidase statt (Fazeli, Stopper et al. 2012). Daneben trägt AT-II zur verminderten ATP-Synthese sowie zur Ausbildung einer mitochondrialen Dysfunktion bei, was beispielsweise häufig als maßgeblich im Zusammenhang mit der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen oder Zellalterungsprozessen diskutiert wird. In vitro-Versuche ergaben, dass mitochondrienspezifische und andere Antioxidantien dem durch AT-II verursachten Zellalterungsprozess glatter Muskelzellen entgegenwirken (Tsai, Pan et al. 2016).

Schließlich ist hier von besonderer Bedeutung, dass AT-II zur Insulinresistenz führen kann, indem die zunehmende Menge an produzierten ROS vermittelt über die PDK1 das IRS1 durch Phosphorylierung degradiert. Dadurch wiederum können die von Insulin initiierten Signalwege nicht bzw. nur gehemmt ablaufen – die Zelle wird unempfindlich gegenüber dem Hormon (Taniyama, Hitomi et al. 2005).

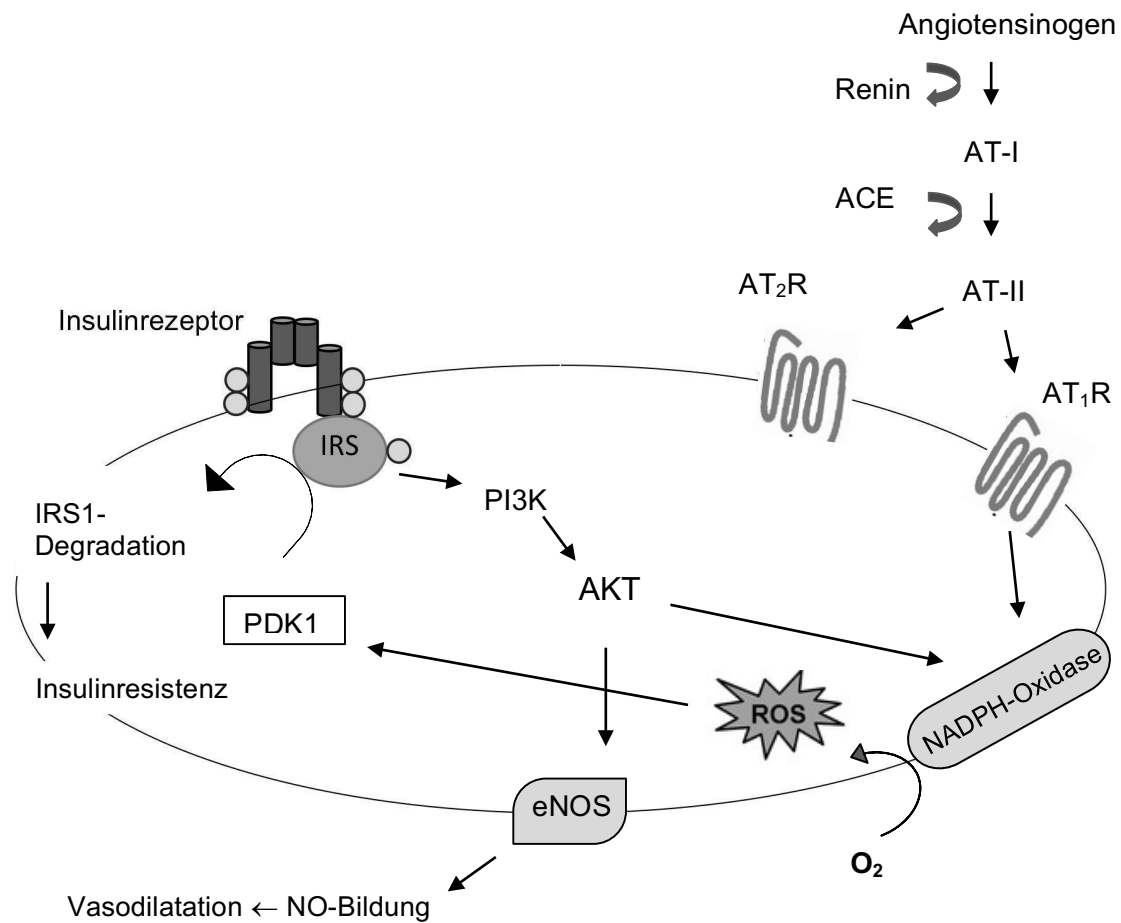


Abbildung 3: AT-II-Bildung und -Signalwege in der Zelle sowie über AT-II vermittelte ROS-Produktion.

Das RAAS wird folgerichtig als wichtiger verbindender Faktor in der Pathogenese von Adipositas und Insulinresistenz bzw. Diabetes angesehen, die zusammen mit der arteriellen Hypertension das metabolische Syndrom charakterisieren. Weil die Herabsetzung der Insulinsensitivität durch AT-II als gesichert gilt, wird den heute vielfach zur Blutdrucksenkung verordneten ACE-Inhibitoren ebenso wie den AT-Rezeptorblockern das Potenzial zugeschrieben, eine Diabetesentwicklung möglicherweise verzögern oder gar verhindern zu können (Niklason, Hedner et al. 2004, Ramalingam, Menikdiwela et al. 2017).

1.4 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und oxidativer Stress

Unter ROS versteht man Moleküle, die in den Zellen während der Stoffwechselprozesse aus Sauerstoff generiert werden. Für alle aeroben Lebewesen ist Sauerstoff essentiell, um durch seine Reduktion zu H₂O im Rahmen der Atmungskette den Energieträger ATP synthetisieren zu können. Die Sauerstoffradikale besitzen mindestens ein ungepaartes Valenzelektron in ihrer Hülle. Weil sie danach streben, ihren somit instabilen Zustand

durch Verlust oder Aufnahme von Elektronen zu beenden und deshalb sehr kurzlebig und reaktiv sind, nennt man sie auch reaktive Sauerstoffspezies (ROS). Außer dem oben erwähnten Superoxidanion O_2^- , das von der NADPH-Oxidase gebildet wird, zählt man zu dieser Gruppe andere Radikale wie das Hydroxylradikal OH^- , das Hydroperoxyl- (HOO^-) oder Peroxylradikal (ROO^-) und nicht-radikalisch vorliegende Moleküle wie Ozon (O_3), Hydrogenperoxid (H_2O_2) oder Hydroperoxid ($ROOH$). Die Cytochrom-c-Oxidoreduktase der Atmungskette und die verschiedenen Formen der NADPH-Oxidasen gelten als zwei wichtige Quellen endogener ROS (Circo and Aw 2010).

Die Produktion von ROS im Körper geschieht unter anderem durch Immunzellen wie neutrophile Granulozyten oder Makrophagen; sie nutzen die Sauerstoffradikale intrazellulär zur Zerstörung phagozytierter Fremdkörper beim „oxidative/respiratory burst“, einer explosionsartigen ROS-Freisetzung. Mikroorganismen wie Bakterien oder Pilze können so bekämpft werden. Wie wichtig diese Funktionen sind, wird klinisch zum Beispiel am Bild der septischen Granulomatose deutlich: Bei dieser Erbkrankheit ist durch eine Genmutation die NADPH-Oxidase defekt und es resultiert mangels ROS-Produktion eine bedrohliche Schwächung der Immunabwehr, da Erreger in den Granulozyten nicht abgetötet werden, sondern stattdessen über die Blutbahn rasch in mehrere Organe streuen können (Roos and de Boer 2014). Eine weitere physiologische Aufgabe der ROS innerhalb der Zellen ist, dass sie als Überträger bei der Modulation von Signalwegen und deren Regulation fungieren. Schließlich leisten sie durch gezielte Apoptoseinduktion einen wichtigen Beitrag zur Entledigung des Körpers von geschädigten Zellen (Circo and Aw 2010).

Allerdings kann eine – ungewollte – ROS-Produktion infolge äußerer Faktoren eintreten, nämlich z. B. durch den Einfluss ionisierender Strahlung, bei Tabakkonsum oder Aufnahme von Umweltgiften wie Schwermetallen. Bei manchen Medikamenten, die die Freisetzung von Eisen aus Ferritin erleichtern, tritt sie als unerwünschte Nebenwirkung auf (Mena, Ortega et al. 2009). Die unverzichtbaren und notwendigen Wirkungen der ROS dürfen daher nicht darüber hinwegtäuschen, dass ein Übermaß zu gefährlichem oxidativen Stress führt. Als solchen definiert man eine Imbalance zwischen oxidativen Stoffen und ihren antioxidativen Gegenspielern, die vom Körper entweder selbst synthetisiert oder von außen zugeführt werden. Dieses Ungleichgewicht bzw. eine Verschiebung hin zu überwiegend oxidativen an der Stelle reduktiver Reaktionen kann die Reparatur- und

Entgiftungsmechanismen einer Zelle stören und somit Defekte an der DNA sowie Schäden an Zellmembranen oder Proteinen bedingen (Valko, Leibfritz et al. 2007). Eine Beteiligung am Alterungsprozess durch die akkumulierenden schadhafte Zellbestandteile postuliert die Freie-Radikale-Theorie, die auf Denham Harman zurückgeht und in modifiziertem und erweiterten Rahmen noch immer diskutiert wird (Salmon, Richardson et al. 2010).

Ein weiteres Beispiel für die nachteiligen Eigenschaften der aggressiven Molekülfragmente ist die Lipidperoxidation, also ihr Angriff an ungesättigten Fettsäuren. Bei dieser Kettenreaktion entsteht, indem einer Fettsäure ein Elektron „herausgeschlagen“ wird, ein neues radikalisches Molekül, das in der Folge mit anderen Fettsäuren weiterreagiert. Dieser Pathomechanismus trägt wesentlich zur Entstehung von Atherosklerose bei (Valko, Leibfritz et al. 2007).

Heute werden unterschiedlichste Erkrankungen mit oxidativem Stress in Verbindung gebracht, unter anderem Krebs, rheumatische und kardiovaskuläre Krankheitsbilder, Diabetes und neurodegenerative Erkrankungen wie Demenz (Alzheimer) oder der Morbus Parkinson (Kirkinezos and Moraes 2001, Pham-Huy, He et al. 2008). Bei adipösen Patienten liegt ein chronisch erhöhtes ROS-Level vor, das besonders auf den im Fettgewebe produzierten erhöhten oxidativen Stress zurückzuführen ist – gleichzeitig ist letzterer nicht nur Folge, sondern auch Ursache der Entstehung des Übergewichts, indem er beispielsweise Proliferation und Größenzunahme von (Prä-)Adipozyten mitbedingt (Keany, Larson et al. 2003, Furukawa, Fujita et al. 2004, Rani, Deep et al. 2016).

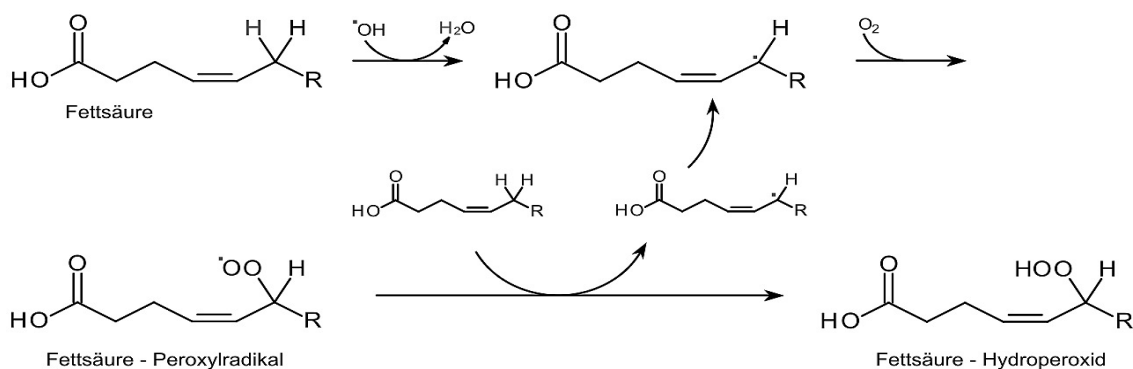


Abbildung 4: Lipidperoxidation als Beispiel für eine radikalische Kettenreaktion, ausgelöst durch ein Hydroxylradikal.

1.5 Antioxidantien

1.5.1 Vorkommen, Eigenschaften und antioxidative Wirkungsweise

Unter dem Begriff der Antioxidantien werden Substanzen subsumiert, die als Radikalfänger den ROS entgegenwirken und so den oxidativen Stress im Körper verringern. Unterschieden werden natürliche und synthetische Antioxidantien, außerdem ist eine Unterteilung in endogen produzierte und von exogen zugeführte Stoffe gebräuchlich. Das physiologischerweise im Körper vorkommende Glutathion ist ebenso wie Melatonin oder Harnsäure antioxidativ wirksam. Zusätzlich ist eine Reihe von antioxidativen Enzymen, insbesondere die Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase und Katalase, von großer Bedeutung. Von außen mit der Nahrung zugeführt werden dagegen beispielsweise die Vitamine A, C und E (Young and Woodside 2001, Pisoschi and Pop 2015). Sie sind essentiell und können vom Menschen nicht in ausreichender Menge selbst synthetisiert werden. Daneben muss die breit gefächerte Anzahl an sekundären Pflanzenstoffen angesprochen werden, zu deren Vertretern die Carotinoide (in orange-rotem, aber auch grünem Gemüse und Obst, z. B. Kürbis, Karotten, Grünkohl), die Polyphenole (z. B. in Heidel- und Johannisbeeren, Äpfeln), die schwefelhaltigen Sulfide (z. B. in Lauch, Zwiebeln) oder der bekannte grüne Pflanzenfarbstoff Chlorophyll gehören. Schließlich haben Mineralstoffe und Spurenelemente wie Zink oder Selen neben ihren vielfältigen Leistungen für Stoffwechsel und Immunsystem sowie als Baustoffe oft eine antioxidative Funktion (Schek 2002, Pham-Huy, He et al. 2008, Shebis, Iluz et al. 2013).

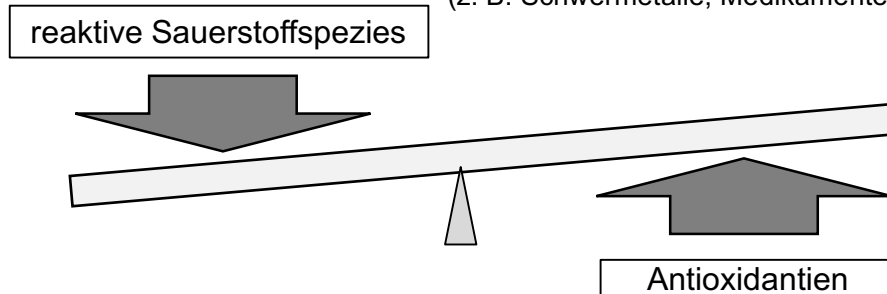
Folgende Wirkmechanismen existieren, vermittels derer antioxidative Systeme und Substanzen den Körper schützen: Erstens kann durch Mesomeriestabilisierung des Antioxidans verhindert werden, dass wie bei der schon genannten Lipidperoxidation durch die Elektronenaufnahme eines Radikals ein weiteres Radikal aus dem Reaktionspartner entsteht. Ein Beispiel hierfür ist das α -Tocopherol (Vitamin E). Zweitens sind viele antioxidative Stoffe wie Glutathion und Ubichinon „recyclebar“. Sie spenden Elektronen und müssen anschließend durch Elektronen weiterer Bestandteile einer teils längeren Redoxkette regeneriert werden, die nacheinander den Radikalcharakter übernehmen. Auf ähnliche Weise fungieren manche Antioxidantien wie z. B. die Ascorbinsäure (Vitamin C) als Reduktionsmittel. Ihr Redoxpotential ist so niedrig, dass sie eher oxidiert werden als andere Substanzen, die sie auf diese Weise vor den Radikalen schützen. Das Zusammenspiel hydrophiler und lipophiler Antioxidantien ermöglicht schließlich den Abtransport der Elektronen über verschiedenartige Zellstrukturen hinweg (Weseler and Bast 2009).

endogen:

- Enzyme (NADPH-Oxidase, Cytochrom P450-System, ...)
- chronische Entzündungen
- Erkrankungen wie Herzinfarkt und Diabetes, exzessiver Sport

exogen:

- UV-Licht
- Drogen wie Nikotin und Alkohol
- Infektionen
- Strahlenbelastung (ionisierende, radioaktive)
- Rückstände in Nahrungsmitteln (z. B. Schwermetalle, Medikamente)

**endogen:**

- Enzyme (z. B. Superoxiddismutase, Katalase)
- Coenzym Q (Ubichinon)
- Glutathion-System

exogen:

- Vitamine (A, E, C, ...)
- sekundäre Pflanzenstoffe (Anthocyane, Carotinoide, Polyphenole...)
- Mineralstoffe und Spurenelemente

Abbildung 5: Quellen oxidativen Stresses und antioxidative Gegenspieler.

1.5.2 Bioverfügbarkeit, Metabolisierung und mögliche Anwendung

Die diversen angesprochenen antioxidativ wirksamen Stoffe besitzen eine äußerst unterschiedliche Bioverfügbarkeit für den menschlichen Körper. Welcher Anteil einer oral aufgenommenen Antioxidantienmenge den systemischen Kreislauf erreicht, ist abhängig von mehreren Faktoren: der Stabilität der Substanz, der Verweildauer der Nahrung im Gastrointestinaltrakt, der Zusammensetzung und Verarbeitung der Nahrung (so sind z. B. die Vitamine E, D, K und A bekanntlich fettlöslich), Wechselwirkungen mit Medikamenten und anderen in der Nahrung enthaltenen Antioxidantien bis hin zur Tageszeit. Noch dazu differiert das Ausmaß ihrer Verstoffwechslung, so dass teilweise nur sehr schwierig abgeschätzt werden kann, wie viel Substanz letztlich eine entsprechende Wirkung hervorruft (Holst and Williamson 2008, D'Archivio, Filesi et al. 2010).

Da vieles für die Beteiligung oxidativen Stresses an der Genese eines Typ-2-Diabetes mellitus spricht, werden große Hoffnungen in Antioxidantien gesetzt, die orale Medikation betroffener Patienten eventuell ergänzen und unterstützen zu können. Denn letztere vermag den HbA1c-Wert zwar um 0,5–2 % zu senken und ist damit durchaus effektiv; sie birgt allerdings auch Risiken wie Laktatazidose (durch Metformin) oder Hypoglykämien und Gewichtszunahme (bei Anwendung von Insulinen, Sulfonylharnstoffen), so

dass ihre Anwendung gerade für adipöse Patienten nebenwirkungsreich ist (Inzucchi 2002, Hall, Pellen et al. 2010, Duvvuri, Katiyar et al. 2015).

Die oben angesprochene Versorgung mit bestimmten Vitaminen und Supplementen nach bariatrischen Operationen ist unumgänglich und ihre Wirksamkeit erwiesen. Dagegen stehen die bislang spärlichen gesicherten Kenntnisse über den wirklichen Nutzen einer Vielzahl antioxidativer Stoffe in Widerspruch zu der zunehmenden Vermarktung von als krebspräventiv und anderweitig gesundheitsfördernd beworbenen Nahrungs- und Nahrungsergänzungsmitteln („functional food“, „nutraceuticals“), denen sie zugesetzt werden. Eine weitere Erforschung ist hier noch geboten (Roberfroid 2000).

1.6 Fragestellung

Der Fokus der Arbeit lag auf der Adipositasstudie mit 50 stark übergewichtigen Patienten, die sich zu einer bariatrischen chirurgischen Maßnahme entschlossen hatten. Neben der erwarteten Körpergewichts-/BMI-Reduktion, die sowohl für den Roux-en-Y-Magenbypass als auch die Sleeve-Gastrektomie bereits nachgewiesen ist, sollte zum einen untersucht werden, welche Unterschiede sich hinsichtlich der gewählten Operationsart dokumentieren lassen und zum anderen, wie sich das starke Übergewicht auf DNA-Ebene auswirkt und ob sich fragliche Schädigungen nach Gewichtsreduktion als reversibel herausstellen. Dabei sollten mediiierende Variablen wie bestimmte Nebenerkrankungen der adipösen Patienten Berücksichtigung finden.

Da bekanntermaßen Insulin eine bedeutende Rolle im Zusammenhang mit Diabetes mellitus sowie Adipositas spielt und viele Studien diesen, wenngleich bislang noch weniger erforscht, auch für Angiotensin II dokumentieren, wurden beide Hormone einzeln und kombiniert in In-vitro-Zellkulturversuchen verwendet. Zwar können die Zellkulturmodelle nie gänzlich die physiologischen Zustände im Menschen abbilden, allerdings lassen sich Hinweise auf mögliche Wechselwirkungen und Faktoren gewinnen, die den bei Adipösen veränderten Metabolismus und oxidativen Stress beeinflussen. Unter dem Gesichtspunkt eines eventuellen positiven Effektes wurden deshalb zusätzlich verschiedene antioxidative Substanzen an den gleichen Zellen getestet, deren Wirksamkeit teilweise in der Literatur beschrieben worden ist.

2. Material

2.1 Verwendete Zelllinien und ihre Kultivierung

2.1.1 NRK

Die adhärente Zelllinie NRK – epitheliale Nierenzellen der Ratte – wurde bei 37°C, 5 % (v/v) CO₂ in DMEM high glucose (4,5 g/l), angereichert mit 10,0 % (v/v) fetalem Kälberserum (FBS), 1,0 % (v/v) L-Glutamin, 1,0 % (w/v) nichtessentiellen Aminosäuren und 1,0 % (v/v) Antibiotika (50 U/ml Penicillin sowie 50 mg/ml Streptomycin) kultiviert. Eine Subkultivierung fand zwei- bis dreimal pro Woche statt, für die Versuche wurde jeweils die gewünschte Anzahl Zellen am Vortag in 6-well-Platten mit je 3 ml Medium pro well ausgesät. Die Generationszeit beträgt etwa 20 Stunden. Im Gegensatz zu den HL60-Zellen entstammen die NRK-Zellen gesundem Nierengewebe, es sind also keine Tumorzellen bzw. Krebszellen.

2.1.2 HL60

Bei der HL60-Zelllinie handelt es sich um Zellen, die ursprünglich aus dem Blut einer 36-jährigen Patientin mit akuter Promyelozytenleukämie isoliert wurden und eine Verdopplungszeit von 36–48 Stunden besitzen. Sie sind nicht adhärent, sondern werden in Suspension kultiviert. Die Kultivierung erfolgte analog zur NRK-Zelllinie mit zwei bis drei Subkultivierungen pro Woche. Das HL60-Medium setzt sich zusammen aus 5 % (v/v) CO₂ in Roswell Park Memorial Institute-Medium (RPMI) 1640-Medium, angereichert mit 10 % (v/v) FBS, 1 % (w/v) L-Glutamin und 0,4 % (w/v) Antibiotika (50 U/ml Penicillin, 50 mg/ml Streptomycin). Die Zellen wurden bei 37°C und 5 % CO₂ kultiviert.

2.2 Getestete antioxidative Substanzen

2.2.1 Tricetinidin

Tricetinidin ist ein Vertreter der Anthocyanidine, die den Pigmentbestandteil der mehreren hundert natürlich vorkommenden Anthocyane ausmachen, welche wiederum eine Untergruppe der Flavonoide, i. e. von Polyphenolen, darstellen. Die Stabilität der Anthocyane ist von mehreren Einflussfaktoren wie u. a. Temperatur, Umgebungs-pH, Licht, Sauerstoffgehalt abhängig. Zu den Eigenschaften dieser Substanzen zählt eine antiinflammatorische, antikarzinogene und neuro- sowie kardioprotektive Wirkung. Darüber hinaus besitzen sie antioxidative und antimikrobielle Fähigkeiten (Kong 2003, Khoo, Azlan et al. 2017). Anthocyanidine werden unter Einwirkung von Hitze oder durch saure Hydrolyse aus Anthocyanen freigesetzt, die sich in den Zellvakuolen der Blüten, Früchte

oder Blätter verschiedener Pflanzen finden; sie sind für das blaue, violette und rote Farbspektrum von Blau- und Erdbeeren, Kirschen, Pflaumen und ähnlichem verantwortlich (Wan, Li et al. 2009, Salomone, Godos et al. 2016). Die wichtigsten und häufigsten Anthocyanidine sind Cyanidin, Delphinidin und Pelargonidin – ihre 3'-Deoxyanthocyanidin-Äquivalente Luteolinidin, Tricetinidin und Apigenidin kommen dagegen seltener vor (Jaldappagari 2008). Es ist bislang umstritten, ob die oben genannten erwünschten Wirkungsweisen maßgeblich dem glykosidisch gebundenen Zuckeranteil der Anthocyane oder vielmehr dem farbgebenden Aglykon, dem Anthocyanidin, zu verdanken sind. Eine Hemmung der Zellproliferation und Apoptoseinduktion bei HL60-Tumorzellen wurde von Del Pozo-Insfran et al. z. B. eher der glykosidischen Fraktion zugeschrieben, während Hou et al. den apoptotischen Effekt auf die HL60-Zellen in Abhängigkeit von einer ortho-Dihydroxyphenylstruktur der Anthocyanidine sehen (Hou, Ose et al. 2003, Del Pozo-Insfran, Percival et al. 2006).

Kayodé et al. konnten im FRAP-Assay eine hohe antioxidative Kapazität in Extrakten aus der Blattscheide einer Hirseart nachweisen, deren Anthocyangehalt sich hauptsächlich und in ungewöhnlich hohem Ausmaß aus 3'-Deoxyanthocyanidinen zusammensetzt (Kayodé, Nout et al. 2011).

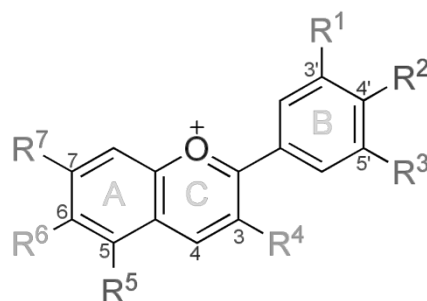


Abbildung 6: Grundstruktur der Anthocyanidine. Während bspw. Delphinidin an R¹ und R³ eine Hydroxylgruppe trägt, liegt sie bei Tricetinidin (= 3'-Deoxyanthocyanidin) an R¹ vor.

2.2.2 Curcumin

Das Polyphenol Curcumin ist ein natürlicher, leuchtend gelber Pflanzenfarbstoff, der aus dem Rhizom von *Curcuma longa* (dt. Gelbwurzel) stammt (Nagy, Feher et al. 2015). Dieser intensiven Färbung wegen wird Curcumin als Lebensmittelzusatzstoff E100 z. B. in Currypulver und Gewürzmischungen eingesetzt. Es ist weithin als Gewürz bekannt und findet in der Naturheilkunde als Mittel gegen rheumatoide Arthritis, bei entzündlichen Erkrankungen und Schmerzen Verwendung (Funk, Frye et al. 2006, Schiborr, Kocher et al. 2014). Großes Interesse gilt der Substanz in Bezug auf einen möglichen Einsatz im

Rahmen onkologischer Therapien, denn ein antiproliferativer und proapoptotischer Effekt des Curcumins auf verschiedenste bislang getestete Tumorzellarten konnte nachgewiesen werden (Aggarwal and Sung 2009, Wang, Chen et al. 2017).

Die antioxidative und -inflammatorische Wirkung der Polyphenole ist in vitro mittlerweile recht gut untersucht worden, während In-vivo-Studien zu teils gegensätzlichen Ergebnissen gelangen (Zhang and Tsao 2016).

2.2.3 Resveratrol

Von den hier verwendeten Antioxidantien ist Resveratrol die bislang am besten untersuchte Substanz. Die phenolische Verbindung aus der Gruppe der Stilbene ist u. a. ein Bestandteil von Rotwein, dessen vermutete präventive Wirkung in Bezug auf die Koronare Herzkrankheit immer wieder Gegenstand von Diskussionen ist und auf die antioxidativen und antiinflammatorischen Eigenschaften des Stoffs zurückgeführt wird. Neben dem Vorkommen in Früchten wie Trauben und verschiedenen Beerensorten findet sich Resveratrol auch in Erdnüssen und diversen anderen Pflanzen (Surh, Hurh et al. 1999, Alberdi, Rodríguez et al. 2011).

Unter dem Gesichtspunkt des metabolischen Syndroms wird diesem Antioxidans v. a. deshalb Beachtung geschenkt, weil ihm eine körperfettsenkende Wirkung zugeschrieben wird. Autoren sprechen hier von einem „caloric restriction mimetic“; als Mechanismus nimmt man an, dass Resveratrol Proliferation und Ausdifferenzierung von Präadipozyten inhibiert sowie deren Apoptose befördert. Außerdem bestehen Anhaltspunkte für eine reduzierte Aufnahme von Triacylglyceriden in das Fettgewebe bzw. eine dortige verminderte Lipogenese wie auch LDL-Oxidation. Dabei ist zu bedenken, dass bei derartigen Versuchen im Tiermodell mehrheitlich Konzentrationen eingesetzt wurden, die sich im Menschen nur durch zusätzliche Resveratrol-Supplementation erzielen ließen (Baur and Sinclair 2006, Alberdi, Rodríguez et al. 2011).

In hohen Dosierungen bzw. bei längerer Anwendung sind bei einigen Polyphenolen in In-vitro-Untersuchungen allerdings auch toxische Effekte beobachtet worden. Ihr pharmakokinetisches Verhalten kann sich außerdem durch Strukturänderungen im Anschluss an die Resorption ändern (George, Delleire et al. 2017). Ähnlich der Studienlage zu Curcumin lassen sich zur Bioverfügbarkeit des Polyphenols Resveratrol beim Menschen keine sicheren Angaben machen, die unter anderem wohl durch eine hohe interindividuelle Variabilität und zirkadiane Aufnahmeschwankungen erschwert werden (Almeida, Vaz-da-Silva et al. 2009). Insgesamt gelangt freies Resveratrol bei zwar recht guter Absorption aufgrund von First-Pass-Effekt sowie starker Verstoffwechslung nur

in einem geringen Prozentsatz der verabreichten Gesamtmenge in das Blutplasma; zur Lösung dieser Probleme sind in jüngerer Zeit galenische Modifikationen in Erprobung (Amri, Chaumeil et al. 2012, Amiot, Romier et al. 2013).

2.3 Arbeitsgeräte

Allgemeine Verbrauchsmaterialien wurden von der Firma Hartenstein (Würzburg) und Verbrauchsmaterialien für die Zellkultur von der Firma Greiner (Nürtingen) bezogen. Hochreines Lösungsmittel wurde aus der hauseigenen Reinstwasseranlage entnommen (Millipore-System).

Arbeitsgeräte und Materialien	Hersteller
Brutschrank	Typ B 5060 EK-CO2, Heraeus, Hanau
Comet-Mikroskop	Nikon Eclipse TS100-F, Düsseldorf
Coulter Counter	Z1 bzw. Z2, Coulter Electronics, UK
Elektrophoresekammern	Hoefer Scientific Instruments, San Francisco (USA)
Feinwaage	Sartorius, Göttingen
Fluoreszenzmikroskop	Nikon Eclipse, 20x /40x (Nikon)
Heizblock (37°C)	Liebisch, Bielefeld
Kühlschränke	-80°C, Hera Freeze, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA) -20°C, Liebherr, Ochsenhausen
Netzgerät	Power Pac 300, BioRad, Deutschland
Objektträger	Menzel Superfrost, Gerhard Menzel, Braunschweig
Pipetten	Gilson, Villiers le Bel (Frankreich)
Sterile Werkbank	Gelaire Gruppo Flow, Flow Laboratories, Deutschland
Wasserbad	Memmert bzw. Kottermann, Deutschland
Zellmikroskop	Nikon TMS
Zentrifugen	Universal K2 S/16 R, Hettich, Tuttlingen Labofuge 400e, Heraeus, Hanau
Zytozentrifuge	Cytospin 3, Thermo Shandon (UK)

Tabelle 3: Verwendete Arbeitsgeräte und Materialien.

2.4 Laborchemikalien

Die nachfolgende Tabelle stellt eine Auflistung der bei der Erstellung der Arbeit benötigten Laborchemikalien dar. Soweit bekannt, sind die jeweilige CAS-Nummer sowie der Hersteller, von dem sie bezogen wurden, angegeben.

Laborchemikalien	CAS-Nummer	Hersteller
1,4-Diazobicyclo(2.2.2)octan	280-57-9	Sigma
1x PBS		Roth
2-Hydroxyethylagarose, Typ VII	39346-81-1	Sigma
2-Propanon (Aceton)	67-64-1	Roth
Angiotensin II		Sigma
Curcumin		Sigma
Cytochalasin B	14930-96-2	Sigma
Dikaliumhydrogenphosphat	7758-11-4	Merck
Dimethylsulfoxid	67-68-5	Sigma
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (High Glucose)		Sigma
Ethylendiamin-tetraacetat (EDTA, Dinatriumsalz-2-hydrat)	6381-92-6	Roth
Fetales bovines Serum		Biochrom
Fluoresceindiacetat (FDA)	596-09-8	Serva
Gel Red/Gel Green		Biotrend
High Melting Point Agarose	9012-36-6	Roth
Histopaque 1077		Sigma
Humaninsulin	11061-68-0	Santa Cruz
Kaliumchlorid	7447-40-7	Sigma
Lectin/PHA L8902		Sigma
Low Melting Point Agarose		Sigma
L-Glutamin (200 mM)		Sigma
Penicillin–Streptomycin (10 000 U Penicillin + 10 mg/ml Streptomycin in 0,9 % NaCl)		Sigma
Methanol	67-56-1	Roth
Na-N-Lauroylsarcosin	137-16-6	AppliChem
Natriumchlorid	7647-14-5	Roth
Natriumhydrogencarbonat	144-55-8	Sigma
Nichtessentielle Aminosäuren		PAA Laboratories
Natriumhydroxid	1310-73-2	Roth
Resveratrol		Sigma
RPMI-1640 Medium		Sigma
Salzsäure 37%	7647-01-0	Merck

Tricetinidin		Connect Chemicals
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	77-86-1	Roth
Triton X-100	11061-68-0	Sigma
Trypsin	9002-07-7	Sigma
Tylosin Solution T3397 (8 mg/ml in 0,9 % NaCl)		Sigma

Tabelle 4: Genutzte Laborchemikalien und Substanzen.

Sigma	Sigma-Aldrich, München
Santa Cruz	Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg
Roth	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Serva	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Merck	Merck Bioscience GmbH, Schwalbach
AppliChem	AppliChem GmbH, Darmstadt
Biotrend	Biotrend, Köln
Biochrom	Biochrom GmbH, Berlin
PAA Laboratories	PAA Laboratories GmbH, Pasching (Österreich)

2.5 Puffer und Lösungen

Puffer/Lösung	Herstellungs- und ggf. Aufbewahrungsweise
Elektrophoresepuffer	120 ml 5 M NaOH + 10 ml 0,2 M EDTA + 1870 ml Aqua dest. Der Puffer wurde jeweils frisch hergestellt und bei 4°C gekühlt.
Lysepuffer	2,5 M NaCl (146,10 g/l) + 0,1 M Na ₂ EDTA (37,22 g/l) + 0,01 M TRIS (1,21 g/l) + 1 % N-Laurosylsarcosinat (10 g/l) → Lösung in H ₂ O und Einstellung auf pH 10 mit NaOH.
0,4 M TRIS-Neutralisationspuffer	48,44 g TRIS (0,4 mol/l) + 1 l Aqua dest. → Einstellung des pH 7,5 mit HCl _{konz.}
Lyselösung	66,75 ml Lysepuffer + 7,5 ml DMSO + 0,75 ml Triton-X 100 Die Lösung wurde stets frisch hergestellt und bei 4°C gekühlt.
Gel Red-Färbelösung	10 µl Gel Red-Stocklösung + 990 µl Aqua dest. + 3 ml DABCO

Gel Green-Färbelösung	10 µl Gel Green-Stocklösung + 990 µl Aqua dest.
FDA-Färbelösung für den Vitalitätstest	2 ml 1x PBS + 12 µl FDA-Stammlösung (5 mg/ml Aceton + 2 µl Gel Red-Stocklösung)
1x PBS	80 g NaCl + 2 g KCl + 5,75 g N ₂ HPO ₄ (H ₂ O) ₂ + 2 g KH ₂ (H ₂ O) ₂ → Einstellung von pH 7,4 in 1 l H ₂ O mit NaOH.
MSH-Puffer	0,01 M Tris HCl (1,576 g/l) + 0,1 M EDTA (29,22 g/l) + 0,02 M NaCl (1,17 g/l) + Pen/Srep (10 ml/l, nach dem Autoklavieren) → Einstellung von pH 7,0 mit HCl bzw. NaOH.

Tabelle 5: Zur Durchführung der Versuche hergestellte bzw. verwendete Puffer und Lösungen.

2.6 Software

Die vorliegende Arbeit wurde mit den Programmen Microsoft Office 365 ProPlus–Word bzw. –Excel (Version 15.33, © 2017) geschrieben.

Zur Literaturrecherche diente EndNote™ X8 (Thomson Reuters, © 2016), für die statistische Auswertung wurde das Programm IBM SPSS Statistics (Version 23.0) genutzt.

3. Methoden

3.1 Adipositasstudie

3.1.1 Studienaufbau

Der Arbeit liegen die Daten der ersten Hälfte Patienten einer Studie zugrunde, die in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Würzburg und hier speziell der Allgemein- und Viszeralchirurgie unter PD Dr. Florian Seyfried erfolgte. Insgesamt gaben für die vorliegende Studie 50 adipöse Patienten, die sich einer bariatrischen Operation unterzogen, ihre Zustimmung zur Auswertung der bei ihnen erhobenen Befunde und zur Verwendung von Blut- und Mundschleimhautproben (Ethikvotum Nr. 186/14). Deren Entnahme fand planmäßig jeweils möglichst zeitnah vor dem Operationstermin sowie zu zwei weiteren Zeitpunkten – 6 und 12 Monate postoperativ – statt, zu denen sich die Patienten zur ohnehin vorgesehenen Verlaufskontrolle in der Ambulanzsprechstunde vorstellen sollten. Diese Zeitfenster konnten mit den tatsächlich stattgehabten Kontrolluntersuchungen nach 200 ± 25 Tagen ($\approx 6,7$ Monate) und 361 ± 47 Tagen ($\approx 12,0$ Monate) recht gut eingehalten werden.

Von den 50 hier besprochenen Patienten sind 40 weiblich und 10 männlich, das Durchschnittsalter lag bei Einschluss in die Studie bei $43,8 \pm 10,5$ Jahren. Sie wogen zu Beginn

149,3 ± 32,6 kg, was einem BMI von 52,09 ± 8,6 kg/m² entsprach. Es wurde 32 Mal ein Roux-en-Y-Magenbypass angelegt und 17 Mal eine Sleeve-Gastrektomie vorgenommen. Bei einem Patienten musste die Operation aufgeschoben werden.

Als Kontrollgruppe konnten mit Genehmigung der Ethik-Kommission Lymphozytenpräparate von Teilnehmern einer anderen Studie genutzt werden (Ethiknummern 96/11 und 44/04). Hiervon wurden insgesamt 18 ausgewertet. Die normalgewichtigen Kontrollpersonen unterteilten sich in 14 Frauen und 4 Männer mit einem durchschnittlichen Alter von 31,0 ± 7,6 Jahren und einem BMI von 22,7 ± 2,1 kg/m².

3.1.2 Erfasste klinische Parameter

3.1.2.1 Blutdruck und Herzfrequenz

Zum Standard der Kontrolluntersuchungen zählten Blutdruck- und Herzfrequenzmessung, zumal es sich bei mehr als der Hälfte der Patienten um diagnostizierte Hypertoniker handelte, von denen fast alle medikamentös behandelt wurden. Sogar in der Normalbevölkerung liegt die Prävalenz der arteriellen Hypertonie in der Altersgruppe der Studienteilnehmer inzwischen bei etwa 35–50 % und gilt daher mit als wichtigster kardiovaskulärer Risikofaktor der Industrieländer. Übergewicht (ab einem BMI > 25 kg/m²) wird in der Literatur teilweise zu > 60–70 % ätiologisch für die Erkrankung an Bluthochdruck verantwortlich gemacht; umgekehrt leiden unter letzterem mindestens ebenso viele der Adipösen (Krauss, Winston et al. 1998, Bramlage, Pittrow et al. 2004). Dafür wird unter anderem Insulin als gesicherter Faktor angesehen, weil es das sympathische Nervensystem stimuliert und auf diesem Weg zu einer Druckerhöhung führt (Scherrer, Randin et al. 1994). Außerdem geht eine Hyperinsulinämie in mutmaßlich kausalem Zusammenhang mit reduzierten Spiegeln natriuretischer Peptide einher – welche als Gegenspieler des RAAS einen zu hohen Blutdruck durch Natriuresis eigentlich verhindern sollen (Halbirk, Nørrelund et al. 2010). Die RAAS-Aktivierung wiederum resultiert v. a. aus einer gesteigerten Angiotensinogen-, Angiotensin II und Aldosteronproduktion durch weißes Fettgewebe (Schütten, Houben et al. 2017).

3.1.2.2 CRP

Das mit dem kleinen Blutbild erfasste C-reaktive Protein gilt als wichtiger unspezifischer Entzündungsmarker. Das Akute-Phase-Protein zeigt früher als Fieber oder ein Anstieg der Leukozytenzahl Infekte oder Entzündungen innerer Organe wie Appendizitis, Cholezystitis etc. an. Die Messung dieses Werts war hier von Interesse, weil ein – ggf. latenter – chronischer inflammatorischer Zustand bei Menschen mit Adipositas inzwischen viel-

fach nachgewiesen werden konnte (Póvoa, Almeida et al. 1998, Festa, D'Agostino et al. 2001).

3.1.2.3 Nüchternglucose und HbA1c

Zur Erhebung des Nüchternglucosewerts muss der Patient eine mindestens achtstündige Nahrungskarenz eingehalten haben. Ist dieser Wert, der routinemäßig im Blutbild aufgeführt wird, pathologisch erhöht, kann das ein erstes Indiz für eine beginnende Insulinresistenz sein und nach weiterer Diagnostik die Sicherung eines Diabetes mellitus Typ 2 erlauben. Dafür wird ein oGTT (oraler Glucosetoleranz-Test) genutzt, der weiteren Aufschluss über die Blutzucker-Regelungsfähigkeit des Körpers gibt.

Im Kontext des Diabetes mellitus kommt allerdings der Bestimmung des HbA1c als einem langfristigen Parameter mit Aussagekraft hinsichtlich des Blutzuckerspiegels der letzten 8–12 Wochen vor der Messung eine besondere Bedeutung zu. Das HbA1c ist das stabile Produkt einer nichtenzymatischen Bindung von Glucose (Glykierung) an das Hämoglobin A1 und kommt zustande, wenn der mittlere Blutzuckerspiegel eines Patienten in der vorangehenden Zeit übermäßig erhöht war. Die Spezifität ist derart, dass ein Diabetes mellitus bei Werten < 5,7 % als unwahrscheinlich gilt, bei > 6,5 % dagegen als diagnostiziert (Nauck, Petermann et al. 2017, Punthakee, Goldenberg et al. 2018).

3.1.2.4 Leberwerte

Zu den diagnostisch bedeutsamen Leberwerten zählen die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und die γ -Glutamyltransferase (γ -GT). Diese Enzyme, die in hoher Konzentration in der Leber (GOT und GPT) und im Herz (nur GOT) auftreten, liegen in den Zellen entweder frei im Zytosol oder an die Mitochondrien gebunden vor und weisen bei einem Anstieg auf eine Schädigung der entsprechenden Zellen hin. Zu einer solchen Erhöhung der Transaminasen kommt es beispielsweise bei einer alkoholischen oder nicht-alkoholischen Fettleber (NAFLD), Hepatitiden oder einer Leberzirrhose. Die γ -GT ist ein in vielen Körperzellen auftretendes Enzym, das als Marker oxidativen Stresses dient; ihre Erhöhung ist zwar nicht spezifisch für Lebererkrankungen, kann aber in Kombination mit GOT und GPT richtungsweisend sein. Sie hat außerdem prognostischen Wert, weil sie mit allen Faktoren des metabolischen Syndroms assoziiert ist und auf eine schlechtere Glucosetoleranz bzw. einen Diabetes mellitus Typ 2 hindeuten kann (Giannini, Testa et al. 2005, Nannipieri, Gonzales et al. 2005).

3.1.2.5 Lipoproteine

Unter den Blutfetten oder Lipoproteinen werden verschiedene nach ihrer Dichte eingeteilte Partikel verstanden, die dem Transport der Lipide, Triglyceride und des Cholesterins bzw. seiner Ester im Blut dienen. Das lebenswichtige Cholesterin wird vom Körper vor allem als Baustein für Zellmembranen und zur Synthese von Signalstoffen oder Hormonen benötigt. Dabei transportieren LDL-Partikel aus der Leber in erster Linie Cholesterin(-ester) aus der Leber in die Körperperipherie, während HDL-Partikel überschüssiges Cholesterin zur Leber zurückführen. Besonders das LDL gilt als die Atherosklerose begünstigend und daher gefährlich. Gleiches ist von erhöhten Triglyceridwerten bekannt, die z. B. durch Fettstoffwechselstörungen oder Übergewicht zustande kommen. Eine positive Korrelation besteht laut Brown et al. zwischen dem BMI und einer Dyslipidämie, definiert als Verhältnis des Gesamtcholesterols zum HDL-Cholesterin $\geq 4,5$. Das HDL sollte bei Frauen $> 45\text{--}50$ mg/dl, bei Männern mindestens $> 35\text{--}40$ mg/dl betragen, um seine protektive Wirkung entfalten zu können, zu der ein Schutz der Gefäßwand-Endothelzellen, eine antithrombotische und antiapoptotische Wirkung gerechnet werden. Dabei sind die genauen Grenzwerte umstritten und werden nicht einheitlich angegeben. Erhöhte Gesamtcholesterinwerte stellen einen kardiovaskulären Risikofaktor dar, weshalb die Patienten in diesem Fall mit Statinen (HMG-CoA-Reduktase-Hemmern) behandelt werden, die die Synthese des Cholesterins reduzieren (Brown, Higgins et al. 2000, Chan, Barrett et al. 2004, Mineo, Deguchi et al. 2006).

3.1.3 Isolierung peripherer Lymphozyten

Das Patientenmaterial, frisches peripher-venöses Vollblut in 10 ml-Heparin-EDTA-Röhrchen, wurde jeweils max. 3 h nach der Blutentnahme aufbereitet. Zunächst wurde dabei in ein 15 ml Greiner-Zentrifugenröhrchen 7 ml Dichtegradient (Ficoll-Histopaque 1077 von Sigma Aldrich) pipettiert und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach anschließender vorsichtiger Überschichtung des Histopaques mit 7 ml Vollblut (Verhältnis 1:1) erfolgte die Zentrifugation für 30 Minuten bei 1600 U/min ($400 \times g$) und 25°C . Die oberste Schicht, das Plasma, wurde von der undurchsichtigen Interphase (mononukleäre Zellen) mit einer Pasteurpipette abgenommen und aliquotiert (zu je $300 \mu\text{l}$, Lagerung bei -20°C). Die undurchsichtige Interphase wurde dann in 10 ml Lymphozytenmedium (RPMI 1640-Medium, angereichert mit 15 % (v/v) fetalem Kälberserum (FBS), 1 % (w/v) L-Glutamin, 1 % (v/v) Natriumpyruvat, 1 % (v/v) nichtessentielle Aminosäuren, 0,4 % (w/v) Antibiotika (50 U/ml Penicillin, 50 mg/ml Streptomycin und 0,1 % Tylosin) resuspendiert und für

10 Minuten bei 1300 U/min (200 x g) und 25°C zentrifugiert. Daraufhin wurde der Überstand verworfen und das Pellet mit 10 ml Lymphozytenmedium gewaschen, erneut resuspendiert und wie zuvor zentrifugiert. Nach nochmaligem Verwerfen des Überstands und Hinzugabe weiterer 3 ml Medium konnte mit der Neubauer-Zählkammer die Zelldichte bestimmt werden. Jeweils 2 Mio. Zellen wurden für 44 ± 4 h mit Phytohämagglutinin (PHA, in einer Konzentration von 10 µg/ml) und anschließend 24 h mit Cytochalasin B (in einer Konzentration von 3 µg/ml) bei 37°C und 5 % (v/v) CO₂ inkubiert. Phytohämagglutinin ist ein pflanzliches Lektin, das die Mitose der Lymphozyten stimuliert, so dass es zunächst zu einer Proliferation der ausgesäten Zellen kommt. Das Spindelgift Cytochalasin B sorgt dann für eine Hemmung der Zytokinese, wodurch sich die Zellkerne zwar teilen, jedoch beide entstandenen Tochterkerne in einer – nun doppelkernigen – Zelle verbleiben. Schließlich erfolgte das Aufbringen auf die Objektträger analog zum Mikrokerntest mit Hilfe der Cytospin-Zentrifuge. Die Lymphozytenpräparate wurden anhand zuvor festgelegter Kriterien auf die Anzahl an ein-, doppel- und mehrkernigen Zellen und darin auftretender Mikrokerne sowie Apoptosen, Mitosen und Granulozyten verschiedener Stadien hin untersucht. Je nach Güte der Präparate – oftmals lagen trotz PHA- und Cytochalasin B-Behandlung nur relativ wenige doppelkernige Zellen vor – konnten zwischen 1000 und 3000 Lymphozyten hinsichtlich ihrer Mikrokerneln aus gezählt werden. Die Zählkriterien orientierten sich an den von Fenech et al. festgelegten (Fenech 2000, Fenech, Chang et al. 2003).

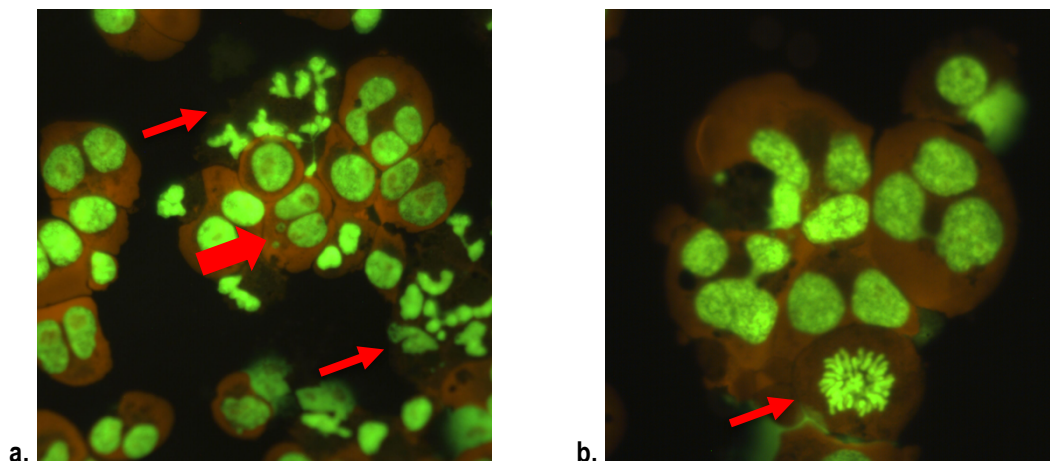


Abbildung 7: a. Mit Gel Green gefärbtes Lymphozytenpräparat unter dem Fluoreszenzmikroskop. Sichtbar sind ein- und doppel- und mehrkernige Zellen, mikrokernhaltiger Lymphozyt (dicker roter Pfeil), segmentierte Granulozyten mit blasserem Zytoplasma (schmaler roter Pfeil); b. Mitotische Zelle.

3.1.4 Herstellung von Mundschleimhautpräparaten

Zusätzlich zur Blutentnahme gaben die Studienteilnehmer zu den drei Untersuchungszeitpunkten Mundschleimhautproben ab, die mit einem Wattestäbchen entnommen und bei 4°C in NaCl-Lösung gelagert wurden. Die MSH-Zellen wurden mit je 10 ml MSH-Puffer versetzt, für 5 Minuten bei 1500 rpm zentrifugiert und der Überstand bis auf 0,5–1 ml Restvolumen vorsichtig abpipettiert. Dieser Vorgang musste mit je 5 ml MSH-Puffer noch zweimal wiederholt werden, bevor die Zellen im Restvolumen resuspendiert und mit dem Coulter Counter gezählt wurden. Daraufhin konnten pro Patient 6 Cytospin-Präparate zu 8000 Zellen/Objekträger angefertigt werden, die bei –20°C in Methanol fixiert und bis zur mikroskopischen Auswertung gelagert wurden. Für die dazu notwendige Färbung kam analog zum Mikrokern-Test Gel Green zur Anwendung.

Die gezählten Kategorien umfassten ein-, doppel- und mehrkernige Zellen und die darin enthaltenen Mikrokerne, Mitosen, sonstige Zellen und das Auftreten von sogenannten „Broken eggs“. Diese bezeichnen eine Unterform der Nuclear Buds – i. e. Zellkernausstülpungen nicht gänzlich geklärter Herkunft –, bei denen der Bud über eine sichtbare Brücke mit dem Kern verbunden bleibt. Da sie in einigen Patientenpräparaten gehäuft bemerkt worden waren, wurden sie ihrer eventuellen Bedeutsamkeit wegen in die Wertung mit eingeschlossen (Holland, Bolognesi et al. 2008).

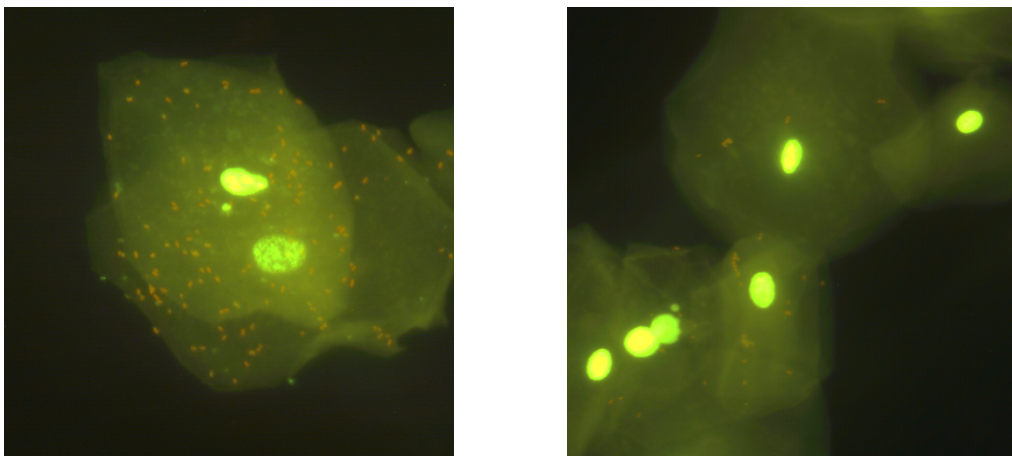


Abbildung 8: Mundschleimhautzellen (ein- und doppelkernig) mit Mikrokernen unter dem Fluoreszenzmikroskop.

3.1.5 Mikrokern-Test

Mit dem Mikrokerntest sollen Chromosomenschäden sowie Defekte des Spindelapparates nachgewiesen werden. Das Ziel des Mikrokerntests ist es vorrangig, toxische oder mutagene Effekte bestimmter chemischer Substanzen auf das Erbgut aufzudecken. Er gilt als valide Technik im Humanbiomonitoring und besitzt z. B. einen guten prädiktiven

Wert hinsichtlich verschiedener Krebserkrankungen. Bei den Mikronuklei handelt es sich um kleine Partikel im Zytoplasma einer Zelle, die von Hetero- und Euchromatin mit Kernmembranhülle gebildet werden. Ein Mikrokern kann sowohl aus einem Chromosomenbruchstück als auch aus einem vollständigen Chromosom bestehen. Der Chromatinverlust aus dem Hauptkern findet während der Mitose statt, in der die genetische Information zur Transportform, den Chromosomen, kondensiert. Eine Zellteilung während der 24 Stunden dauernden Cytochalasin B-Inkubation ist demzufolge für die Entstehung der Mikrokerne zwingend notwendig und bei den beiden genutzten Zelllinien NRK und HL60 durch eine ausreichende Generationszeit gewährleistet (Fenech 2000, Fenech, Holland et al. 2011).

Für den Cytospin wurden je 3 ml-well 250 000 behandelte Zellen abgeerntet und gezählt, auf Eis gelagert und auf Objektträger aufgebracht, die zuvor mit Ethanol entfettet wurden. Nach fünfminütigem Zentrifugieren (1000 rpm) mussten die Objektträger für mindestens zwei Stunden in Methanol bei -20°C fixiert werden und ließen sich anschließend ausreichend getrocknet mit Gel Green anfärben. Einer kurzen Inkubationszeit bei Raumtemperatur folgte das Waschen mit PBS, welches dann um den Spot herum vorsichtig abgetrocknet wurde. Die Objektträger wurden auf dem Spot mit einem Tropfen DABCO eingedeckt und hiernach mikroskopisch unter dem FITC-Filter und 400-er Objektiv begutachtet.

Pro Objektträger wurden 1000 Zellen zunächst unter allen Gesichtspunkten gezählt, anschließend entsprechend des zu beurteilenden Zelltyps auf 1000 aufgezählt, um eine Aussage treffen zu können, wie viele Mikrokerne sich pro 1000 Zellen ohne Einbezug aller Zellstadien finden lassen. Insgesamt wurden in den Zellkulturversuchen je angewandter Konzentration zwei Objektträger und somit 2000 Zellen codiert ausgewertet und ein Mittelwert der Mikrokerne errechnet. Für die Patientenstudie dagegen sollten nach Möglichkeit 6 Objektträger pro Patient erstellt und 3000 Zellen ausgezählt werden, was meistens, aber nicht in jedem Fall, gelang. Zu den untersuchten Kategorien gehörten immer: Einkernige, doppelkernige und mehrkernige Zellen, Mitosen, Apoptosen, sonstige Zellen bzw. – bei den Lymphozytenpräparaten – die Anzahl an Granulozyten.

3.2 Weitere in den Zellkulturversuchen angewandte Methoden

3.2.1 Comet Assay

Der Comet Assay ist ein einfacher, schneller und empfindlicher Test zur Quantifizierung unterschiedlichster DNA-Schäden. Mit Hilfe der Mikrogelelektrophorese-Technik lassen

sich in einer Vielzahl an Zellen sowohl Einzel- und Doppelstrangbrüche als auch alkalilabile Stellen detektieren. Theoretischer Hintergrund dieses Gentoxizitätstests ist folgender: Die Membran in Agarose fixierter Zellen kann unter alkalischen Bedingungen lysiert werden und die enthaltene DNA durch einen Elektrophoresepuffer entwunden werden. Während der Gelelektrophorese wandern im elektrischen Feld die durch Chromosomenbrüche entstandene Fragmente ihrer geringeren Größe wegen schneller zur Anode als die ungeschädigten Chromosomen, wodurch sich bei mikroskopischer Betrachtung das Bild eines Kometen ergibt (siehe Abbildung 9). Als gängige Parameter für das Ausmaß der DNA-Schädigung dienen Länge und/oder Menge der DNA-Wanderung. Zu bemerken ist außerdem, dass die Effekte im Comet Assay frühe Veränderungen widerspiegeln, die nicht zwingend Mutationen induzieren müssen (Olive and Banath 2006).

Methodisch wurde man folgendermaßen vorgegangen: Jeweils 250 000 NRK- oder HL60-Zellen je 3 ml-well wurden für 2 h mit der entsprechenden Substanz behandelt (bzw. bei der Behandlung der HL60-Zellen mit Insulin über 72 h ein täglicher Mediumwechsel mit Zugabe neuen Insulins durchgeführt). Die Zellen wurden geerntet, die Zellzahl bestimmt und eine Suspension mit einer Zelldichte von 1 Mio. Zellen/ml hergestellt, die auf Eis gelagert wurde. Es erfolgte eine Erwärmung der 0,5 µl-Reaktionsgefäße auf 37°C mit Hilfe der Heizplatte, ebenso wurde die 0,5 %ige Agaroselösung im Wasserbad temperiert. Von letzterer wurden 180 µl Agarose in die vorgewärmten Reaktionsgefäße pipettiert. Nach dem Vortexen der 10 ml-Röhrchen wurden 20 µl der Zellsuspension zur Agarose gegeben und die Zellen darin resuspendiert. Danach wurden je 45 µl aus einem Reaktionsgefäß auf zwei der beschichteten Objektträger aufgetragen und mit einem Deckgläschen abgedeckt. Mit den anderen Zellsuspensionen wurde ebenso verfahren, so dass für jeden Ansatz zwei Objektträger vorhanden waren. Die Deckgläser wurden vorsichtig von der erstarrten LMP-Agarose abgezogen und die Slides Rücken an Rücken in der vorgekühlten Küvette mit der Lyselösung für mindestens eine Stunde bei 4°C lichtgeschützt gelagert. Nach der Inkubation wurden die Objektträger mit destilliertem Wasser abgespült und in die auf Eis stehende Elektrophoresekammer gelegt. Der vorgekühlte Elektrophoresepuffer wurde eingefüllt und die Slides für 20 Minuten damit bedeckt. Im nächsten Schritt wurde für weitere 20 Minuten eine Spannung von 25 V und Stromstärke von 300 mA angelegt. Die Objektträger mussten abschließend für 5 Minuten in einer Küvette mit Tris-Neutralisationspuffer stehen sowie 5 Minuten in -20°C kaltem Methanol fixiert werden. Die getrockneten Präparate waren mit 20 µl Gel Red-Gebrauchslösung anzufärben, die Auswertung von 100 Zellen je Konzentration (50 pro Slide) erfolgte codiert am Fluoreszenzmikroskop unter 200-facher Vergrößerung mit

Hilfe eines Bildanalyseprogramms (Komet 5, BFI Optilas, Deutschland). Der Prozentsatz der DNA im Kometenschweif (tail-DNA in %) wurde zur quantitativen Messung der Schädigung herangezogen.

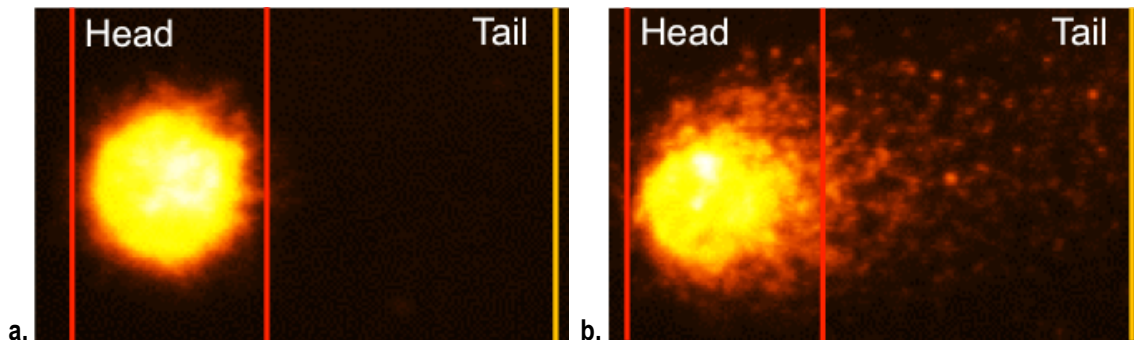


Abbildung 9: Comet Assay mit a. nicht bzw. wenig geschädigter Zelle, b. deutlicher Schweifbildung aus geschädigter DNA; photographiert am Nikon Eclipse-Mikroskop der AG Stopper.

3.2.2 Vitalitätstest

Der Zellvitalitätstest erfasst die Anzahl lebender sowie toter Zellen im Allgemeinen oder nach Behandlung mit einer Testsubstanz. Dazu wurden die Zellen dem Zelltyp entsprechend geerntet und auf Eis gelagert. Von der entsprechenden Probe wurden 35 µl gevortext und mit 15 µl FDA-Färbelösung versetzt. Von dieser Suspension wiederum wurden je 20 µl auf einen Objektträger aufgetragen und mit einem Deckglas abgedeckt. Unmittelbar im Anschluss erfolgt die Auswertung von je 200 Zellen am Fluoreszenzmikroskop.

Die Methode beruht dabei auf der Aufnahme des farblosen Fluoresceindiacetats in die Zellen. Sind diese vital, spalten aktive Esterasen die Substanz zum unter dem Fluoreszenzmikroskop grün leuchtenden Fluorescein, wohingegen tote Zellen sich nicht anfärben und rot erscheinen (Jones and Senft 1985).

3.3 Statistisches Vorgehen

Mittelwerte und Standardabweichungen der Zellkulturexperimente wurden aus jeweils mindestens 3 unabhängigen Versuchen in Microsoft Excel berechnet und die Ergebnisse mit Hilfe der Statistiksoftware IBM SPSS Statistics auf ihre Signifikanz geprüft. Zur Anwendung kamen dabei der Kruskal-Wallis-Test sowie der Mann-Whitney-U-Test für nicht normalverteilte Variablen. Als Signifikanzniveau wurde ein p-Wert von $p \leq 0,05$ zugrundegelegt.

Für die Patientenstudie wurde für jede Patientengruppe respektive -subgruppierung zu- erst die Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test untersucht. Im Fall normalverteilter Gruppen und identischer Patienten kam daraufhin der T-Test für gepaarte Stichproben zur Prüfung der Signifikanz zur Anwendung, bei nicht-normalverteilten Gruppen wurde der Wilcoxon-Test genutzt.

Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den Patienten der Studie wurden als voneinander unabhängige Variablen bei Normalverteilung mit dem T-Test (für unabhängige Stichproben) geprüft; lag diese nicht vor, wurde Gebrauch vom Mann-Whitney-U-Test gemacht. Als Signifikanzniveau wurde auch hier ein p-Wert von $p \leq 0,05$ herangezogen. Die untenstehende Abbildung 10 veranschaulicht die angewandten Signifikanztests in Form eines Baumdiagramms.

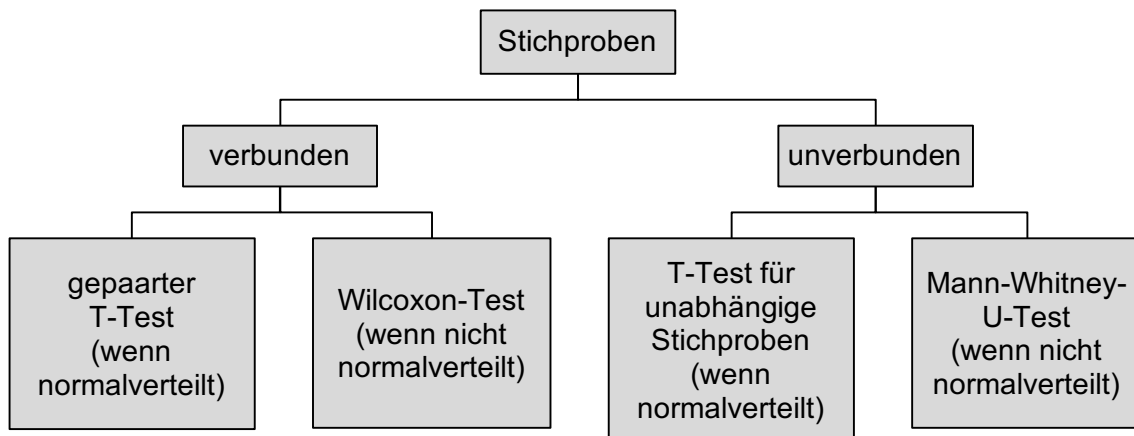


Abbildung 10: Angewandte Signifikanztests innerhalb der Patientenstudie.

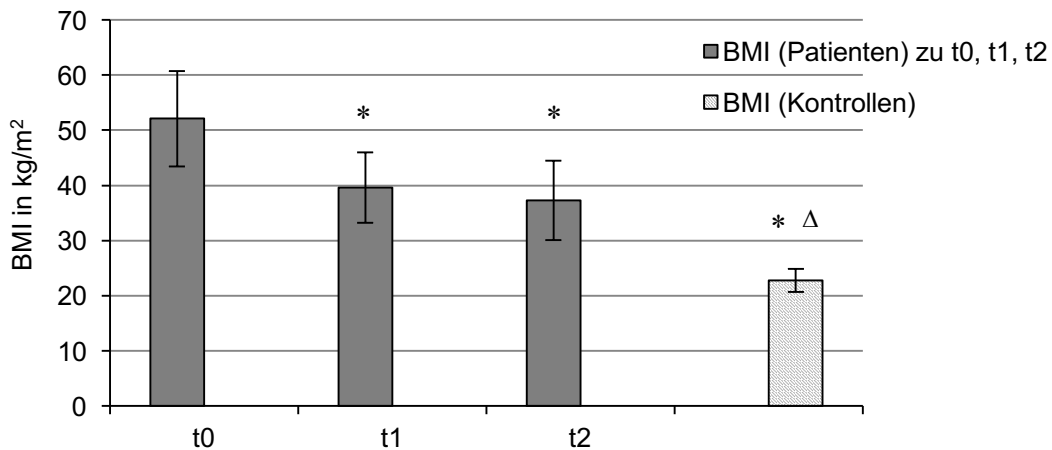
4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Patientenstudie

4.1.1 Mikrokernfrequenz in peripheren Lymphozyten im Studienverlauf

4.1.1.1 BMI-Reduktion der Patientengruppe, BMI der Kontrollgruppe und Subgruppen

Vorrangiges Ziel der bariatrischen Operationen, die an den Studienteilnehmern durchgeführt wurden, ist die Reduktion des Körpergewichts bzw. des BMI. In der Patientengruppe lag dieses präoperativ bei $149,26 \pm 32,63$ kg und nahm im Verlauf eines Jahres um ca. 30 % auf $102,06 \pm 20,51$ kg ab, entsprechend einer signifikanten BMI-Reduktion von $52,09 \pm 8,63$ kg/m² auf $37,29 \pm 7,21$ kg/m². Der BMI der Patienten war zum Zeitpunkt t_0 außerdem signifikant höher als der BMI der normalgewichtigen Kontrollpersonen von $22,75 \pm 2,06$ kg/m² und blieb es auch nach einem Jahr.



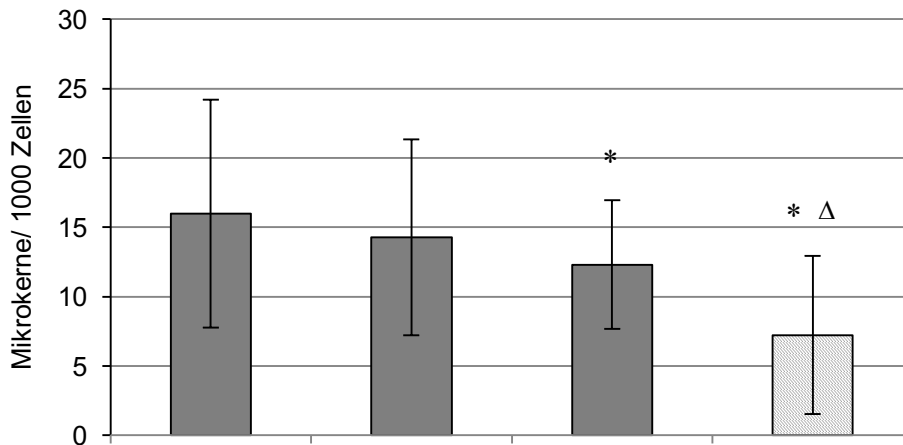
	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t ₀	t ₁	t ₂	t ₀	t ₁	t ₂
KG in kg	50	37	36	149,26 ± 32,63	112,90 ± 22,47	102,06 ± 20,51
BMI gesamt in kg/m ²	50	37	36	52,09 ± 8,63	39,64 ± 6,38	37,29 ± 7,21

Abbildung 11: BMI-Reduktion in der Patientengruppe im Zeitverlauf, * $p \leq 0,05$ vs. t_0 (gepaarter T-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test) und BMI der Kontrollgruppe von $22,75 \pm 2,06$ kg/m² (n=17), $\Delta p \leq 0,05$ vs. t_2 (Mann-Whitney-U-Test).

4.1.1.2 Mikrokernfrequenz peripherer Lymphozyten der Patienten- und Kontrollgruppe

Von Interesse war nun die Mikrokernfrequenz in Patienten- und Kontrollgruppe als Indikator für mögliche DNA-Schädigungen in den Lymphozyten der an Adipositas und ggf. multiplen Nebenerkrankungen leidenden Personen. Die 44 präoperativen Lymphozytenproben wiesen mit $15,99 \pm 8,23$ MK/1000 Zellen durchschnittlich eine mehr als doppelt

so hohe Frequenz wie die Kontrollen mit $7,21 \pm 5,70$ MK/1000 Zellen auf. Ein Jahr postoperativ stellt sich die Mikrokernzahl der Patienten zwar signifikant reduziert dar, unterscheidet sich aber – analog zum BMI-Vergleich – ebenfalls noch signifikant von der Kontrollgruppe.



	t_0	t_1	t_2	Kontrollen
Anzahl n	44	32	31	18
MW ± STAB	$15,99 \pm 8,23$	$14,33 \pm 7,09$	$12,32 \pm 4,65$	$7,21 \pm 5,70$

Abbildung 12: Mikrokernfrequenz in peripheren Lymphozyten der adipösen Patientengruppe zu den drei Untersuchungszeitpunkten sowie die der Kontrollgruppe, * $p \leq 0,05$ vs. t_0 (T-Test für Patienten, Mann-Whitney-U-Test für Kontrollen); $\Delta p \leq 0,05$ vs t_2 (Mann-Whitney-U-Test).

4.1.1.3 Apoptosen, Mitosen und CBPI

Mit dem Mikrokerntest wurden Apoptosen, Mitosen und der Proliferationsindex der Lymphozyten (Cytokinesis Block Proliferation Index), definiert als:

$$CBPI = \frac{1 \times \text{Einkernige} + 2 \times \text{Doppelkernige} + 3 \times \text{Mehrkernige}}{\text{Summe aus ein-, doppel- und mehrkernigen Zellen}}$$

Die Apoptosen ließen keine nennenswerten Veränderungen erkennen, bei den Mitosen bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Patientengruppe zu t_2 vs. t_0 bzw. knapp nicht mehr signifikanter Unterschied der Kontrollgruppe vs. Patienten zu t_0 .

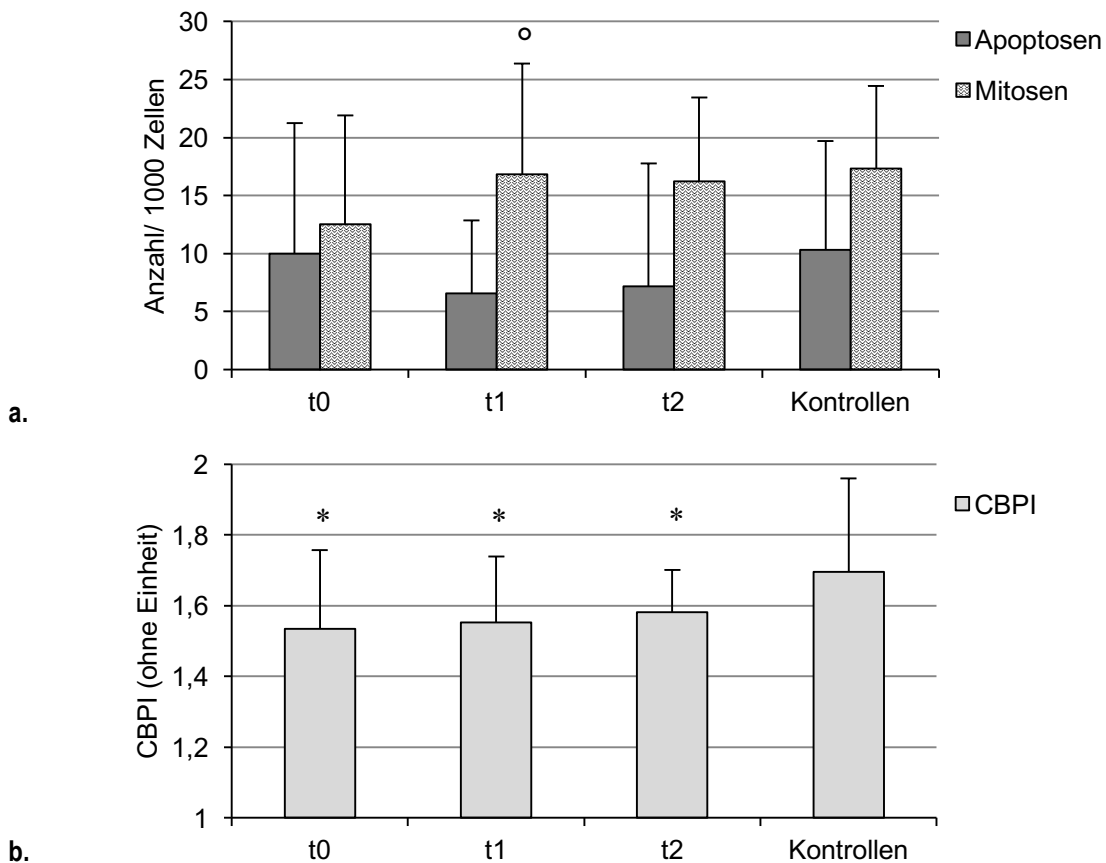
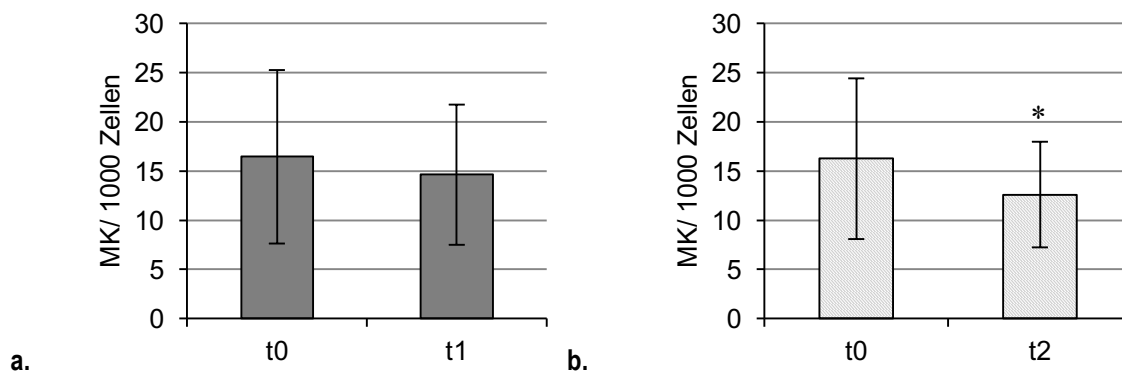


Abbildung 13: a. Mittlere Apoptose- und Mitosezahl, $^{\circ}p \leq 0,05$ vs. Patienten zu t_0 , b. Proliferationsindex (CBPI) der Patienten und der Kontrollpersonen. $*p \leq 0,05$ vs. Kontrollen (T-Test für unabhängige Stichproben).

4.1.1.4 Mikrokernfrequenz bezogen auf Wertepaare zum Zeitpunkt t_1 bzw. t_2

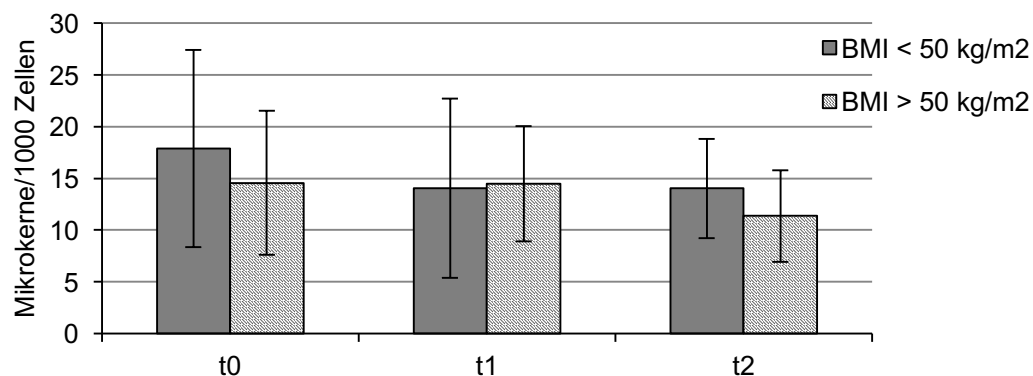
Da nicht von allen Patienten zu allen Zeitpunkten Präparate vorlagen (z. B. weil ein Nachsorgetermin nicht wahrgenommen wurde), zeigt das folgende Diagramm ausschließlich die vorhandenen Wertepaare zwischen präoperativen Proben und t_1 - bzw. t_2 -Proben. Ein signifikanter Unterschied besteht wiederum nur im durchschnittlichen Vergleich der Werte nach einem Jahr zu den Vorwerten der identischen Patientenuntergruppe.



	Anzahl n			Mittelwert \pm STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
Paare zu t_1	29	29	-	16,45 \pm 8,81	14,67 \pm 7,14	-
Paare zu t_2	27	-	27	16,25 \pm 8,18	-	12,58 \pm 4,70

Abbildung 14: Wertepaare identischer Patienten nach 6 (a.) und nach 12 Monaten (b.), * $p \leq 0,05$ vs. t_0 (gepaarter T-Test).

Die somit gleichgerichtete und signifikante Änderung von BMI und Mikrokernfrequenz warf die Frage nach einer eventuellen Korrelation beider Größen auf. Nachfolgendes Diagramm veranschaulicht die Mikrokernfrequenz in Abhängigkeit vom BMI, wofür zwei Untergruppen gebildet wurden: erstens Patienten, die vor ihrer OP einen BMI von $< 50 \text{ kg/m}^2$ oder zweitens $> 50 \text{ kg/m}^2$ besaßen.



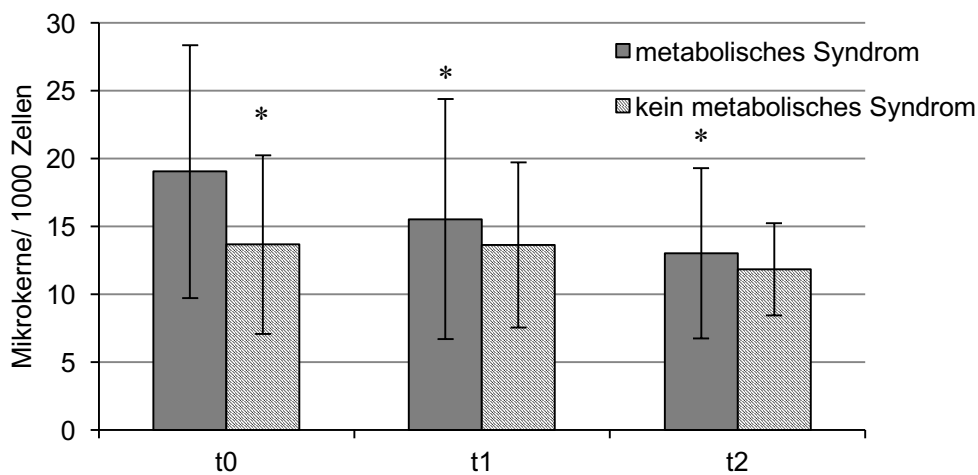
	Anzahl n			Mittelwert \pm STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
BMI $< 50 \text{ kg/m}^2$	20	15	14	17,87 \pm 9,53	14,15 \pm 8,71	14,03 \pm 4,79
BMI $> 50 \text{ kg/m}^2$	30	22	22	14,56 \pm 6,94	14,49 \pm 5,58	11,37 \pm 4,41

Abbildung 15: BMI-Subgruppen für Patienten mit einem BMI $< 50 \text{ kg/m}^2$ bzw. $> 50 \text{ kg/m}^2$ zum Zeitpunkt t_0 .

Die Patiententeilgruppe mit anfangs geringerem Körpergewicht zeigt sowohl zu t_0 als auch zu t_2 eine tendenziell höhere durchschnittliche Mikrokernzahl als die Teilgruppe mit $\text{BMI} > 50 \text{ kg/m}^2$ (Unterschied nicht signifikant).

4.1.1.5 Mikrokernfrequenz bei Patienten mit metabolischem Syndrom

Da sich die Grundgesamtheit der Studienteilnehmer ($N=50$) anteilig etwa zur Hälfte aus vom metabolischen Syndrom Betroffenen ($n=21$) und die dafür zugrundegelegten Kriterien nicht erfüllenden Personen ($n=29$) zusammensetzte, soll die Mikrokernfrequenz dieser beiden Gruppen miteinander verglichen werden:



	Anzahl n			Mittelwert \pm STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
met. Syndrom	19	11	12	$19,05 \pm 9,32$	$15,54 \pm 8,84$	$13,02 \pm 6,26$
kein met. Syndrom	25	21	19	$13,67 \pm 6,56$	$13,69 \pm 6,14$	$11,87 \pm 3,40$

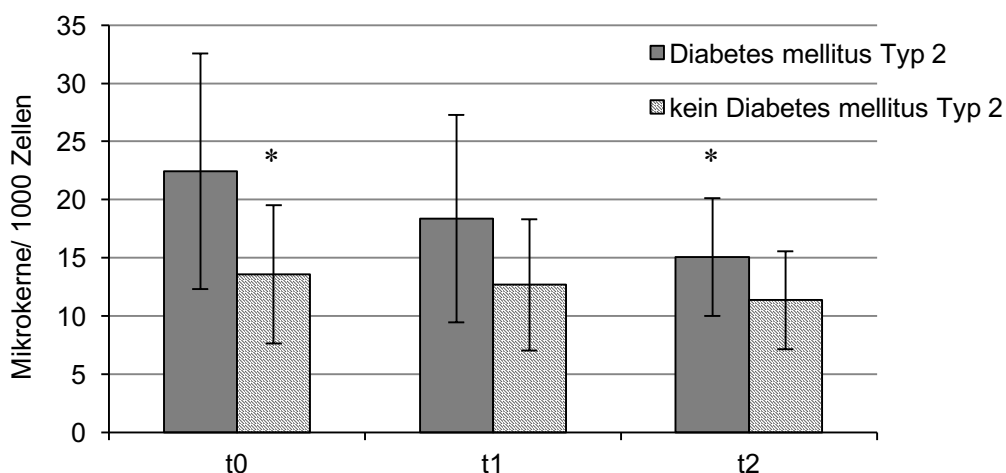
Abbildung 16: Mikrokernhäufigkeit bei Patienten mit metabolischem Syndrom im Vergleich zu nicht daran erkrankten Patienten; $*p \leq 0,05$ vs. Patienten mit metabolischem Syndrom zu t_0 (T-Test für unabhängige bzw. abhängige Stichproben).

Die Mikrokernhäufigkeit bei Patienten mit metabolischem Syndrom ist zu Beginn signifikant höher gegenüber den restlichen Probanden und reduziert sich innerhalb der erstgenannten Gruppe ebenfalls signifikant im Studienverlauf (t_1 vs. t_0 und t_2 vs. t_0).

Dagegen ist nach einem Jahr unter den nicht daran leidenden Patienten der Unterschied zum präoperativen Wert derselben Gruppe nicht signifikant.

4.1.1.6 Mikrokernfrequenz bei Diabetikern und Nicht-Diabetikern

Als eine der wichtigsten Komorbiditäten der Adipositas muss das Auftreten eines Diabetes mellitus Typ 2 als möglicher Einflussfaktor auf die Mikrokernfrequenz berücksichtigt werden. Die Subgruppierung bezogen auf diese Erkrankung zeigt Abbildung 17:



	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
Diabetiker	12	9	8	22,44 ± 10,14	18,37 ± 8,92	15,06 ± 5,07
Nicht-Diabetiker	32	23	23	13,57 ± 5,94	12,75 ± 5,72	11,36 ± 4,20

Abbildung 17: Mikrokernfrequenz in peripheren Lymphozyten an Diabetes erkrankter und diesbezüglich gesunder Studienteilnehmer im Zeitverlauf. Dargestellt sind MW ± SD, * $p \leq 0,05$ vs. Diabetes mellitus-Patienten zu t_0 (T-Test für unabhängige bzw. abhängige Stichproben).

Diabetes mellitus und metabolisches Syndrom treten gehäuft in Kombination auf. Hier litten von 14 Diabetikern 11 zeitgleich am metabolischen Syndrom ($\approx 79\%$) bzw. von 21 Personen mit metabolischem Syndrom waren 11 auch Diabetiker ($\approx 52\%$). Eine Gegenüberstellung der Mikrokernzahlen von an beidem Erkrankten und an beidem Nichterkrankten zeigt, dass die Differenz im Mittel noch größer ist als bei separater Betrachtung nur eines Beobachtungsmerkmals:

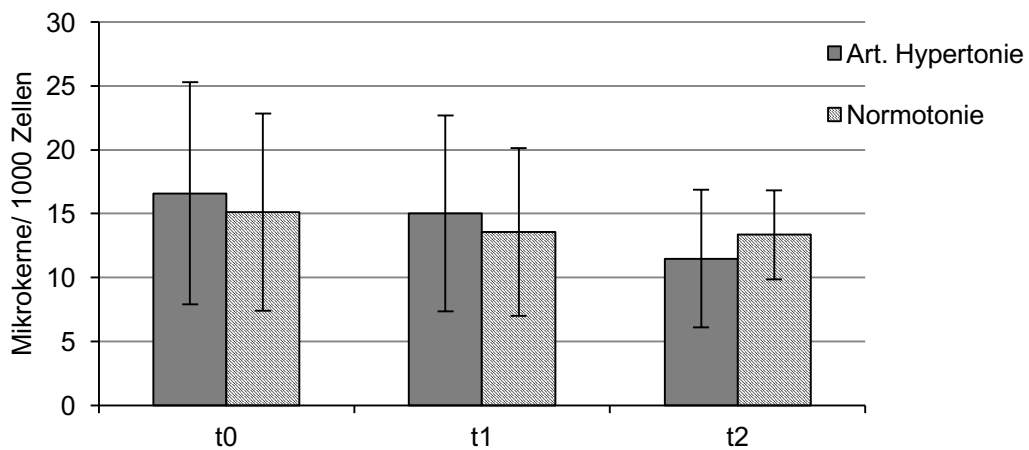
	Anzahl n		Mittelwert ± STAB	
	t_0	t_2	t_0	t_2
Diabetiker mit metabolischem Snydrom	9	5	23,07 ± 9,50	16,90 ± 4,93

Nicht-Diabetiker ohne metabolisches Syndrom	22	16	12,73 ± 4,76	11,84 ± 3,37
---	----	----	--------------	--------------

Tabelle 6: Gegenüberstellung multimorbider Adipöser und bzgl. Diabetes/met. Syndrom gesunder Adipöser. Zu t_0 unterscheiden sich beide Gruppen signifikant mit $p \leq 0,01$, ebenso zu t_2 mit $p \leq 0,05$ (Mann-Whitney-U-Test).

4.1.1.7 Mikrokernfrequenz bei arterieller Hyper- und Normotonie

Ein weiterer Diagnosebestandteil des oben beschriebenen metabolischen Syndroms und die mit 56 % am häufigsten bei den Studienteilnehmern vorliegende Nebenerkrankung ist die arterielle Hypertonie. Der Vergleich zwischen Hyper- und Normotonikern ergab zu keinem Zeitpunkt eine deutlich verschiedene Mikrokernhäufigkeit:



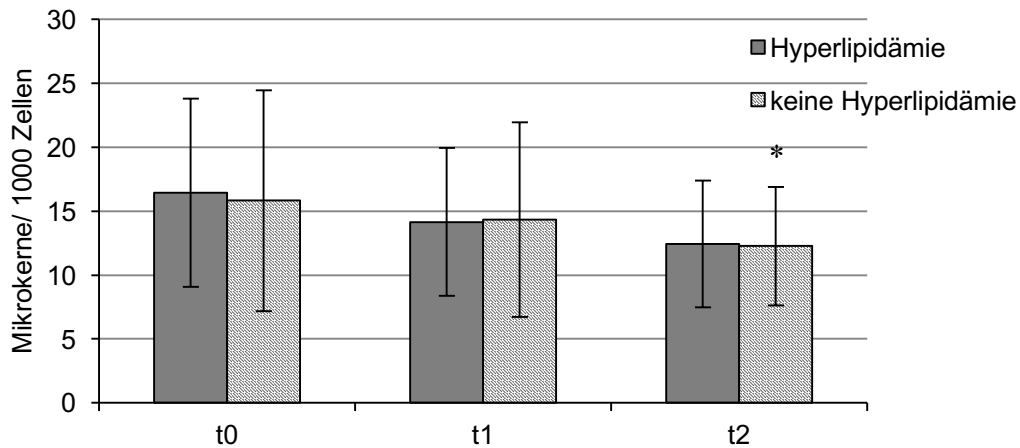
	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
Hypertonie	26	16	17	16,60 ± 8,68	15,02 ± 7,67	11,46 ± 5,38
Normotonie	18	16	14	15,12 ± 7,69	13,63 ± 6,64	13,35 ± 3,48

Abbildung 18: Mikrokernfrequenz bei hyper- und normotonen Probanden im Verlauf. Dargestellt sind MW ± SD.

4.1.1.8 Mikrokernfrequenz bei Hyperlipidämie-Patienten

Analog zu Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie gehört die Hyperlipidämie zu den Faktoren, die das metabolische Syndrom definieren. Das Symptom „Hyperlipidämie“ wird klinisch korrekt in Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie und kombinierte Hyperlipidämie unterteilt; diese drei Formen bilden hier gemeinsam die Subgruppe „Hyperlipidämie“ und werden nicht weiter differenziert.

Zwischen Patienten mit und ohne Fettstoffwechselstörung konnte kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Mikrokernfrequenz festgestellt werden. In der Gruppe ohne Hyperlipidämie war die Reduktion von t_0 nach t_2 im Wilcoxon-Test signifikant.



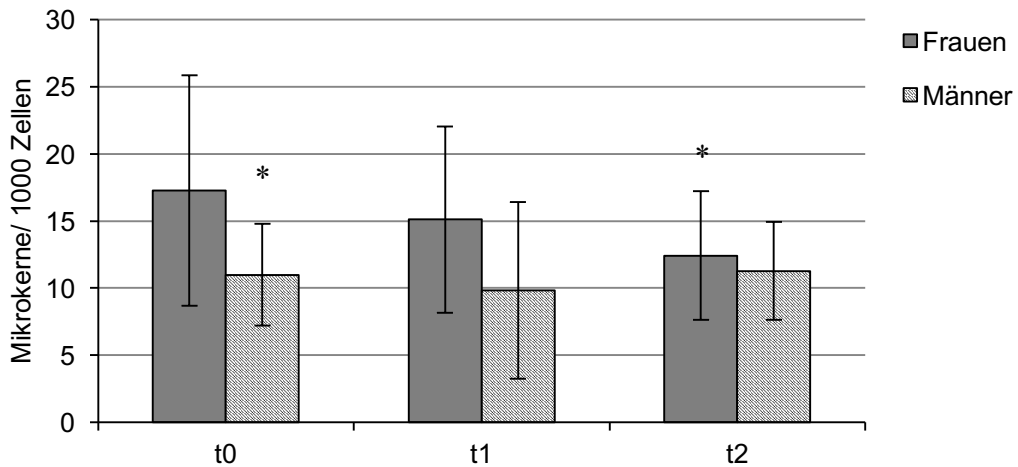
	Anzahl n			Mittelwert \pm STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
Hyperlipidämie	12	9	9	16,44 \pm 7,37	14,30 \pm 5,94	12,45 \pm 4,96
keine Hyperlipidämie	32	23	22	15,83 \pm 8,63	14,34 \pm 7,62	12,26 \pm 4,64

Abbildung 19: Mikrokernfrequenz bei Patienten mit und ohne Fettstoffwechselstörung, dargestellt sind MW \pm SD, * $p \leq 0,05$ bei Patienten ohne Hyperlipidämie t_2 vs. t_0 (Wilcoxon-Test).

4.1.1.9 Mikrokernfrequenz nach Geschlechterzugehörigkeit

Unter den Studienteilnehmern bestand ein Ungleichgewicht zwischen Männern und Frauen mit einem Verhältnis von 1:4, bedingt durch die bei Frauen allgemein höhere Adipositasprävalenz. Die Mikrokernwerte der wenigen männlichen Patienten waren nicht normalverteilt, so dass der Mann-Whitney-U-Test zur Prüfung der Signifikanz zwischen beiden Geschlechtern angewandt wurde.

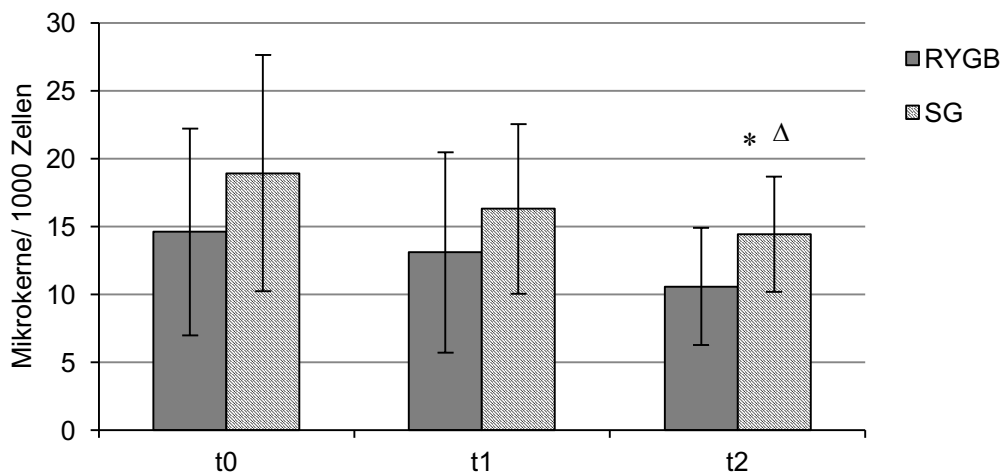
Ein wesentlicher Unterschied ergab sich dabei nur zum Zeitpunkt t_0 ; ferner reduzierte sich die mittlere Mikrokernhäufigkeit im postoperativen Verlauf nur bei den untersuchten Frauen signifikant zum Zeitpunkt t_2 vs. t_0 um circa 30 %.



	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
Frauen	35	27	28	17,28 ± 8,60	15,16 ± 6,98	12,43 ± 4,79
Männer	9	5	3	11,00 ± 3,80	9,83 ± 6,58	11,28 ± 3,63

Abbildung 20: Mikrokernfrequenz bei Frauen und Männern; MW ± SD, *p ≤ 0,05 vs. Frauen zu t_0 (Mann-Whitney-U-Test bzw. gepaarter T-Test).

4.1.1.10 Mikrokernfrequenz bezogen auf die angewandte Operationsart



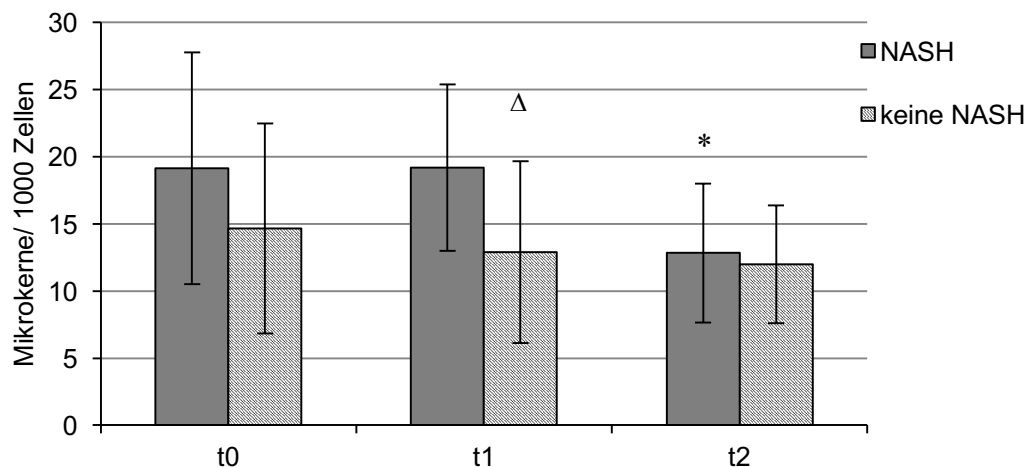
	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
RYGB	27	20	17	14,59 ± 7,60	13,08 ± 7,40	10,57 ± 4,33
SG	16	12	14	18,91 ± 8,71	16,41 ± 6,31	14,43 ± 4,25

Abbildung 21: Mikrokernfrequenz in Abhängigkeit der angewandten Operationsart (RYGB vs. SG); *p ≤ 0,05 für SG t_2 vs. t_0 und $\Delta p \leq 0,05$ für SG vs. RYGB zu t_2 (gepaarter T-Test).

In der durchgeführten Studie wurden nur zwei verschiedene bariatrische Operationsmöglichkeiten ausgeschöpft, i. e. der Roux-en-Y-Magenbypass oder die Sleeve-Gastrektomie. Bezogen auf die Mikrokernfrequenz zeigte sich ein insgesamt höheres mittleres Niveau bei den Patienten, bei denen ein Schlauchmagen geformt wurde, signifikant verschieden waren beide Gruppe ein Jahr postoperativ. Relativ reduzierte sich die durchschnittliche Mikrokernhäufigkeit um ca. 28 % bei RYGB- und um ca. 24 % bei SG-Operation.

4.1.1.11 Mikrokernfrequenz bei Steatohepatitis

Eine Hepatitis auf dem Boden einer nicht-alkoholischen Leberverfettung trat bei etwa einem Drittel der Patienten auf. Das nachfolgende Diagramm zeigt die Mikrokernfrequenz der daran erkrankten und nicht erkrankten Subgruppe.



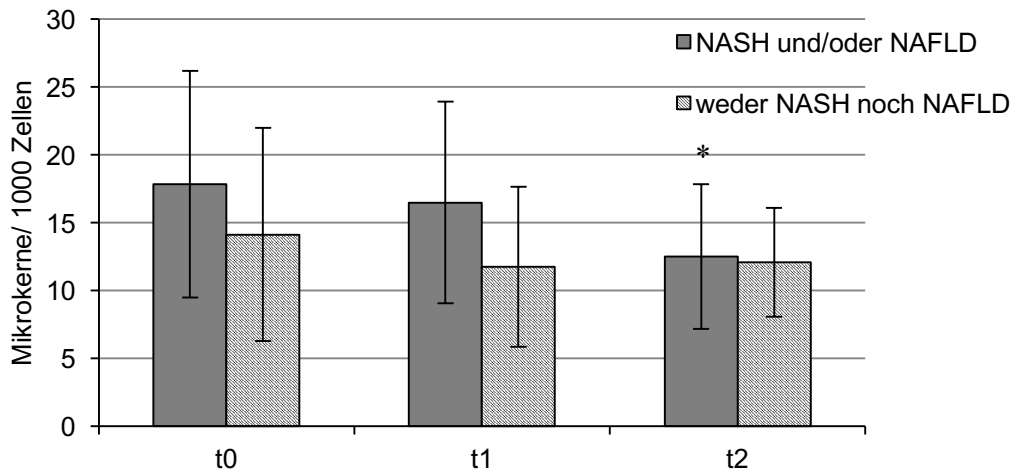
	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t ₀	t ₁	t ₂	t ₀	t ₁	t ₂
NASH	13	7	12	19,14 ± 8,65	19,19 ± 6,20	12,83 ± 5,18
keine NASH	31	25	19	14,67 ± 7,81	12,97 ± 6,82	11,99 ± 4,40

Abbildung 22: Mikrokernfrequenz bei Patienten mit und ohne Steatohepatitis; *p ≤ 0,05 vs. NASH-Patienten zu t₀ (gepaarter T-Test) und Δp ≤ 0,05 vs. Erkrankte zu t₁ (Mann-Whitney-U-Test).

4.1.1.12 Mikrokernfrequenz bei Steatohepatitis und simultaner Fettlebererkrankung

Fasst man solche Patienten zusammen, die an einer Fettlebererkrankung, einer reinen Steatohepatitis oder einer Steatohepatitis infolge der bestehenden Fettlebererkrankung

leiden, errechnet sich eine signifikante Reduktion des Mikrokernauftritts ebenfalls nur für erkrankte Personen und erst 12 Monate postoperativ:



	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
NASH und/oder NAFLD	22	17	16	17,85 ± 8,35	16,50 ± 7,43	12,52 ± 5,32
weder NASH noch NAFLD	22	15	15	14,13 ± 7,85	11,86 ± 6,00	12,10 ± 4,00

Abbildung 23: Mikrokern/1000 Zellen bei NASH und/oder NAFLD-Patienten im Vergleich zu lebergesunden Studienteilnehmern; * $p \leq 0,05$ vs. NASH und/oder NAFLD-Patienten zu t_0 (gepaarter T-Test).

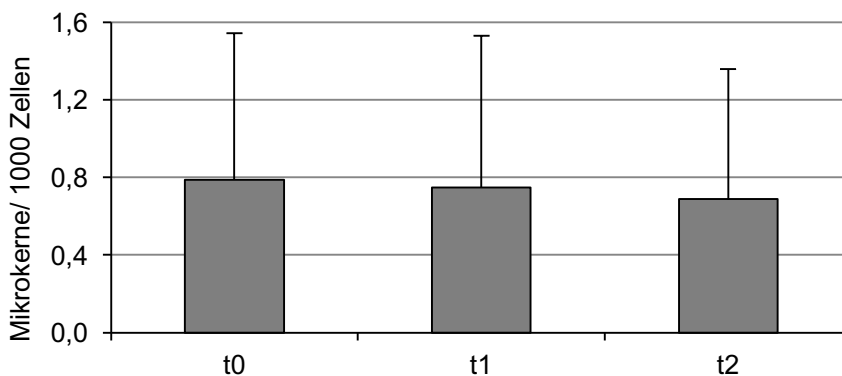
4.1.1.13 Mikrokernfrequenz bei depressiver Erkrankung und bei Hyperurikämie

	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
depressive Erkrankung	10	5	7	17,29 ± 8,27	11,49 ± 5,95	14,27 ± 7,12
keine depressive Erkrankung	34	27	24	15,61 ± 8,30	14,85 ± 7,26	11,75 ± 3,67
Hyperurikämie	10	8	7	16,15 ± 9,17	14,71 ± 8,45	12,22 ± 4,74
keine Hyperurikämie	34	24	24	15,95 ± 8,08	14,20 ± 6,78	12,34 ± 4,73

Tabelle 7: Mikrokern/1000 Zellen bei Adipösen mit depressiver Erkrankung und solchen mit Hyperurikämie/Gicht.

4.1.2 Mikrokernfrequenz in Mundschleimhautzellen im Studienverlauf

Von allen Probanden wurden Mundschleimhautzellen mittels Wattestäbchen gewonnen und wie oben beschrieben für die Auswertung am Fluoreszenzmikroskop aufbereitet. Die Frequenz von Mikrokernen in den sich häufig teilenden Mucosazellen ist generell deutlich niedriger als diejenige in peripheren Lymphozyten, so dass bedingt durch die begrenzte Probenanzahl keine signifikante Reduktion detektiert werden konnte. Eine tendenzielle Abnahme war von $0,78 \pm 0,75$ Mikrokernen/1000 Zellen zu t_0 auf $0,70 \pm 0,69$ Mikrokernen/1000 Zellen zu t_2 zu verzeichnen (ca. 10,3 % entsprechend).



	t_0	t_1	t_2
Anzahl n	48	30	19
MW ± STAB	$0,78 \pm 0,75$	$0,73 \pm 0,82$	$0,70 \pm 0,69$

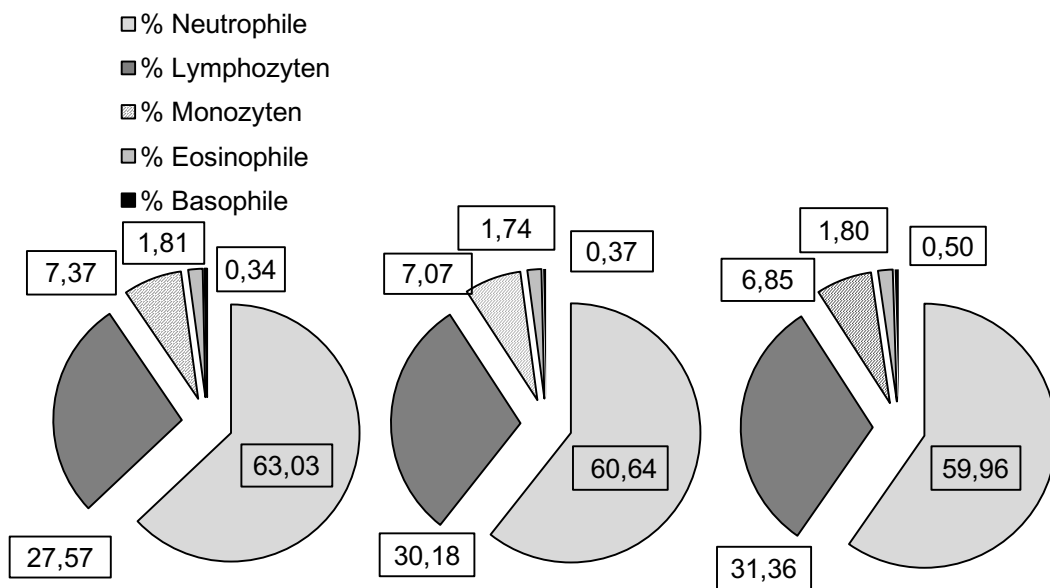
Abbildung 24: Mikrokernfrequenz in Mundschleimhautzellen der Studienteilnehmer zu den drei Untersuchungszeitpunkten.

4.1.3 Änderungen klinischer Parameter im Studienverlauf

4.1.3.1 Quantitative Veränderungen in den Blutzellreihen und des Lymphozytenanteils

Erythrozyten- wie Thrombozytenzahlen der Adipösen schwankten nur unmerklich; dagegen präsentiert sich der mittlere Leukozytenwert nach 6 und nach 12 Monaten im Blutbild signifikant erniedrigt gegenüber dem präoperativen Zustand ($p \leq 0,001$, T-Test). Im Differenzialblutbild, das die Leukozyten nach ihren Untergruppen aufschlüsselt, sind insbesondere eine Zunahme der Lymphozyten (von $\approx 27,6$ % auf $\approx 31,4$ % nach einem Jahr; $p \leq 0,001$ im T-Test) und eine Abnahme des Neutrophilenanteils (von $\approx 63,0$ % auf $\approx 60,0$ %; $p \leq 0,01$ im T-Test) zu bemerken.

Monozyten, Eosino- und Basophile hatten zu allen Zeitpunkten etwa gleichen Anteil an den Leukozyten, die nach Typen aufgeteilt in den nachfolgenden Diagrammen dargestellt sind.



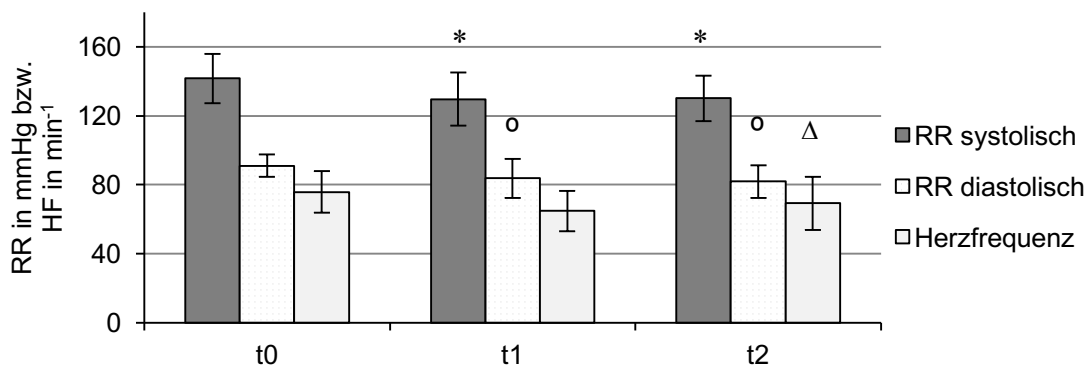
	t ₀	t ₁	t ₂
LEU	8,59 ± 2,03	7,61 ± 1,87	7,81 ± 1,78
ERY	4,91 ± 0,40	4,70 ± 0,36	4,67 ± 0,34
THR	272,15 ± 64,14	271,30 ± 55,82	267,81 ± 60,34

Abbildung 25: Tabelle mit Leukozyten (LEU, n*1000/ μ l), Erythrozyten (ERY, n*10⁶/ μ l), Thrombozyten (THR, n*1000/ μ l) im Zeitverlauf als MW ± STAB. Die Kreisdiagramme zeigen die mittlere Verteilung der Leukozyten auf ihre Untergruppen (in %) entsprechend dem Differenzialblutbild zu den drei Untersuchungszeitpunkten.

4.1.3.2 Blutdruck und Herzfrequenz

Vor der Operation und im Rahmen der Nachsorgeuntersuchungen wurden Blutdruck und Herzfrequenz der Patienten gemessen. Sowohl systolischer als auch diastolischer Blutdruck nahmen von 142 ± 14 mmHg bzw. 91 ± 7 mmHg präoperativ (Zeitpunkt t₀) auf 130 ± 13 mmHg und 82 ± 10 mmHg nach einem Jahr (Zeitpunkt t₂) ab, wobei sich die Reduktion beider Parameter bereits nach 6 Monaten als signifikant erweist.

Die gleiche Tendenz zeigte sich in Bezug auf die Herzfrequenz mit einer Abnahme von 76 ± 12 min⁻¹ präoperativ im Vergleich zu 69 ± 16 min⁻¹ nach 12 Monaten.

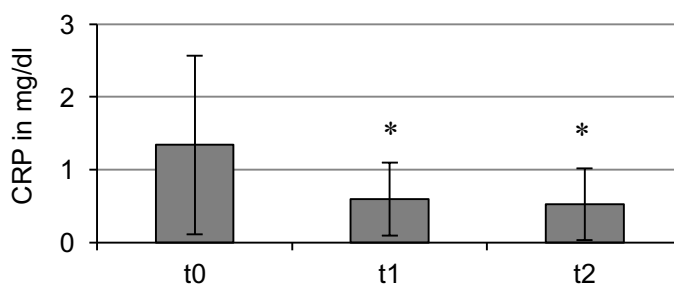


	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t ₀	t ₁	t ₂	t ₀	t ₁	t ₂
RR _{sys}	13	29	29	141,54 ± 14,23	129,52 ± 15,38	130,03 ± 13,30
RR _{dias}	13	29	29	91,00 ± 6,54	83,76 ± 11,06	81,83 ± 9,50
HF	10	28	28	75,80 ± 12,16	64,86 ± 11,67	69,21 ± 15,53

Abbildung 26: Durchschnittliche systolische und diastolische Blutdruckwerte (in mmHg) sowie Herzfrequenz (in min⁻¹) im Studienverlauf; *p ≤ 0,05 vs. RR_{sys} zu t₀, °p ≤ 0,05 vs. RR_{dias} zu t₀, Δp ≤ 0,05 vs. HF zu t₀ (jeweils gepaarter T-Test).

4.1.3.3 CRP-Wert als unspezifischer Entzündungsmarker

Das C-reaktive Protein, welches beim Durchschnitt der Patienten mit 1,26 ± 1,17 mg/dl präoperativ deutlich über dem Referenzbereich von bis zu 0,5 mg/dl lag, ging bezogen auf die gesamte Studiengruppe bereits im ersten halben Jahr postoperativ sehr signifikant bis auf 0,60 ± 0,50 mg/dl zurück:

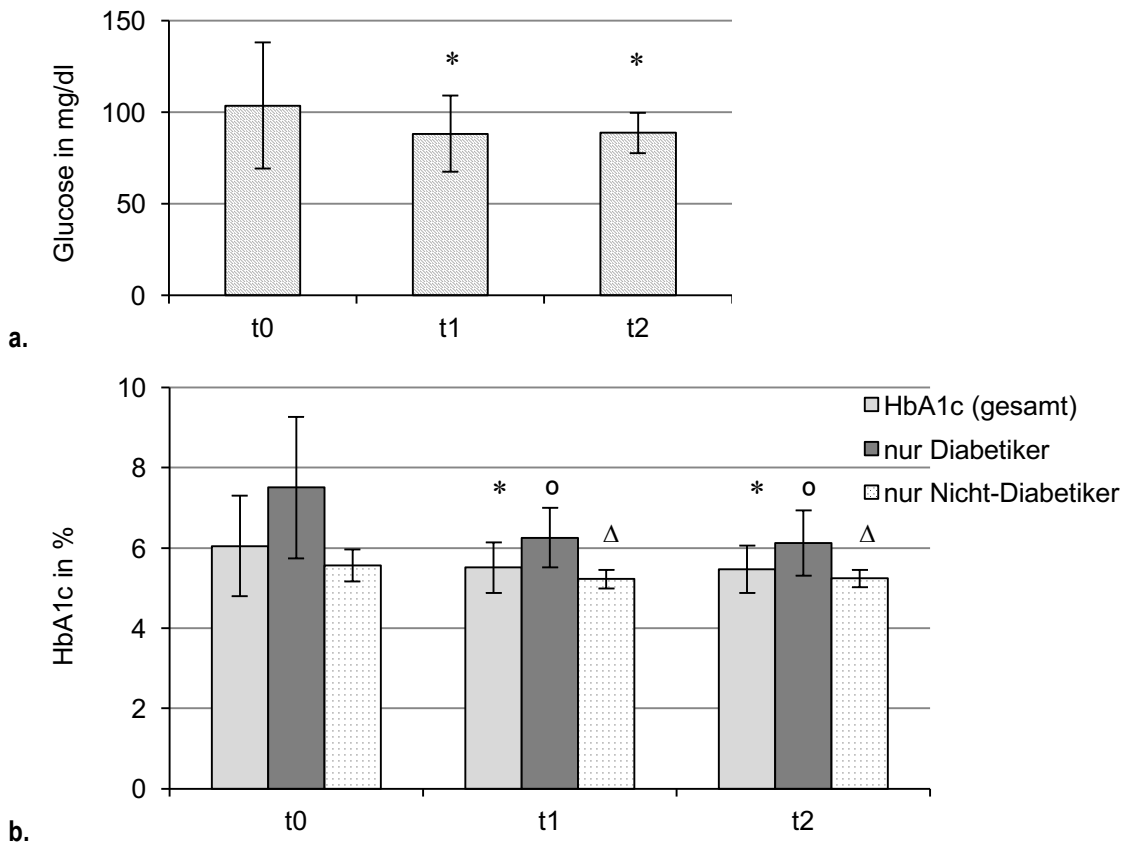


	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t ₀	t ₁	t ₂	t ₀	t ₁	t ₂
CRP in mg/dl	47	38	31	1,26 ± 1,17	0,60 ± 0,50	0,52 ± 0,50

Abbildung 27: CRP-Wert als MW ± STAB in mg/dl im Zeitverlauf der Studie, *p ≤ 0,01 (Wilcoxon-Test).

Von 47 Studienteilnehmern, bei denen der Wert präoperativ erhoben wurde, hatten nur 7 einen CRP im Referenzbereich. Ihre Mikrokernzahl unterschied sich nur unwesentlich von derjenigen der Patienten mit erhöhtem Entzündungsmarker – CRP-Werte und Mikrokernfrequenz zeigten keine Korrelation.

4.1.3.4 Nüchternglucose und HbA1c



	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
Glucose	38	40	33	103,66 ± 34,30	88,25 ± 20,84	88,73 ± 11,08
HbA1c	48	40	34	6,05 ± 1,25	5,51 ± 0,63	5,47 ± 0,59
HbA1c (D)	13	11	10	7,46 ± 1,70	6,25 ± 0,74	6,05 ± 0,80
HbA1c (ND)	35	29	24	5,53 ± 0,33	5,23 ± 0,23	5,23 ± 0,22

Abbildung 28: a. Nüchternglucose, * $p \leq 0,01$ vs. t_0 (Wilcoxon-Test), b. HbA1c in %, * $p \leq 0,01$ vs. HbA1c gesamt zu t_0 (Wilcoxon-Test), $^o p \leq 0,05$ vs. Diabetiker zu t_0 (gepaarter T-Test), $\Delta p \leq 0,01$ vs. Nicht-Diabetiker zu t_0 (gepaarter T-Test). Zu allen drei Zeitpunkten unterscheiden sich die mittleren HbA1c-Werte für Diabetiker (D) und Nicht-Diabetiker (ND) hochsignifikant ($p \leq 0,001$ im T-Test für unabhängige Stichproben).

Die Diagramme geben bildlich die Veränderungen der Nüchtern-glucose- sowie HbA1c-Spiegel der Patienten wieder. Da v. a. der HbA1c als Langzeitwert bei Diabetikern von Bedeutung ist, wurde diesbezüglich subgruppiert.

Es soll an dieser Stelle außerdem festgehalten werden, dass von 14 Diabetikern unter den 50 Adipösen 5 mit einer (intensivierten) Insulintherapie, 3 mit Metformin und 6 ausschließlich diätetisch behandelt wurden. Nach einem Jahr befand sich die Erkrankung laut Dokumentation von ärztlicher Seite in 8 Fällen in der Remission, meist mit sinkendem oder bereits in den Normbereich gesunkenen HbA1c. Die Medikation blieb nichtsdestotrotz zunächst unverändert, abgesehen von 2 Fällen, in denen Metformin innerhalb von 12 Monaten abgesetzt werden konnte und 1 Fall, in dem Metformin – aufgrund übermäßigen Süßigkeitenkonsums und gestiegenen HbA1c – wieder angesetzt werden musste.

4.1.3.5 Leberwerte

Aufgrund der vielfachen Komorbiditäten der Patienten, häufig die Leber betreffend, wurden Veränderungen der im Blutbild erfassten Leberwerte, nämlich der Transaminasen GOT und GPT zuzüglich der γ GT, im Zeitverlauf analysiert.

Bei allen drei Parametern konnte eine sehr signifikante Reduktion ($p \leq 0,01$ im Wilcoxon-Test) bereits nach 6 Monaten postoperativ festgestellt werden, die in der folgenden Tabelle dargestellt ist:

Zeitpunkt	t_0	t_1	t_2
GOT in U/l (Referenzbereich ≤ 35 U/l)			
Anzahl n	31	39	31
Mittelwert \pm SD	29,03 \pm 11,18	22,39 \pm 5,63	22,60 \pm 5,22
GPT in U/l (Referenzbereich ≤ 35 U/l)			
Anzahl n	44	39	31
Mittelwert \pm SD	34,34 \pm 25,31	21,26 \pm 9,79	22,59 \pm 9,04
γGT in U/l (Referenzbereich ≤ 40 U/l)			
Anzahl n	44	39	31
Mittelwert \pm SD	52,55 \pm 71,78	20,98 \pm 18,14	25,77 \pm 19,35

Tabelle 8: Durchschnittliche Transaminasen- und γ GT-Werte der Patienten zu den drei Untersuchungszeitpunkten.

4.1.3.6 Lipoproteinwerte

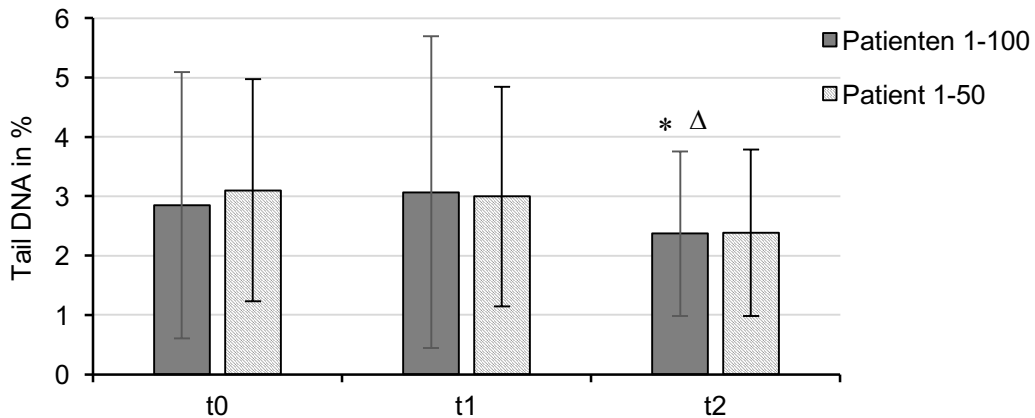
Bei den untersuchten Patienten ließen sich deutliche Veränderungen in Bezug auf die Lipoprotein- und Triglyceridwerte messen. Die Reduktion der LDL-Werte ist dabei nur nach 6 Monaten signifikant, das HDL-Cholesterin steigt im Lauf des ersten postoperativen Jahres stetig. Die durchschnittliche Abnahme der Triglyceride präsentiert sich bereits nach einem halben Jahr als signifikant.

Zeitpunkt	t_0	t_1	t_2
Anzahl n	39	39	31
Gesamtcholesterin in mg/dl (Referenzbereich 130–220 mg/dl)			
Mittelwert \pm SD	190,03 \pm 28,78	175,10 \pm 28,13 *	180,26 \pm 34,66
HDL-Cholesterin in mg/dl (Referenzbereich \geq 35 mg/dl)			
Mittelwert \pm SD	48,95 \pm 10,71	51,38 \pm 9,96	60,45 \pm 12,39 Δ
LDL-Cholesterin in mg/dl (Referenzbereich \leq 150 mg/dl)			
Mittelwert \pm SD	110,77 \pm 24,92	101,56 \pm 21,89 *	98,74 \pm 26,64
Triglyceride in mg/dl (Referenzbereich 74-172 mg/dl)			
Mittelwert \pm SD	151,33 \pm 76,35	111,00 \pm 50,82 *	110,16 \pm 52,73 *

Tabelle 9: Durchschnittliche Änderungen der Lipoproteinwerte der Patienten im Studienverlauf. *p \leq 0,01 jeweils vs. t_0 , $\Delta p \leq$ 0,01 vs. HDL (t_1); T-Test für Cholesterine, Wilcoxon-Test für TG.

4.1.4 Vergleich mit Comet Assay-Ergebnissen der Patientenproben

Zum Zeitpunkt der Erstellung der vorliegenden Arbeit waren von anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe aus dem Blutprobenmaterial derselben Patienten Präparate für den Comet Assay angefertigt und ausgewertet worden. Die Ergebnisse wurden dankenswerterweise für die nachfolgende Abbildung 29 zur Verfügung gestellt. Während die tendenzielle Senkung des prozentualen Anteils geschädigter DNA sich bei Auswertung der ersten Hälfte der Studienteilnehmer noch nicht signifikant präsentiert, ist dies bei größerer Anzahl (nach N=100 Probanden) im Verlauf eines Jahres der Fall.



	Anzahl n			Mittelwert ± STAB		
	t_0	t_1	t_2	t_0	t_1	t_2
Pat. 1-100	100	46	39	2,84 ± 2,24	3,07 ± 2,63	2,37 ± 1,38
Pat. 1-50	50	36	38	3,10 ± 1,87	2,99 ± 1,85	2,39 ± 1,40

Abbildung 29: Tail DNA in % der Gesamtheit aller Studienteilnehmer (N=100) sowie nur deren für die Arbeit verwendeter erster Hälfte (N=50). * $p \leq 0,05$ vs. t_0 und $\Delta p \leq 0,05$ vs. t_1 der Gruppe „Pat. 1-100“ (Wilcoxon-Test).

4.2 Ergebnisse der In vitro-Versuche mit NRK- und HL60-Zellen

4.2.1 Comet Assay

Versuche mit Insulin

Als Zellkulturmodell wurden HL60- und NRK-Zellen mit drei verschiedenen Konzentrationen Insulin behandelt. Das Diagramm zeigt die mit ansteigender Insulindosis zunehmende DNA-Schädigung der Zellen im Comet Assay, die ab einer Konzentration von 32 nM im HL60-Zellkulturmodell signifikant wird.

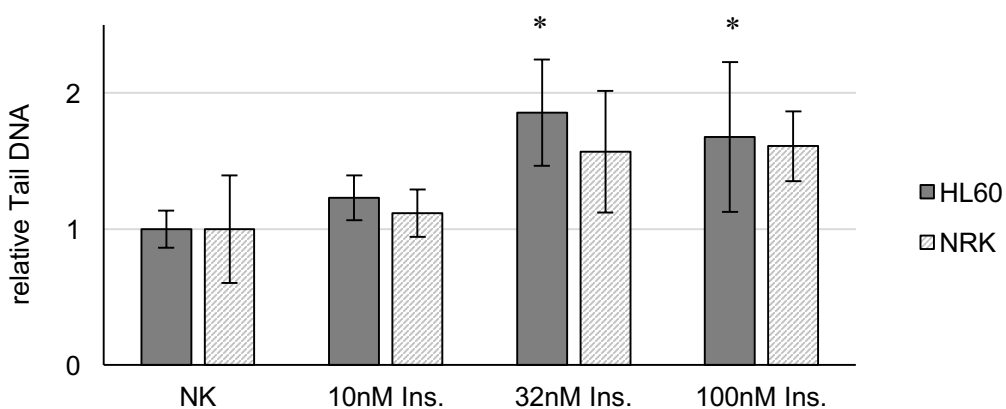


Abbildung 30: DNA-Schädigung im Comet Assay mit HL60- und NRK-Zellen bei unterschiedlich konzentrierter Insulinbehandlung für 2 h, MW ± STAB normiert auf die Negativkontrolle, * $p \leq 0,05$ vs. HL60-Negativkontrolle (Mann-Whitney-U-Test).

Versuche mit Angiotensin II

HL60-Zellen wurden für den Comet Assay außerdem mit Angiotensin II für ebenfalls 2 Stunden inkubiert. Dabei war der mittlere DNA-Schaden, gemessen als Tail-DNA in %, ab einer Konzentration von 400 nM AT-II signifikant erhöht im Vergleich zur Negativkontrolle.

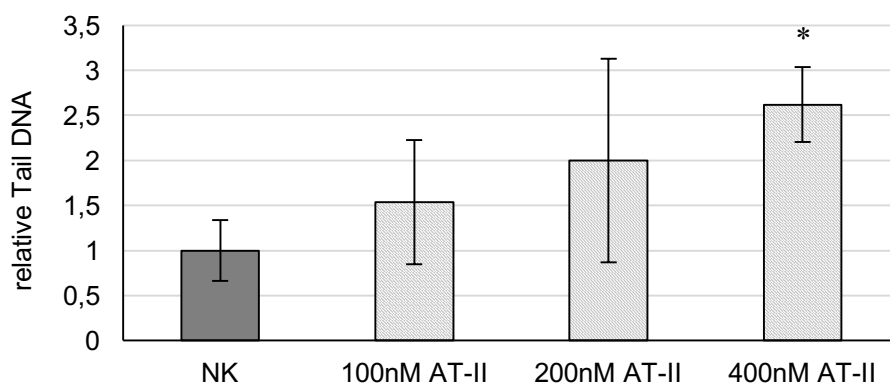


Abbildung 31: %Tail DNA im Comet Assay mit HL60-Zellen bei Inkubation mit ansteigenden Konzentrationen Angiotensin II für 2 h. Dargestellt sind MW ± STAB normiert auf die Negativkontrolle, * $p \leq 0,05$ vs. NK (Mann-Whitney-U-Test).

Versuch mit der Kombination aus Insulin und Angiotensin II

Da physiologisch beide Hormone im menschlichen Körper auftreten, sollte dieser Zustand stark vereinfacht durch eine kombinierte Insulin- und Angiotensin II-Behandlung im Zellkulturmodell imitiert und auf eine fragliche additive Wirkung der Schädigung durch beide Substanzen hin untersucht werden. Im Comet Assay mit HL60-Zellen war dabei unter Verwendung der beiden höchsten zuvor getesteten Einzelkonzentrationen eine signifikante Zunahme der Tail-DNA-Werte relativ zur Negativkontrolle, jedoch keine additive Wirkung, messbar:

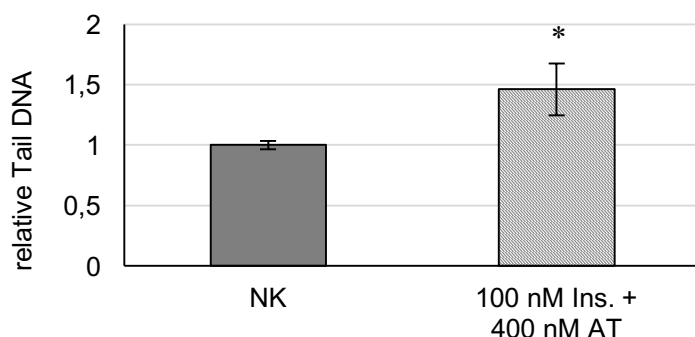


Abbildung 32: Comet Assay mit dem HL60-Zellkulturmodell bei Präinkubation mit Angiotensin II und anschließender Insulinbehandlung, MW ± STAB normiert auf die Negativkontrolle, * $p \leq 0,05$ vs. NK (Mann-Whitney-U-Test).

4.2.2 Vitalitätstest

Der Vitalitätstest mit den NRK- bzw. HL60-Zellen wurde jeweils unmittelbar nach Ablauf der zweistündigen Behandlungszeit mit Insulin oder AT-II für den Comet Assay durchgeführt. Keine der beiden Substanzen führte in den verwendeten Konzentrationen zu verstärkter Apoptose der Zellen.

a.

	% lebende Zellen (MW ± STAB)			
	NK	10 nM Insulin	32 nM Insulin	100 nM Insulin
NRK	94,50 ± 2,50	93,17 ± 3,69	95,00 ± 1,00	93,00 ± 1,80
HL60	93,50 ± 3,50	93,50 ± 1,50	93,83 ± 2,47	93,50 ± 3,04
	NK	100 nM AT-II	200 nM AT-II	400 nM AT-II
HL60	94,50 ± 2,29	93,83 ± 2,02	94,50 ± 2,65	97,00 ± 1,73

Auch nach Präinkubation mit AT-II und nachfolgender Insulinbehandlung zeigte sich kein vermehrtes Absterben der HL60-Zellen:

b.

	% lebende Zellen (MW ± STAB)		
	NK	10 nM Insulin + 100 nM AT-II	100 nM Insulin + 400 nM AT-II
HL60	94,25 ± 1,77	95,75 ± 0,35	92,25 ± 0,35

Tabelle 10: a. Vitalitätstest mit NRK- bzw. HL60-Zellen bei Insulinbehandlung und b. Vitalitätstest mit HL60-Zellen bei kombinierter Insulin-/AT-II-Behandlung; MW ± STAB am Mikroskop bestimmter lebender Zellen aus n=3 Versuchen; ausgewertet wurden 200 Zellen je Behandlungsdosis.

4.2.3 Mikrokerntest

4.2.3.1 Versuche mit Insulin

Die im Comet Assay eingesetzten Insulindosierungen wurden in gleicher Weise für den Mikrokern-Assay als zweiten Test zur Erfassung einer genotoxischen Wirkung verwendet. Dabei war die mittlere Mikrokernfrequenz im HL60-Modell ab der Konzentration von 10 nM Insulin signifikant erhöht im Vergleich zur Negativkontrolle, im NRK-Modell induzierten dagegen erst 100 nM Insulin bei n=3 Versuchen eine deutlich stärkere Mikrokernbildung.

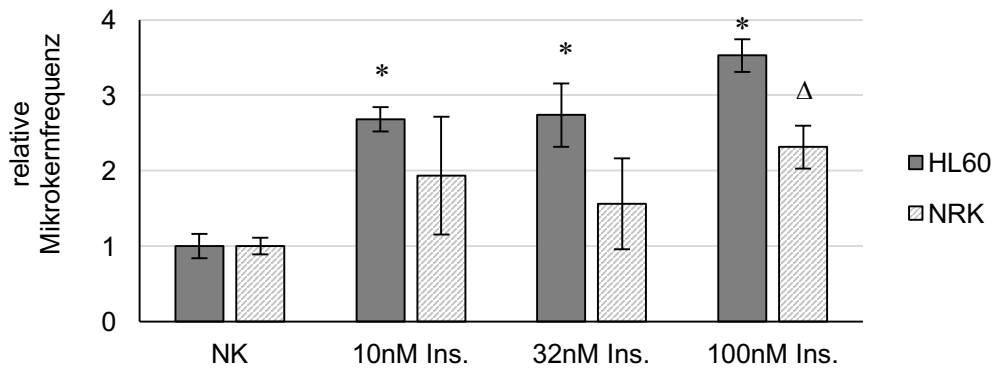


Abbildung 33: Mikrokernelnfrequenz HL60 und NRK mit Insulin (4 h), normiert auf die Negativkontrolle, * $p \leq 0,05$ vs. HL60-Negativkontrolle, $\Delta p \leq 0,05$ vs. NRK-Negativkontrolle (Mann-Whitney-U-Test).

Zellen sind in vivo konstant einem durch Nahrungsaufnahme, Tageszeit oder Aktivität beeinflussten Insulinspiegel ausgesetzt. Zwar ist der Blutspiegel daher schwankend, nichtsdestotrotz kann er gerade bei einer Diabeteserkrankung bzw. Insulinresistenz der Zellen nahezu permanent über der Norm liegen. Es wurden deshalb im Rahmen der in vitro-Versuche auch Insulinbehandlungen über 72 Stunden durchgeführt.

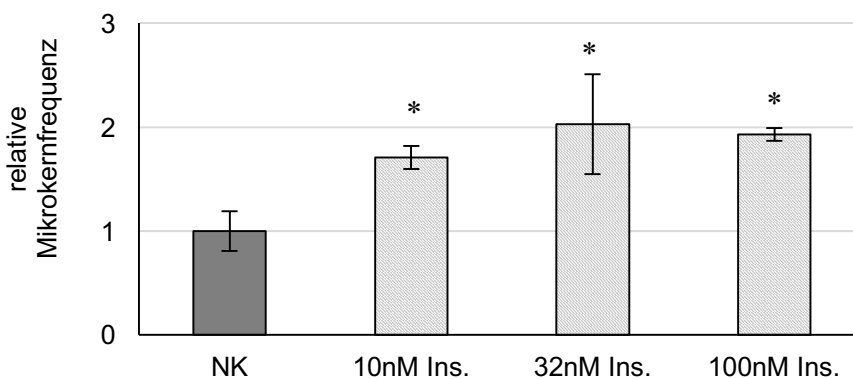


Abbildung 34: Mikrokernelnfrequenz in mit Insulin für 72 h behandelten HL60-Zellen, * $p \leq 0,05$ vs. Negativkontrolle (Mann-Whitney-U-Test).

Ein Wechsel des HL60-Zellmediums fand alle 24 Stunden mit anschließend erneuter Insulingabe statt. Eine messbar stärkere Mikrokernelninduktion war wiederum bereits bei einer Inkubation mit 10 nM Insulin festzustellen, allerdings blieb die Zahl an Mikrokerneln/1000 Zellen besonders bei den beiden höheren Dosierungen von 32 und 100 nM in Relation zur Negativkontrolle insgesamt unter dem Niveau, das bei 4 Stunden Behandlungszeit beobachtbar war.

4.3.2.2 Versuche mit Angiotensin II

Im Gegensatz zu den durchgeführten Comet Assay-Versuchen zeigte sich im Mikrokern-test bereits bei 100 nM AT-II eine gegenüber der Negativkontrolle signifikante genotoxi-sche Wirkung der Substanz:

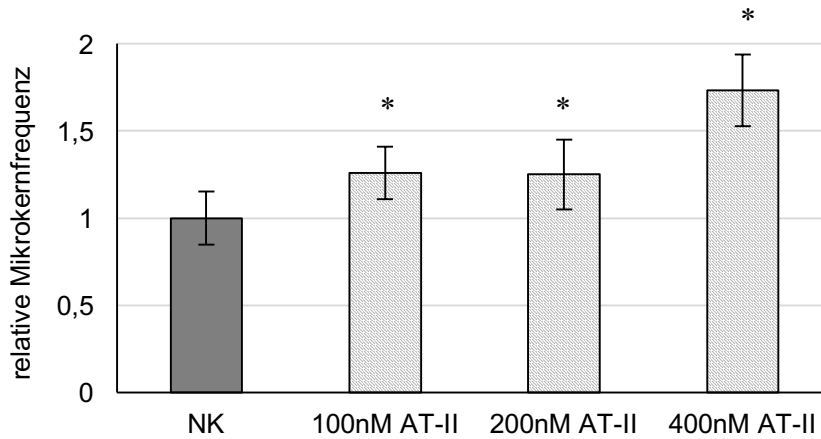
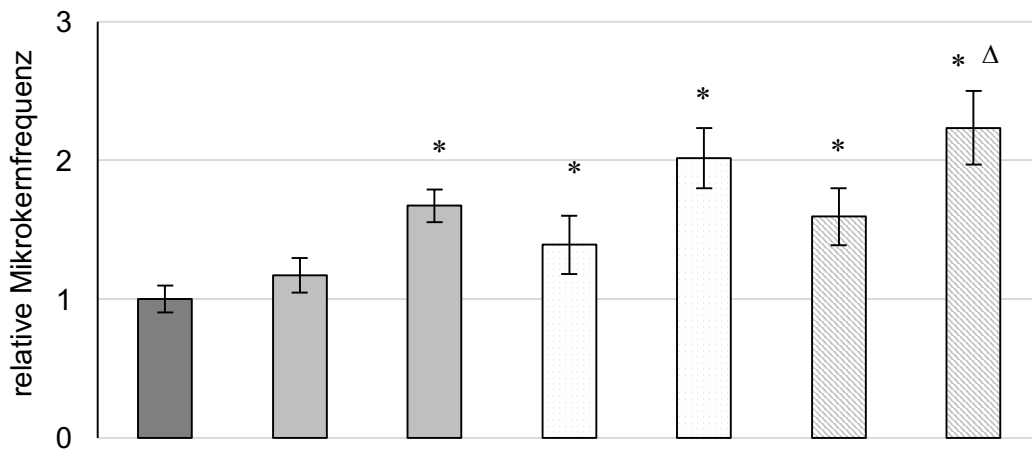


Abbildung 35: Mikrokernfrequenz im HL60-Modell mit Angiotensin II (Inkubationszeit 4 h), * $p \leq 0,05$ vs. Negativkontrolle (Mann-Whitney-U-Test).

4.3.2.3 Versuche mit der Kombination aus Insulin und Angiotensin II



Insulin (nM)	0	10	100	0	0	10	100
AT-II (nM)	0	0	0	100	400	100	400

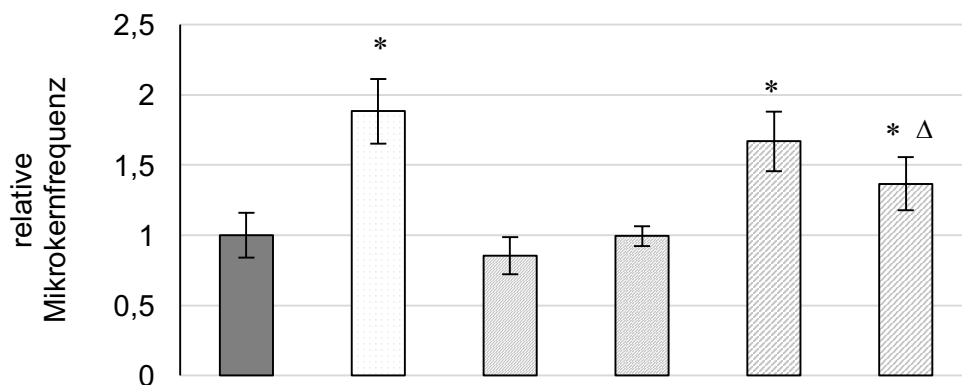
Abbildung 36: Mikrokernfrequenz HL60 mit Insulin und Angiotensin II (4 h Inkubation); * $p \leq 0,05$ vs. Negativkontrolle, $\Delta p \leq 0,05$ vs. 100 nM Insulin, vs. 100 nM AT-II und vs. 10 nM Insulin + 100 nM Insulin (Mann-Whitney-U-Test).

Bei der Kombination von Insulin und Angiotensin II wurden die jeweils niedrigste und höchste einzeln getestete Konzentration beider Substanzen verwendet und sowohl die niedrigeren als auch die höheren Konzentrationen miteinander inkubiert. Mit Ausnahme der niedrigsten Insulindosierung (10 nM) zeigten alle Dosierungen eine signifikante Mi-

kokernzunahme gegenüber der Negativkontrolle. Die Mischung der höheren Konzentrationen (100 nM Insulin + 400 nM AT-II) beider Hormone präsentierte sich signifikant gegenüber der Mischung der niedrigeren, ein additiver Effekt der Hormonkombination gegenüber der Wirkung der Einzelhormone ließ sich aber nicht nachweisen.

4.3.2.4 Versuche mit Antioxidantien

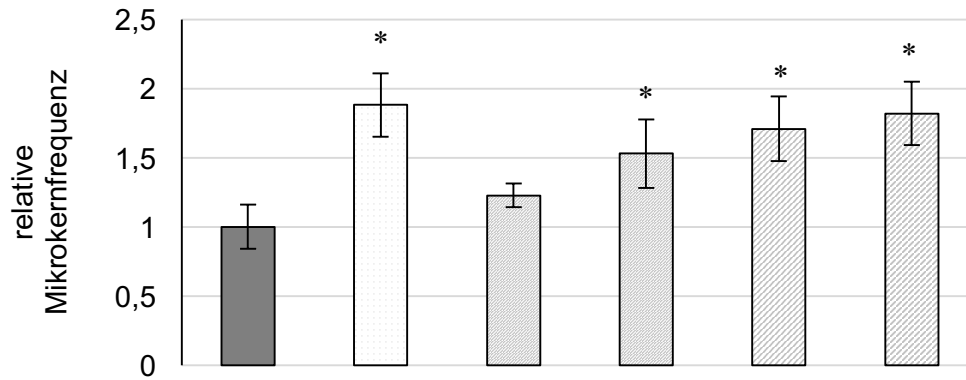
Die beschriebene Mischung aus 100 nM Insulin mit 400 nM AT-II wurde abschließend verwendet, um die Potenz dreier mutmaßlich antioxidativ wirkender Stoffe hinsichtlich einer Minderung der durch Insulin und AT-II verursachten DNA-Schädigung in den HL60-Zellen näher zu bestimmen. Es fand jeweils eine Präinkubation von 15 Minuten mit den Substanzen statt, anschließend wurde mit den Hormonen Insulin und AT-II behandelt. Das untersuchte Tricetinidin zeigte eine signifikant antioxidative Wirkung bei 5 µM Dosierung gegenüber der reinen Hormonkombination, rief aber sowohl bei Inkubation der Zellen mit 1 µM wie auch mit 5 µM keine Reduktion der Mikrokernfrequenz bis auf das Niveau der Negativkontrolle hervor.



Insulin (nM)	0	100	0	0	100	100
AT-II (nM)	0	400	0	0	400	400
Tricetinidin (µM)	0	0	1	5	1	5

Abbildung 37: Mikrokernfrequenz HL60 mit Kombination aus Insulin und Angiotensin II sowie Tricetinidin; * $p \leq 0,05$ vs. Negativkontrolle (Mann-Whitney-U-Test), $\Delta p \leq 0,05$ vs. 100 nM Insulin + 400 nM AT-II.

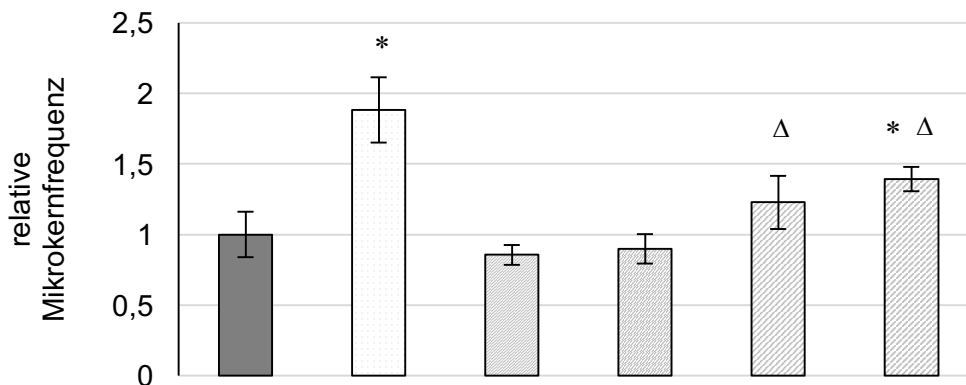
In gleicher Weise wurden die Versuche mit Curcumin durchgeführt. Während die verwendete 1 µM Curcumin-Dosis keine deutlich von der Negativkontrolle verschiedene Mikrokernfrequenz verursachte, war die mittlere Differenz bei Einsatz von 5 µM Curcumin signifikant. Beide Konzentrationen ließen in Verbindung mit der Insulin-AT-II-Mischung keine Abnahme der DNA-Schädigung erkennen.



Insulin (nM)	0	100	0	0	100	100
AT-II (nM)	0	400	0	0	400	400
Curcumin (µM)	0	0	1	5	1	5

Abbildung 38: Mikrokernfrequenz HL60 mit Kombination aus Insulin und Angiotensin II sowie Curcumin, * $p \leq 0,05$ vs. Negativkontrolle (Mann-Whitney-U-Test).

Beim dritten Antioxidans Resveratrol wurde eine signifikante Reduktion der Mikrokernfrequenz im Vergleich mit der Hormonmischung bei beiden Konzentrationen, 1 und 5 µM Resveratrol, beobachtet. Die Verwendung von 1 µM Resveratrol erreichte dabei ein von der Negativkontrolle nicht mehr signifikant verschiedenes Level.



Insulin (nM)	0	100	0	0	100	100
AT-II (nM)	0	400	0	0	400	400
Resveratrol (µM)	0	0	1	5	1	5

Abbildung 39: Mikrokernfrequenz HL60 mit Kombination aus Insulin und Angiotensin II sowie Resveratrol, * $p \leq 0,05$ vs. Negativkontrolle (Mann-Whitney-U-Test), $\Delta p \leq 0,05$ vs. 100 nM Insulin + 400 nM AT-II.

5. Diskussion

5.1 Ergebnisse der Patientenstudie

Die Erfolge der bariatrischen Chirurgie hinsichtlich eines raschen Gewichtsverlustes bei extrem adipösen Patienten sind bereits in einigen Studien beschrieben worden. Zunehmend rückt ferner ihr Potential zur Therapie metabolischer Erkrankungen in den Mittelpunkt (Pareek, Schauer et al. 2018). Dabei ist, wie bereits angesprochen, ein Zusammenhang zwischen Übergewicht und dadurch verursachten oder begünstigten Krankheiten aus dem kardiovaskulären Spektrum sowie Diabetes mellitus Typ 2 gesichert und wird für Krebserkrankungen weiter erforscht (Renehan, Zwahlen et al. 2015).

Wie lässt sich der Zusammenhang zwischen Übergewicht und Genomschädigung erklären und welche Mechanismen führen zu den günstigen metabolischen Veränderungen nach adipositaschirurgischen Verfahren? Für die durch starkes Übergewicht verursachten Schädigungen des Genoms werden unterschiedliche Ursachen diskutiert: übermäßige Ernährung mit zu hoher Kaloriendichte führt in Kombination mit Bewegungsmangel und genetischer Veranlagung zur Vermehrung viszeralen Fettgewebes, welches einen chronischen Inflammationzustand durch Sekretion proinflammatorischer Stoffe unterhält (Hotamisligil 2006). Freie Fettsäuren bedingen erst eine Verfettung, schließlich Entzündung der Leber, der Hormonhaushalt erfährt eine zunehmende Dysregulation, die nachlassende Insulinempfindlichkeit sowie hohe Serumglucosespiegel münden in oxidativen Stress und mitochondriale Dysfunktion, die die Zellen schädigt oder gar mit deren Apoptose endet (Arruda, Pers et al. 2014, Horwath, Hurr et al. 2017).

Begünstigt also Adipositas Schädigungen der DNA auf mehreren Wegen, bedeutet dies umgekehrt, dass die positiven Auswirkungen der Operationen nicht allein dem Gewichtsverlust geschuldet sind, gleichwohl er ein hauptsächliches Ziel ist. Er kommt durch die BRAVE-Effekte – **b**ile flow alteration, **r**eduction of gastric size, **a**natomical gut rearrangement/altered flow of nutrients, **v**agal manipulation, **e**nteric gut hormone modulation – zustande (Ashrafian, Ahmed et al. 2011): neben dem offenkundig geringeren Fassungsvermögen und der geringeren Aufnahmefläche des Magen-Darm-Trakts spielen die hormonellen Systeme, die unter anderem Appetit, Hunger, Geschmackempfinden, Ruhemetabolismus regulieren, eine wichtige Rolle. Dazu zählen z. B. die Hormone Leptin und Adiponektin, die vornehmlich aus Adipozyten freigesetzt werden und denen auch im Zusammenhang mit bariatrischer Chirurgie Aufmerksamkeit geschenkt wird. Die Fettgewebsreduktion hat außerdem eine potentiell ausgleichende Funktion auf männliche und weibliche Geschlechtshormone, deren Regelkreise bei Adipositas gestört sein und

zu Krankheiten wie dem eingangs erwähnten PCO-Syndrom führen können. Eine besser kontrollierte und regulierte Ausschüttung von Sexualsteroiden hat schließlich eine niedrigere Krebsinzidenz zur Folge, weil sie bei Entgleisungen eine Kanzerogenese z. B. in Endometrium, Mamma oder Colon nachweislich begünstigen können (Calle and Kaaks 2004, Renehan, Zwahlen et al. 2015).

Die vorliegende Studie richtet ihren Fokus deshalb insbesondere auf den Nachweis von durch oxidativen Stress verursachten DNA-Schäden bei stark übergewichtigen Menschen unter dem Gesichtspunkt verschiedener Komorbiditäten. Geprüft werden soll außerdem die Reversibilität des oxidativen Stresses bzw. der dadurch begünstigten adipositasassoziierten Nebenerkrankungen durch einen bariatrischen Eingriff.

5.1.1 Insulinresistenz und Diabetes mellitus

Die erhöhte Mikrokernfrequenz bei Diabetespatienten wurde bereits in einzelnen Studien gefunden, allerdings noch nicht nach bariatrischen Operationen untersucht (Corbi, Bastos et al. 2014, Karaman, Aydin et al. 2015). Die bereits eingangs thematisierte Besserung einer Insulinresistenz adipöser Patienten gehört währenddessen zu den am schnellsten einsetzenden Auswirkungen einer RYGB- oder SG-Operation (Cho 2014, Schauer, Bhatt et al. 2017). Sie wird dem Zusammenwirken unterschiedlicher Mechanismen zugeschrieben: Da beim RYGB der Nahrungstransport unter Ausschluss von Duodenum und proximalem Jejunum erfolgt, kommen hormonale Effekte zum Tragen, unter denen speziell die Bedeutung der GLP-1- und PYY-Sekretion diskutiert wird. Das Inkretinhormon GLP-1 wird wie PYY im unteren Darmtrakt ausgeschüttet, fördert die Insulin- und unterdrückt die Glucagonproduktion, woraus eine effektivere Glucoseverstoffwechslung resultiert (Peterli, Steinert et al. 2012). GLP-1 und das Anorexin PYY steigen in geringerem Umfang selbst nach SG an (Youssef, Emmanuel et al. 2014). Vorteilhaft ist ferner, dass GLP-1 die Magenentleerung verzögert und den Appetit mindert, so dass die Eingriffe bereits unabhängig vom Gewichtsverlust wirkungsvoll sind. Das orexigene Ghrelin, oft als „Hungerhormon“ bezeichnet, wird im Magenfundus gebildet und sinkt demzufolge besonders nach der SG mit Entfernung der großen Magenkurvatur wie auch infolge eines RYGB (Menguer, Weston et al. 2017).

Xu et al. detektierten eine erniedrigte Aktivität der AMP-Kinase (AMPK) im subkutanen Fettgewebe insulinresistenter Adipöser sowie ein deutlich höheres Level an oxidativem Stress und Genexpression inflammatorischer Marker sowohl im viszeralen als auch subkutanen Fettgewebe als bei insulin sensitiven Vergleichsprobanden. Es fand mehr Protein-carbonylierung – als Zeichen für oxidativen Stress – bei den Insulinresistenten statt.

Die Gruppe konnte zeigen, dass 3 Monate nach einem RYGB die AMPK-Aktivität zu-, der oxidative Stress im Fettgewebe dagegen abnimmt (Xu, Gauthier et al. 2012). Diese Erkenntnisse passen gut zu den bei den Studienteilnehmern gefundenen Mikrokernfrequenzen: Die Gruppe der Diabetiker wies zu Beginn eine um 65 % höhere Frequenz auf als diejenige der insulin sensitiven Adipositaspatienten; fasst man nur die Patienten mit metabolischem Syndrom zusammen, lag sie bei den insulinresistenten unter ihnen sogar um 82 % höher als bei den insulin sensitiven. Das lässt vermuten, dass der oxidative Stress für die Ätiologie des Übergewichts insgesamt, speziell aber für die damit verbundene Komorbidität Diabetes mellitus Typ 2 eine nicht zu unterschätzende Bedeutung hat. Die angesprochene Proteincarbonylierung ist ferner hauptsächlich Folge einer vermehrten ROS-Produktion durch mitochondriale Dysfunktion im Fettgewebe, die einen wichtigen Schritt in der Pathogenese einer diabetischen Stoffwechsellage darstellt. Eine weitere Erklärung für deren postoperative Besserung könnte daher die verstärkte Biosynthese an Mitochondrien und verminderte Proteincarbonylierung bereits wenige Tage nach RYGB-Operation sein (Jahansouz, Serrot et al. 2015).

Die in der Literatur auffindbaren Zahlenangaben zur Remission eines zuvor diagnostizierten Diabetes mellitus bzw. einer Insulinresistenz infolge einer bariatrischen Operation reichen von etwa 60 bis hin zu knapp 100 % der Fälle. Die Verbesserung der Insulinsensitivität im Sinne einer Absenkung des HOMA-Index respektive Anstieg der (postprandialen) Insulin- und GLP-1-Spiegel, geschieht Studien zufolge innerhalb von nur ein bis zwei Wochen (Maggard 2005, Peterli, Wölnerhanssen et al. 2009, Murri, Garcia-Fuentes et al. 2010, Sjöström, Peltonen et al. 2014). Diese Größen wurden hier während der ersten postoperativen Tage bei den Studienteilnehmern allerdings nicht erhoben, so dass keine Aussage über mögliche Änderungen bei den Patienten getroffen werden kann. Eine Remission war jedoch nach 12 Monaten bei 57 % der Diabetiker zu verzeichnen; der recht deutliche Rückgang des durchschnittlichen HbA1c-Werts um etwa 1,5 % spricht zudem dafür, dass die Patienten tatsächlich im Lauf dieser Zeit eine bessere Insulinempfindlichkeit entwickelten. Letztere hängt nicht einzig von der Gewichtsreduktion ab – zumal schließlich ca. 10–20 % der Diabetiker zu Beginn schlank sind und dieser Anteil der Diabetesfälle nicht auf Adipositas zurückgeführt werden kann (Carnethon, De Chavez et al. 2012, Berg, Bischoff et al. 2013). Das Ausmaß der Kontrolle der diabetischen Stoffwechsellage korreliert nicht immer mit dem abgenommenen Körpergewicht, noch dazu wird in der Literatur längerfristig das Risiko einer erneuten Gewichtszunahme

beschrieben, während die Diabetesinzidenz niedrig bleibt (Maggard-Gibbons, Maglione et al. 2013).

Verschiedene Gewebearten reagieren unterschiedlich schnell nach der Operation: Für periphere Gewebe scheint der langfristige Gewichtsverlust tatsächlich maßgeblicher zu sein, für die frühe Verbesserung der Insulinsensitivität ist mutmaßlich vorrangig die unmittelbar postoperative Kalorienrestriktion entscheidend (Isbell, Tamboli et al. 2010, Cho 2014). Sie wird durch das geringere Fassungsvermögen des Magen-Darm-Trakts und die Aufnahme kleinerer Mahlzeiten bei beiden Operationsarten gefördert und sorgt zudem dafür, dass postprandiale hyperglykämische Spitzen vermieden werden. Diese stehen bereits länger im Verdacht, bei Diabetikern direkt oxidativen Stress und Lipidperoxidation zu begünstigen (Ceriello, Bortolotti et al. 1999).

Zusammenfassend gibt es für die bei Diabetikern besonders starke Reduktion der Mikrokernfrequenz als Indikator einer DNA-Schädigung sehr viele Gründe: Die bariatrischen Operationen verändern die hormonelle Lage im Gastrointestinaltrakt zugunsten einer verbesserten Insulinsensitivität, die β -Zell- und mitochondriale Funktion nimmt zu, oxidativer Stress wird durch eine Reduktion des viszeralen Fettgewebes und weniger hyperglykämieinduzierte ROS-Produktion bzw. Lipidperoxidation gemindert.

5.1.2 Inflammatorische Reaktionen und Immuneffekte

Die angesprochene reine Kalorienrestriktion wird von Lips et al. sogar als dem RYGB überlegen angesehen, was das spätere Profil verschiedener Entzündungsmarker bei den Probanden anbelangt: Nur die geringere Kalorienzufuhr ist den Forschern zufolge imstande, TNF- α , IL-2 und IL-6-Werte zu senken, wohingegen diese inflammatorischen Botenstoffe durch einen RYGB nicht abnehmen. Der Spiegel an C-reaktivem Protein als klinisch wichtiger Indikator für eine akute oder chronisch schwelende systemische Entzündung reduziert sich infolge beider Methoden (Pardina, Ferrer et al. 2012, Lips, van Klinken et al. 2016). Eine signifikante CRP-Abnahme nach bariatrischen Eingriffen und auf andere Arten erzieltm Gewichtsverlust ist vielfach beschrieben und entspricht auch den Studienergebnissen in dieser Arbeit (Chen, Lee et al. 2009, Miller, Nicklas et al. 2011, Morshed and Fathy 2016).

Abgesehen von inflammatorischen Prozessen, die nach einer Verminderung des Übergewichts in geringerem Umfang ablaufen, ist die Anzahl an Leukozyten ein Indiz für Entzündungen, da hauptsächlich sie die proinflammatorischen Zytokine produzieren. Die weißen Blutkörperchen sind essentieller Bestandteil der spezifischen und unspezifischen Immunabwehr und bekämpfen Bakterien, Viren und körperfremde Partikel allge-

mein bis hin zu Tumorzellen. Bei den Studienteilnehmern verringerte sich die Anzahl der Leukozyten insgesamt, im Differenzialblutbild anteilig v. a. der neutrophilen Granulozyten, signifikant innerhalb eines Jahres, was der Literatur entsprechend als Hinweis auf eine Rückbildung des chronischen niedriggradigen Inflammationszustands zu werten sein könnte, in dem sich viele Adipöse befinden. (Martí, Marcos et al. 2001, Veronelli, Laneri et al. 2004, Furuncuoğlu, Tulgar et al. 2016).

Schließlich lassen sich immunmodulierende Effekte der Operationen an den Lymphozyten, der spezifischen Abwehr des Immunsystems, festmachen. Hier ist bei den Studienteilnehmern eine signifikante Zunahme des proportionalen Anteils dieser Zellen aufgetreten, wobei das Differenzialblutbild keine Unterscheidung zwischen B-, T- und NK-Zellen erlaubt und sich die durchschnittliche absolute Lymphozytenzahl nach einem Jahr nicht änderte. Aus der signifikanten Abnahme der Neutrophilen resultierte aber eine deutliche Abnahme der sogenannten Neutrophilen-Lymphozyten-Ratio (NLR), die als Marker für subklinische Entzündungen genutzt wird (Buyukkaya, Karakas et al. 2014).

Bei kontroversen Angaben zum Lymphozytenanteil fanden verschiedene Autoren eine eingeschränkte Funktionalität der NK-Zellen bei Adipösen, die nach Fettreduktion reversibel war (Moulin, Marguti et al. 2011, Jahn, Spielau et al. 2015). In der Literatur existiert die Hypothese, dass bei Adipösen eine Akkumulation v. a. von T-Zellen im Fettgewebe stattfindet, die eventuell für die nachfolgende Migration von Makrophagen in das Gewebe eine Rolle spielt. Beide Zellarten befeuern den Inflammationszustand (Anderson, Gutierrez et al. 2011). Cottam et al. sehen die Ursache der immunologischen Dysfunktion Übergewichtiger andererseits in einer unterdrückten L-Selektin-Expression und abnormer Produktion einzelner CD-Typen auf T-Lymphozyten und konnten dagegen keine signifikanten Veränderungen der prozentualen Anteile der diversen Lymphozyten-Subgruppen erkennen. Sie bezeichnen den RYGB daher gar als „immunrestauratives Verfahren“, da er die L-Selektin-Expression wiederherzustellen vermag (Cottam, Schaefer et al. 2002, Cottam, Schaefer et al. 2003). Ein präoperativ ausgeprägter Entzündungszustand ist gleichzeitig ein Prädiktor für geringere BMI-Reduktion nach dem Eingriff (Lasselin, Magne et al. 2014).

5.1.3 Reduktion der Steatose, Minderung von Lipidperoxidation und oxidativem Stress

Die Veränderungen, die die Studienteilnehmer in ihren Lipidprofilen aufwiesen, sind inzwischen als erwünschter Effekt bariatrischer Chirurgie belegt; eine Remission einer Dyslipidämie zwei bis drei Jahre nach RYGB oder SG wird durchschnittlich bei ca. 60–66 % erreicht (Courcoulas, Christian et al. 2013, Puzziferri, Roshek et al. 2014, Inge,

Courcoulas et al. 2016). Die hier thematisierte Studie zeigt, dass sich Gesamtcholesterin, LDL und Triglyceride bereits ein halbes Jahr postoperativ signifikant gemindert präsentieren, der Anstieg des HDL nach einem Jahr. Nach dieser Zeit waren abgesehen vom Gesamtcholesterin wieder Werte erreicht, die für Menschen mit hohem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse empfohlen werden. Untersuchungen von Torriani et al. stützen die Vermutung, dass durch den RYGB das viszerale und subkutane Fettgewebe als Zeichen einer stärkeren Vaskularisierung dichter wird, was mit der HDL-Zunahme und besserem Fettverlust assoziiert ist (Torriani, Oliveira et al. 2015).

Der gemessene Genomschaden im Mikrokerntest unterschied sich zwischen Patienten mit oder ohne diagnostizierter Hyperlipidämie unwesentlich. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass die Lipidwerte bei fast allen Adipösen zumindest leicht erhöht sind. Sie begünstigen für sich genommen nicht nur oxidativen Stress, sondern darüber hinaus die im Laufe der Zeit resultierenden Folgeerkrankungen wie eine Fettleber und sind v. a. bei deren Fortschreiten kein verlässlicher Marker mehr (Le Lay, Simard et al. 2014, Nemes and Åberg 2017). So existiert ein Zusammenhang zwischen Übergewicht ganz allgemein, metabolischen Syndrom, Insulinresistenz und Diabetes mellitus mit der NAFLD, wobei die kausalen Beziehungen untereinander nicht eindeutig differenzierbar sind (Yki-Järvinen 2014). Oxidativer Stress wird als ätiologischer Faktor für eine NASH-Erkrankung diskutiert, bei der die reine Leberverfettung der NAFLD zu einer Entzündung des Gewebes fortgeschritten ist (Belia, Lupattelli et al. 2014, Peverill, Powell et al. 2014). Verschiedene Autoren beschreiben vermehrten oxidativen Stress durch die Anhäufung freier Fettsäuren, der insbesondere zu mitochondrialer Dysfunktion und Lipidperoxidation auf peroxi- und mikrosomalen Signalwegen führt. Die toxischen Nebenprodukte treiben schließlich den Inflammationsprozess in Hepatozyten und die Aktivierung hepatischer Sternzellen an (Rolo, Teodoro et al. 2012, Machado and Diehl 2016). Eine Operation schmälert deshalb als Konsequenz eines Rückgangs der Lebersteatose die hepatische Lipidperoxidation als Quelle oxidativen Stresses (Bell, Temm et al. 2010, Pontiroli, Benetti et al. 2013). Wird er durch adipositaschirurgische Therapie vermindert, kann ein weiteres Fibrosieren der Leber und eine Progression hin zur Leberzirrhose verhindert werden. Das senkt zudem die Wahrscheinlichkeit der Entstehung eines hepatozellulären Karzinoms, für das die Leberzirrhose den größten Risikofaktor darstellt (Kral, Thung et al. 2004, Ertle, Dechêne et al. 2011).

Richtet man das Augenmerk daher allein auf die an der NASH leidenden Patienten, ist eine signifikante Reduktion der DNA-Schädigung im Mikrokerntest festzuhalten. Das

gleiche Bild ergibt sich für NAFLD- und/oder NASH-Erkrankte, stellt man sie den lebergesunden Übergewichtigen gegenüber. Dabei erscheint die Trennschärfe zwischen Kranken und Gesunden im ersten Fall tendenziell größer, da die Gruppe der NASH-Kranken höhere Mikrokernfrequenzen aufweist als die Vereinigung der NASH- und der NAFLD-Kranken. In beiden Fällen nivellieren sich die Werte von Kranken und Gesunden nach einem Jahr. Der erhöhte Genomschaden in Lymphozyten von NASH-Patienten deckt sich mit den Ergebnissen von Karaman et al., die hierfür ebenfalls den Mikrokerntest (CBMN Cytome Assay) anwandten (Karaman, Karaman et al. 2013). Die verbesserte Leberfunktion der Patienten verdeutlicht zuletzt der dargestellte sehr signifikante Abfall der Transaminasen und der γ GT im Blutbildverlauf.

5.1.4 Auswirkungen auf die Hypertension

Neben der dargelegten Verbesserung des Lipidprofils profitieren bariatrische Patienten außerdem von einer Senkung des Blutdrucks. Die Bedeutung dieses Parameters ist evident: Die arterielle Hypertonie betrifft als ernstzunehmende Volkskrankheit mit wachsender Prävalenz bereits jetzt etwa 40 % aller Erwachsenen weltweit und knapp zwei Drittel aller Adipösen (hier 56 % der Studienteilnehmer). Obwohl eine multifaktorielle Genese angenommen wird, ist die Gewichtung einzelner ätiologischer Komponenten dabei nicht vollends klar. Als ursächlich für die adipositasassoziierte Hypertonie wird das Zusammenspiel aus Bewegungsmangel, genetischer Veranlagung und heutiger Ernährungs- sowie Lebensgewohnheiten gesehen; begleitende Komorbiditäten wie Diabetes mellitus erhöhen das kardiovaskuläre Risiko zusätzlich enorm (Mendis, O'Brien et al. 2013, DeMarco, Aroor et al. 2014). Fast alle Studien, die sich den Auswirkungen bariatrischer Operationen widmen, führen den Blutdruck der Patienten als einen Endpunkt auf; der Nutzen der Operation zur Blutdrucksenkung wird in der Literatur mit einer Erfolgsquote von etwa 40 bis 50 % der Fälle angegeben, in denen anschließend eine Remission vorliegt (Courcoulas, Christian et al. 2013, Puzziferri, Roshek et al. 2014, Wilhelm, Young et al. 2014).

Die Ergebnisse lassen zusammenfassend erkennen, dass der durchschnittliche systolische und diastolische Blutdruck aller Patienten und ebenso die Herzfrequenz um jeweils ca. 10 % gesenkt werden konnten; diese Veränderungen waren signifikant, obwohl einige klinische Daten fehlten. Das Niveau an oxidativem Stress unterschied sich dagegen nicht zwischen Hypertonikern und normotensiven Personen und auch der Vergleich des prä- mit dem postoperativen Genomschaden ergab keine signifikante Änderung in beiden Gruppen. Daraus sollte nicht vorschnell der Schluss gezogen werden, die arterielle

Hypertonie sei prinzipiell von dem Ausmaß an oxidativem Stress unabhängig bzw. trage umgekehrt zu diesem Zustand nicht bei. Eine Schlüsselrolle unter den möglichen Mechanismen nimmt die geringere Verfügbarkeit von NO ein: das aus den Endothelzellen freigesetzte Molekül ist zwar imstande, generierte ROS zu neutralisieren, verliert dabei aber einen Teil seiner zytoprotektiven Wirkung und kann nicht mehr ausreichend für die Vasodilatation der glatten Gefäßmuskulatur sorgen. Andererseits bedingt ein Bluthochdruck über die Aktivierung des RAAS aufgrund verstärkter Stimulation des AT₁-Rezeptors durch den Anstieg von AT-II und Aldosteron eine erhöhte ROS-Produktion über die eingangs erwähnte NADPH-Oxidase (Cai and Harrison 2000, Hirata and Satonaka 2001).

Im Gegensatz zu anderen Antihypertensiva wirken bestimmte Kalziumkanalblocker, ACE-Hemmer und AT₁-Rezeptorblocker vorzugsweise über eine verbesserte Dilatationsfähigkeit und antioxidative Kapazität (Taddei, Virdis et al. 2002). Die letzteren sind – qua nephroprotektiver Eigenschaft – gleichzeitig diejenigen Antihypertensiva, die bei adipösen Hypertonikern mit ggf. assoziiertem Diabetes oder Insulinresistenz als erste Wahl eingesetzt werden; mit nur 3 Ausnahmen wurde bei den 28 hypertonen Studienteilnehmern eine der 3 Wirkstoffklassen als primäres Monotherapeutikum oder kombiniert mit weiterer antihypertensiver Behandlung angewandt. Dies liefert eine potentielle Erklärung dafür, weshalb kein noch deutlicherer Genomschaden im Mikrokerntest detektiert wurde. Denkbar ist ferner, dass bei den Patienten der Adipositasstudie der Mikrokerntest an Lymphozyten in seiner Aussagekraft bezüglich des Hypertonus eingeschränkt war, da die hierfür entscheidenden Prozesse und Marker oxidativen Stresses direkt in den Endothelzellen untersucht werden müssten. Zusätzlich wird oxidativer Stress durch Lipidperoxidation wohl erst bei schwerer Hypertonie bedeutsam (Cracowski, Baguet et al. 2003). Die genaue Pathophysiologie, über die die Blutdrucksenkung durch RYGB oder SG zustande kommt, ist nicht vollständig geklärt; dass eine Einstellung des Blutdrucks auf normotensive Werte auch ohne zusätzlich Medikamente hierdurch möglich ist, wurde aber vielfach gezeigt (Puzziferri, Roshek et al. 2014, Schauer, Bhatt et al. 2017). Anhaltspunkte gibt es beispielsweise für einen geringeren kardialen Output und eine erhöhte Sensitivität der Barorezeptoren nach RYGB, was für eine bessere parasympathische Kontrolle des Kreislaufs spricht (van Brussel, van den Bogaard et al. 2017). Ein kleineres Fettgewebevolumen geht daneben mit weniger Aldosteron-freisetzenden Faktoren einher, so dass sich direkt das Übermaß an Aldosteron normalisiert, das mitverantwortlich für die adipositasassoziierte Hypertension ist (Gletsu-Miller, Hansen et al. 2009).

Derartige Mechanismen könnten der Hypertension nach bariatrischen Operationen stärker entgegenwirken als über ROS vermittelte Vorgänge auf zellulärer Ebene.

5.1.5 Bedeutung des Gewichtsverlust für Nebenerkrankungen

Nachdem bereits verschiedene – metabolisch erzielte Effekte – angesprochen wurden, stellt sich nichtsdestotrotz die Frage, welche Bedeutung nun der postoperative Gewichtsverlust für andere adipositasassoziierte Erkrankungen hat, zu denen man auch bestimmte Krebserkrankungen zählt. Ein mutmaßlicher (wenngleich damit nicht obligat kausaler) Zusammenhang zwischen Genomschaden bzw. Adipositas und Krebsinzidenz wird dadurch gestützt, dass erstens bei Frauen nach bariatrischem Eingriff sowohl die Mikrokernzahl stärker abnimmt als auch die Krebsinzidenz und sich zweitens in der Literatur besonders eine Risikoreduktion für übergewichtsassoziierte Krebserkrankungen findet. Bei Männern sind beide Effekte in geringerem Ausmaß messbar oder, je nach Studie, gar nicht vorhanden (Adams, Stroup et al. 2009, Tee, Cao et al. 2013). Die Gründe hierfür sind noch weitestgehend unklar. Neuere umfassende Analysen von Schauer et al. legen nahe, dass das reduzierte allgemeine Krebserkrankungsrisiko durch bariatrische Chirurgie kausal eng an den erzielten Gewichtsverlusts geknüpft ist, während letzterer speziell für die Risikoreduktion übergewichtsassoziiierter Formen paradoxerweise keine Rolle spielt (Schauer, Feigelson et al. 2017). Passend zum erhöhten Risiko für bestimmte Krebsarten bei Diabetikern demonstrieren die vorliegenden Studienergebnisse für die Gruppe der Diabetiker eine höhere Mikrokernfrequenz – und postoperativ stärkere Senkung – als für Nicht-Diabetiker. Mikronuklei wiederum sind außerdem als Marker für diverse Tumorarten gut belegt (Bonassi, Znaor et al. 2007, Giovannucci, Harlan et al. 2010, Maffei, Zolezzi Moraga et al. 2014).

Die Änderungen in Bezug auf Krebsinzidenz und Genomschaden (in Form der Mikrokernfrequenz) scheinen sich also in den Subgruppen „Frauen - Männer“ und „Diabetiker - Nicht-Diabetiker“ zu ähneln. Dagegen konnte auch in der hier betrachteten Studie keine Korrelation zwischen Mikrokernzahl (bzw. deren Reduktion) und BMI (bzw. BMI-Reduktion) dokumentiert werden – gleiches gilt im Übrigen für die im Comet Assay gewonnenen Daten. Andere Autoren sehen eine positive Korrelation zwischen BMI und Mikrokernfrequenz bei Übergewichtigen, für die Situation nach bariatrischen Eingriffen existiert bislang aber kaum Literatur (Donmez-Altuntas, Sahin et al. 2014, Karaman, Aydin et al. 2015, Bankoglu, Arnold et al. 2018). Oxidativer Stress für sich genommen nimmt durch sie ab und korreliert dabei vermutlich mit dem Gewichtsverlust. Der BMI als Kriterium erlaubt dabei eventuell keine ausreichend differenzierte Betrachtung: Der viszerale

Fettgewebeverlust korreliert noch stärker als derjenige des subkutanen oder Gesamtfettgewebes positiv mit der Höhe oxidativen Stresses in Form entsprechender Metabolite und Lipidperoxide (Gletsu-Miller, Hansen et al. 2009).

5.1.6 RYGB und SG im Vergleich

Was den Gewichtsverlust angeht, wird in der Literatur die Effektivität von RYGB und SG meist entweder als gleichwertig betrachtet oder aber dem RYGB ein tendenziell etwas besseres Outcome attestiert (Li, Lai et al. 2013, Chang, Stoll et al. 2014, Menguer, Weston et al. 2017, Peterli, Wölnerhanssen et al. 2018). Grundsätzlich herrscht mittlerweile Übereinstimmung, dass beide Verfahren einer rein medikamentösen Therapie bzw. anderen Methoden zur Gewichtsreduktion überlegen sind. Gleiches gilt in Bezug auf HbA1c-Level, Lipidprofil und allgemeine Lebensqualität, auf die sich allesamt die chirurgische Behandlungsweise günstiger auswirken soll (Gloy, Briel et al. 2013, Schauer, Bhatt et al. 2017).

Aufgrund der teils ungleichen Wirkungsweisen von RYGB und SG war vorstellbar, dass sich beide Methoden im Hinblick auf die Genomschädigung differenzieren lassen könnten. Er reduzierte sich in den Lymphozyten der Studienteilnehmer zwar relativ stärker bei RYGB-Operierten, absolut betrachtet war eine signifikante Reduktion nur durch die SG erzielt worden. Insgesamt sollte hier zunächst eine noch größere Anzahl an Patientenproben untersucht werden.

5.1.7 Apoptosen, Mitosen und CBPI

Neben der Mikrokernfrequenz können im Mikrokerntest weitere Endpunkte geprüft werden. Die Studienergebnisse zeigten keine erhöhte Apoptoserate der Patienten im Vergleich zu den Kontrollpersonen, hinsichtlich der Mitoserate war ein signifikanter Anstieg nach 6 Monaten messbar, der sich aber im Verlauf nicht hielt. Die Mitoserate der Kontrollgruppe präsentierte sich gegenüber derjenigen der Patienten (zu jedem Zeitpunkt) ebenfalls ohne signifikanten Unterschied.

Der Proliferationsindex der Lymphozyten dagegen war in der Patientengruppe auch nach einem Jahr noch signifikant niedriger. Zu den genannten Zellzyklusparametern existieren in der Literatur nur sehr wenige geeignete Vergleichsarbeiten. Pereira et al. stellten u. a. in Lymphozyten von Prädiabetikern eine erhöhte Apoptoserate fest (Pereira, Molz et al. 2013). Der CBPI wird häufig im Zusammenhang mit der Bestrahlung von Tumorzellen betrachtet, die je nach neoplastischem Gewebe die Zellteilungsrate effektiv senken kann. Für den hier beobachteten erniedrigten CBPI der Lymphozyten Adipöser

gegenüber denjenigen Normgewichtiger könnte eine Erklärung die eingeschränkte Immunkompetenz bei Adipositas sein; es existieren Hinweise auf eine verringerte Proliferationsfähigkeit durch fettreiche Ernährung und schlechteres Ansprechen von Lymphozyten auf mitogene Stimuli i. R. von Übergewicht im Tiermodell (Lamas, Marti et al. 2002). Eine Studie von Bolognesi et al. fand eine erhöhte Mikrokernfrequenz und erniedrigten CBPI mit zunehmendem Alter der untersuchten Personen. Die Forscher begründen dies mit der nachlassenden Leistungsfähigkeit der DNA-Reparaturmechanismen bei älteren Menschen und einer Verlangsamung der Proliferationskapazität (Bolognesi, Lando et al. 1999). Eventuell sind die CBPI-Werte der Studienprobanden in einem ähnlichen Sinn zu deuten, da für den biologischen Alterungsprozess ebenso wie für starkes Übergewicht oxidativer Stress als wichtiger ätiologischer Faktor gilt. Für den Zusammenhang spricht die häufig diskutierte Hypothese, Kalorienrestriktion fördere Gewichtsverlust und verlangsamt den Alterungsprozess (Heilbronn, de Jonge et al. 2006, López-Otín, Galluzzi et al. 2016).

5.1.8 Oxidativer Stress in Mundschleimhautzellen

Der Mikrokern-Assay mit humanen Mundschleimhautzellen ist ein probates Mittel, um den Einfluss genotoxischer Substanzen oder auch einer Vitaminsupplementation sichtbar zu machen; die Resultate korrelieren ferner sehr gut den aus Lymphozyten gewonnenen. Das größte Problem hierbei besteht darin, dass die Mikrokernfrequenz generell niedriger liegt als bei der Verwendung von Lymphozyten und Veränderungen meist sehr klein sind (Fenech, Holland et al. 2011). Als logische Konsequenz wird eine große Probenmenge erforderlich, um signifikante Unterschiede nachweisen zu können. So ist auch im Rahmen dieser Studie die Fallzahl noch zu gering, obwohl sich eine tendenzielle Abnahme der Mikrokernfrequenz in den Mundschleimhautproben um etwa 10,3 % zeigte. Eine Integration des Datensatzes mit solchen anderer Studien zu RYGB- und SG-Patienten ist daher bereits vorgesehen. Das scheint darüber hinaus sinnvoll, weil Fenech et al. in der oben zitierten Publikation eine mittlere Frequenz von 1,1 MK/1000 Zellen für gesunde Kontrollpersonen angeben. Zieht man dies als Referenzpunkt heran, lägen die Ergebnisse der Adipösen dieser Studie selbst präoperativ mit $0,78 \pm 0,75$ MK/1000 Zellen nicht über dem physiologischen Normwert. In jüngster Vergangenheit gelang Quintero Ojeda et al. unter Anwendung des BMCyt-Assays (Buccal Micronucleus Cytome Assay) der Nachweis einer erhöhten Mikrokernfrequenz bei Diabetes mellitus-Patienten gegenüber gesunden Kontrollen (Quintero Ojeda, Aguilar-Medina et al. 2018).

5.1.9 Vergleich mit den Messungen im Comet Assay

Der Vergleich mit den Comet Assay-Ergebnissen, die von Labormitarbeitern aus den gleichen Lymphozytenproben gewonnen wurden, bestätigt die Reduktion des Genomschadens bei den Adipositaspatienten nach ca. 12 Monaten (Bankoglu, Seyfried et al. 2017). Das Ergebnis wurde hier allerdings erst bei Auswertung von > 50 Präparaten signifikant. Bei beiden Methoden betrug die Abnahme der gemessenen DNA-Schädigung, als Mikrokernfrequenz bzw. Tail-DNA in %, fast punktgenau 22 % nach einem Jahr. Eine ähnliche Beobachtung war außerdem, dass im Comet Assay die Höhe des präoperativen Genomschadens bzw. das Ausmaß seiner Reversibilität ebenfalls nicht mit dem jeweiligen BMI oder dessen Änderung korrelierten.

5.2 Ergebnisse der In-vitro-Zellkulturversuche

5.2.1 Versuche mit Insulin und AT-II

Für die Zellkulturversuche mit Insulin und AT-II wurden die Substanzen unter anderem mit Hilfe des Comet Assays einzeln und in Kombination auf ihre genomschädigende Wirkung an HL60- und NRK-Zellen untersucht. Die beobachtete Induktion oxidativen Stresses durch Insulin war bereits zuvor von der Arbeitsgruppe Stopper sowie in externen Forschungsgruppen nachgewiesen worden und konnte hier bestätigt werden. Im Comet Assay ergab sich eine signifikante Zunahme der DNA-Schädigung ab einer eingesetzten Konzentration von 32 nM bei HL60-Zellen, im NRK-Modell war eine ähnliche Tendenz ohne signifikantes Ergebnis erkennbar. In früheren Arbeiten und mit weiteren geprüften Zelllinien konnte eine Schädigung bereits ab Einsatz von 10 nM Insulin und nach nur 5 Minuten Inkubationszeit durch die ROS-generierende Wirkung des Insulins gezeigt werden (Othman, Kreissl et al. 2013). Dem entsprechend wurde eine erhöhte Mikrokernfrequenz auch in vivo schon für Zustände der Hyperinsulinämie, neben Diabetes mellitus u. a. das metabolische Syndrom sowie das PCOS, beschrieben (Yesilada, Sahin et al. 2006).

Die physiologische Insulinkonzentration im Serum des Menschen liegt in nüchternem (Fasten-)Zustand durchschnittlich unter 174 pmol/l, eine Stunde nach einer Mahlzeit, i. e. Glucoseaufnahme, erreicht sie Spitzen von ca. 1900 pmol/l (entsprechend 1,9 nM). Je nach Ernährung und individueller Insulinsensitivität reichen die in vitro getesteten Insulinkonzentrationen somit bereits an den relevanten (etwas niedrigeren) physiologischen Konzentrationsbereich heran, zumal ausgeprägte Schwankungen im Tagesverlauf vorkommen und eine höhere Insulinausschüttung bei Typ 2-Diabetes mellitus-Patienten im Anfangsstadium anzunehmen ist (Van Cauter, Blackman et al. 1991, Melmed, Polonsky

et al. 2011). Um die HL60-Zellen etwas konstanter dem Insulin auszusetzen, wurden sie auch über 72 h mit dem Hormon inkubiert, woraus allerdings keine weitere Zunahme der Erbgutschädigung mehr resultierte, sondern sie im Gegenteil sogar weniger stark ausgeprägt war. Möglicherweise greifen hier längerfristig Reparaturprozesse in den Zellen, die nach kurzzeitiger Exposition noch keine Auswirkung haben bzw. es entfallen evtl. Mechanismen, über die der oxidative Stress nur kurz zustande kommt.

Hinsichtlich des AT-II ist die Studienlage in Bezug auf die oxidativen Stress verursachende Wirkung sowie die Wirkungsmechanismen noch inhomogen: Die hier vorgestellten Versuchsergebnisse, im eine signifikante DNA-Schädigung der Zellen ab 400 nM AT-II im Comet Assay und bereits bei 100 nM AT-II im Mikrokerntest zeigen, passen gut zu publizierten Ergebnissen, die allesamt eine über AT-II vermittelte Induktion freier Radikale annehmen: So gelang Bekay et al. der Nachweis einer O_2^- -Produktion in Neutrophilen um das 15-fache im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle, wobei 1 μ M AT-II eingesetzt wurde. Die maximale ROS-Produktion bemerkten die Autoren nach etwa 10 Minuten. Bereits eine niedrige Dosierung von 10 nM AT-II führte zu einer Mobilisierung von NADPH-Oxidase-Untereinheiten zur Zellmembran, was schlussfolgern ließ, dass AT-II stimuliert eine Aktivitätszunahme des Enzyms zustande kommt (Bekay, Álvarez et al. 2003). Griendling et al. sahen nach Applikation von 100 nM AT-II auf vaskuläre glatte Muskelzellen für 24 Stunden eine AT_1 -Rezeptor-abhängige Steigerung der NADPH-Oxidase-Aktivität. Nach 4 Stunden Inkubation mit der gleichen Konzentration war eine 2,7-fach höhere O_2^- -Produktion der Zellen im Vergleich zur Kontrolle zu dokumentieren (Griendling, Minieri et al. 1994). Eine Dosis von 170 nM AT-II bei 24 h Behandlungszeit bewirkte in den Versuchen von Schupp et al. eine etwa 4-fache Induktion von Mikrokerne in HL60-Zellen im Vergleich zur Negativkontrolle (Schupp, Schmid et al. 2007).

Eine DNA-Schädigung durch AT-II im Comet Assay – wie in den Zellkulturversuchen gesehen – wurde ebenfalls von Mazza et al. beschrieben, die darüber hinaus eine Begrenzung dieses Schadens mittels Induktion oder bei Überexpression von HO-1 in den genutzten PT67-Zellen beobachteten. Zusätzlich sank der Gehalt antioxidativen GSH durch AT-II (Mazza, Goodman et al. 2003). Neuere Forschungsergebnisse lenken die Aufmerksamkeit auf eine Reduktion weiterer antioxidativer Enzyme durch AT-II als Erklärung für die Anhebung des ROS-Levels: So vermindert sich z. B. der Gehalt an MnSOD und Cu/ZnSOD in kardialen Fibroblasten unter AT-II-Behandlung (Ramalingam, Menikdiwela et al. 2016).

Eine denkbare Hypothese ist auch, dass geringere AT-II-Plasmaspiegel nach Gewichtsabnahme weniger oxidativen Stress hervorrufen, was zu den postoperativ geringeren DNA-Schäden in den untersuchten Lymphozyten der bariatrischen Patienten passte: Verlieren übergewichtige Patienten an Gewicht, geht die Reduktion der Fettgewebsmasse mit einer Reduktion der RAAS-Aktivierung einher (Engeli, Böhnke et al. 2005, de Kloet, Krause et al. 2010); dies unterstreicht im Übrigen den Einfluss der Gewichtsregulation auf das RAAS. Während systemische RAAS-Überaktivierung durch AT-II-Infusionen oder übermäßige Reninproduktion im Tierversuch von Kalupahana et al. ebenfalls einen Gewichtsverlust zur Folge hatte, machte sich eine Fettgewebe-spezifische RAAS-Überaktivierung – vermittelt erhöhter Agt-Expression – aber durch verstärkte Adipositas bemerkbar. Die Autoren der Studie differenzieren auch in Bezug auf die Dauer der RAAS-Überaktivierung: Eine chronische systemische RAAS-Überaktivierung bedingte eine Insulinresistenz bei Nagern, wohingegen sich akut unter AT-II-Kurzzeitinfusionen bei Mensch und Tier eine erhöhte Glucoseverfügbarkeit und verbesserte Insulinsensitivität einstellten. AT-II führt außerdem zwar im Skelettmuskel, nicht aber im Fettgewebe zur Insulinresistenz: Im Fettgewebe wird gar die Glukoseaufnahme der Adipozyten über die Aktivierung von Insulin-Signalmolekülen potenziert, wie In-vitro-Versuche ergaben (Kalupahana and Moustaid-Moussa 2012).

Da bei Übergewichtigen, und hier speziell diabetischen Patienten, Insulinausschüttung wie AT-II-Plasmaspiegel ansteigen, ist folglich die Wechselwirkung bei der Schlüsselhormone von besonderem Interesse. Liegt eine Insulinresistenz vor, geht die kompensatorische übermäßige Insulinproduktion mit einer Hochregulierung der AT₁-Rezeptoren einher, die AT-II-Bindung führt wiederum über die NADPH-Oxidase zur Bildung der freien Radikale (Giacchetti, Sechi et al. 2005). Vorstellbar wäre deshalb, dass die gemeinschädigenden Wirkungen durch Insulin und AT-II in vivo kumulieren, also die Zellen mit einem größeren Menge an ROS umgehen müssen.

Bislang wird aber meist angenommen, dass über AT-II eine Insulinresistenz zustande kommt: Das wiederum ließe eine sich gegenseitig hemmende Interaktion der beiden Hormone in vitro erwarten. Im HL60-Modell wurde hier allerdings für die Kombination aus Insulin und AT-II ein erhöhtes Maß an oxidativem Stress detektiert, das sich aber nicht voll additiv auswirkte. Die wahrscheinlichste Erklärung dafür ist, dass die eingangs erläuterte Ausbildung einer Insulinresistenz durch AT-II per Degradation bzw. Phosphorylierung des IRS1/2 erst auf dem Weg, also erst aufgrund der AT-II-induzierten ROS-Generierung geschieht und laut Taniyama et al. mehrere Stunden benötigt (Taniyama,

Hitomi et al. 2005). In den hier vorgestellten Zellkulturversuchen kamen deshalb wohl Effekte mit kurzfristigerem Wirkungseintritt zum Tragen.

Ogihara et al. fanden eine gesteigerte Aktivierung des Insulin-Signalings vermittelt durch AT-II. Sie verabreichten Ratten AT-II-Infusionen mit 100 ng/kg KG pro Minute und stellten eine verminderte Glucoseaufnahme bei den Adipozyten dieser Ratten im Vergleich zu denjenigen der Kontrollen fest; die Tyrosinphosphorylierung der IRS1 und IRS2 im Muskelgewebe der AT-II-infundierten Ratten war ferner um etwa das 4-fache erhöht. Während im Muskel-, Leber- und Fettgewebe die PI3-Kinase-Aktivität anstieg, blieben die Expression und der Gehalt der Proteine IRS1, IRS2 und AKT in den Geweben der AT-II- und der Kontrollgruppe annähernd gleich. Die Autoren schlussfolgerten daraus, dass der Mechanismus der AT-II-induzierten Insulinresistenz in der Signalkaskade einen Schritt nach PI3-Kinase bzw. AKT betreffen muss, da eine zuvor häufig angenommene Abschwächung der PI3-Kinase-Aktivität nicht nachweisbar war (Ogihara, Asano et al. 2002). Wenig später präinkubierten Juan et al. Adipozyten mit 100 nM AT-II für 30 Minuten und gaben danach verschiedene Dosierungen Insulin für weitere 30 Minuten hinzu; während AT-II die insulinvermittelte Glucoseaufnahme steigerte, veränderte sich gleichzeitig die Insulinbindekapazität der Rezeptoren nicht, woraus zu schlussfolgern war, dass die insulinempfindlichkeitsvermindernde AT-II-Wirkung erst auf Postrezeptor-Signalwegen zustande kommt. Die Arbeitsgruppe zeigte ferner, dass AT-II in Kombination mit Insulin eine verstärkte Phosphorylierung der IR β -Untereinheit des Insulinrezeptors bewirkt, die PI3-Kinase aktiviert und die Phosphorylierung von AKT befördert. Dieses bildet als Schlüsselenzym einen Knotenpunkt, in den die Rezeptor-Signalkaskaden sowohl des Insulin- als auch des AT₁-Rezeptors einmünden (Juan, Chien et al. 2005). Ogihara et al. und Juan et al. entgegenstehend finden sich allerdings auch Veröffentlichungen, die Belege für eine durch Insulin erhöhte, durch AT-II dagegen abgeschwächte Aktivierung der PI3-Kinase und infolgedessen AKT anführen, also beide Hormone in gewisser Weise als Gegenspieler betrachten (Velloso 1996, Wei, Sowers et al. 2006). Angemerkt werden muss, dass mehrere Autoren darauf hinweisen, dass der AT-II-vermittelte Effekt stark von der jeweiligen Gewebe- bzw. Zellart sowie der Behandlungszeit abhängig ist, was einen direkten Vergleich der Untersuchungen und Methoden erschwert (Juan, Chien et al. 2005, Kalupahana and Moustaid-Moussa 2012). Zusammenfassend müssen die aktuell kontroversen Befunde über die kombinatorische Wirkung beider Moleküle in der Zukunft noch durch weitere experimentelle Daten näher aufgeklärt werden.

5.2.2 Versuche mit Antioxidantien

Es liegen in geringem Umfang Hinweise darauf vor, dass eine Supplementation mit antioxidativen Stoffen die metabolische Lage adipöser Patienten, ihren Gewichtsverlust und die Genesung von diversen adipositasassoziierten Gesundheitsproblemen unterstützen könnte. Erwähnenswert sind in diesem Kontext v. a. Liponsäure, Carnitin, Polyphenole und Catechine z. B. aus grünem Tee, für die die Evidenzlage recht gut ist (Maki, Reeves et al. 2009, Abdali, Samson et al. 2015). Nichtsdestotrotz ist die Studienlage noch unzureichend, so dass bislang keine konkreten Empfehlungen zum therapeutischen Einsatz ausgesprochen werden.

In den Zellkulturversuchen dieser Arbeit wurde die antioxidative Wirkung von Tricetinidin, Curcumin und Resveratrol betrachtet. Eine Konzentration von 5 μM Tricetinidin war dabei imstande, der durch die Mischung aus Insulin und Angiotensin verursachten oxidativen Schädigung im HL60-Zellkulturmodell signifikant entgegenzuwirken; eine Induktion von Micronuclei durch die eingesetzten Konzentrationen von 1 μM und 5 μM Tricetinidin über das Niveau der Negativkontrolle war dagegen ausgeschlossen worden. Wie eingangs dargestellt, ist Tricetinidin strukturell ein 3'-Deoxyanthocyanidin, das sich u. a. als Inhaltsstoff von Teeblättern findet (Wan, Li et al. 2009). Der Analyse diverser Hirsearten, die einen hohen Anthocyanidingehalt aufweisen (und zwar größtenteils 3'-Deoxyanthocyanidine), widmeten sich Devi et al. und konnten eine vom Gehalt dieser Substanzen abhängige starke antioxidative Kapazität feststellen. Auch eine leichte antiproliferative Eigenschaft der Anthocyanidine aus der Sorghumhirse wurde von ihnen beschrieben, wobei Tricetinidin aber nicht gesondert untersucht wurde (Devi, Kumar et al. 2011, Devi, Saravanakumar et al. 2011, Devi, Saravanakumar et al. 2012). Ramos et al. führten Comet Assay-Versuche durch, in denen sich ein H_2O_2 -induzierter DNA-Schaden in Caco-2-Zellen u. a. mit dem strukturell verwandten Luteolin senken ließ. Besonders bemerkenswert ist, dass der protektive Effekt dieses Flavonoids bei kürzerer Präinkubationszeit (2 h) deutlich stärker ausgeprägt war als bei längerer (24 h) (Ramos, Pereira-Wilson et al. 2010). Für weitere dem Tricetinidin verwandte Flavonoide wie Quercetin und Genistein ist gleichfalls gut belegt, dass sie bereits im Bereich von 1–10 μM als potente Radikalfänger fungieren und so oxidative Schäden verhindern können (Cai, Rahn et al. 1997).

Eingesetzt werden Anthocyanidine wie Tricetinidin derzeit in der Behandlung von Kreislauf- und Augenerkrankungen, da es neben antiinflammatorischer und -karzinogener Eigenschaften kardio- und photoprotektive Wirksamkeit besitzt (Rojas 2016). Tamura et

al. konnten außerdem *in vitro* zeigen, dass die Substanz in der Lage ist, die Expression des IgE-Rezeptors Fc ϵ RI auf Mastzellen zu inhibieren. Eventuell lässt sich diese Erkenntnis in Zukunft bei der Therapie allergischer Erkrankungen wie Asthma bronchiale oder der atopischen Dermatitis nutzen, für deren Pathologie der Rezeptor bedeutsam ist (Tamura, Yoshihira et al. 2010).

Im Gegensatz zum Tricetinidin scheint Curcumin sowohl einen anti- als auch prooxidativen Effekt entfalten zu können, ferner wurde seine apoptotische Wirkung auf Krebszellen vielfach diskutiert (s. unten). Lewinska et al. wandten im Vergleich zu anderen Studien, die Curcumin *in vitro* untersuchten, ähnlich geringe Dosen der Substanz (von 0,1 bis zu 100 μ M reichend) an der HeLa-Krebszelllinie an. Sie waren in der Lage, mit 5 μ M Curcumin im Mikrokerntest eine Apoptoseinduktion von ca. 15 % zu demonstrieren; die Behandlungszeit war allerdings mit 24 h etwa 6-mal länger gewählt als in den hier präsentierten Experimenten, in denen sich keine signifikante Apoptoseinduktion in den HL60-Zellen darstellte (Lewinska, Adamczyk et al. 2014). Diese geben denn die meisten Publikationen auch erst ab Konzentrationen im Bereich ab ca. 10–20 μ M und i. d. R. bei > 4 h Inkubation an (Kuo, Huang et al. 1996, Pan, Chang et al. 2001). 5 μ M Curcumin alleine hatten im HL60-Modell wie hier gezeigt bereits eine gegenüber der Negativkontrolle signifikant verstärkte Entwicklung an oxidativem Stress zur Folge, die aber in Kombination mit der Hormonmischung nicht mehr zunahm. Der Pflanzenfarbstoff wird häufig sogar als zytoprotektiv beschrieben; ob oxidative oder antioxidative Eigenschaften zum Tragen kommen, ist vermutlich von Dosierung, Zellart, Expositionszeit und anderen Faktoren abhängig. Eine Abnahme einer durch Cyclophosphamid induzierten Mikrokernelbildung belegten z. B. Cao et al., die humane HepG2-Zellen mit einer Konzentration von 2 μ g/ml (\approx 5,4 μ M) Curcumin behandelten. Interessanterweise zogen 8 bzw. 16 μ g/ml aber bereits eine erhöhte Mikrokernelfrequenz nach sich (Cao, Jiang et al. 2007). In einer weiteren Studie konnte H₂O₂-vermittelter oxidativer Zellschaden in NG108-15-Zellen nur durch simultane Inkubation mit 25–100 μ M Curcumin effektiv gesenkt werden, während eine längere Vorbehandlung die Zellen sogar gegenüber der Schädigung sensibilisierte (Mahakunakorn, Tohda et al. 2003).

Eine Vielzahl an Studien stuft die Bioverfügbarkeit des Curcumins aufgrund schlechter Absorption sowie rascher Metabolisierung und Elimination als äußerst gering ein, weshalb verschiedene Ansätze in Erprobung sind, wie sie zukünftig verbessert werden könnten (Anand, Kunnumakkara et al. 2007).

Die dritte getestete Substanz, Resveratrol, ist in der Literatur am häufigsten vertreten. Sie sorgt wie andere bekannte Polyphenole für die Freisetzung zytoprotektiver Proteine und wirkt antiinflammatorisch über eine Inhibition von NF- κ B und Suppression von TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , -6, -12 aus Lymphozyten und Makrophagen (Bisht, Wagner et al. 2010). Die antioxidative und DNA-Schädigungen mindernde Wirkung des Resveratrol in vitro wird teilweise eher im Bereich geringerer Konzentrationen verortet, wohingegen bei höheren ähnlich wie für Curcumin ein apoptoseinduzierender Effekt beschrieben wurde (Mukherjee, Dudley et al. 2010). Da die Dosisabhängigkeit der Resveratrol-Eigenschaften bekannt ist, wurden bewusst 1 und 5 μ M Resveratrol als Konzentrationen für die Behandlung gewählt und eine signifikant antioxidative Wirkung für beide nachgewiesen. Jüngste Daten von Fan et al. untermauern für HL60-Zellen eine konzentrations- und zeitabhängige Apoptoseinduktion schon ab 12,5 μ M Resveratrol (Fan, Chiu et al. 2018). Eine weitere Studien mit Fokus auf die antioxidative Kapazität des Stilbens konnte erfolgreich zeigen, dass es zu einer dosisabhängigen Reduktion der ROS-Produktion im Bereich von 0,1–10 μ M Resveratrol wie auch, signifikant ab 5 μ M, der NADPH-Oxidase-Aktivität kommt (Shen, Wang et al. 2016). Orallo et al. hielten für diesen Konzentrationsbereich gleichfalls eine signifikante Reduktion der Enzymaktivität in epithelialen Zellen fest und liefern Belege dafür, dass hierauf die niedrigere basale Rate an O₂⁻ basiert und nicht auf eine Inhibition der Xanthinoxidase bzw. Radikalfänger-Eigenschaft zurückzuführen ist (Orallo, Alvarez et al. 2002).

Als Konsequenz der angesprochenen hormetischen Effekte des Resveratrol kann es aber in hohen Konzentrationen auch prooxidativ wirken und übt seine chemopräventive Wirkung bezogen auf verschiedene Krebsformen z. B. über Mechanismen aus, die die Aktivierung von Schlüsselproteinen wie ERK1/2 oder der MAP-Kinasen, der Zellzyklusregulation, der Zelldifferenzierung, -proliferation und Immunantwort beinhalten und mit der Karzinogenese in Zusammenhang stehen (Calabrese, Mattson et al. 2010, Catalgol, Batirel et al. 2012).

Unter dem Aspekt der Adipositaserkrankung ist Resveratrol als mögliches Therapeutikum von großem Interesse, da es als Mimetikum durch Kalorienrestriktion vermittelter Effekte sowie als kardioprotektiv gilt und die Oxidation humanen LDL-Cholesterins verringern soll (Pearson, Baur et al. 2008, Tomé-Carneiro, González et al. 2012). Ganz allgemein liegt – um den Brückenschlag zur Studienthematik zu schlagen – für die Idee, Antioxidantien aktiv therapeutisch bei Adipositas einzusetzen, eine noch eher spärliche Anzahl an Studien vor: Ibero-Baraibar et al. konnten mit Hilfe des Comet Assays keine

Reduktion an oxidativem Stress in den Lymphozyten übergewichtiger Patienten nachweisen, die über einige Wochen einen antioxidantienreichen Cocoa-Extrakt erhalten hatten (Ibero-Baraibar, Azqueta et al. 2015). Andererseits wurden mittlerweile Hinweise auf eine günstige Auswirkung von Resveratrol auf das Stoffwechselprofil morbid Adipöser und eine moderate Blutdrucksenkung ebenso wie auf antiinflammatorische Effekte auch in vivo gefunden (Timmers, Konings et al. 2011, Tomé-Carneiro, Larrosa et al. 2013). In summa erschweren gegenwärtig die Instabilität und der prozentual meist geringe Anthocyananteil in Extrakten die weitere Erforschung und Nutzbarmachung der positiven Eigenschaften der Anthocyane (Castañeda-Ovando, Pacheco-Hernández et al. 2009). Bevor hier genauere Angaben zum Nutzen für Adipöse und zur notwendigen Darreichungsform, Dosierung etc. getroffen werden können, sind weitere Untersuchungen deshalb unumgänglich.

5.3 Limitationen und Ausblick

5.3.1 Limitationen

Die Adipositasstudie wies einige unvermeidbare Einschränkungen auf, zu denen das ungleiche Geschlechterverhältnis mit etwa 80 % Frauen unter den Patienten zählt. Die beiden Operationsarten wurden ebenfalls nicht in ähnlicher Anzahl durchgeführt, sondern der Roux-en-Y-Magenbypass etwa doppelt so häufig wie die Sleeve-Gastrektomie. Das Matching der Kontrollgruppe traf zwar das Geschlechterverhältnis, doch der Altersdurchschnitt dieser Personen lag bei etwa 31 Jahren (im Vergleich zu ca. 44 Jahren bei den Adipösen). Das ist insofern relevant, als die Mikrokernfrequenz – insbesondere bei Cytochalasin B-behandelten Lymphozytenproben – mit dem Alter zuzunehmen scheint (Bolognesi, Lando et al. 1999).

Die Auswertung der Laborwerte war dadurch limitiert, dass nicht zu jedem Zeitpunkt alle ausgewerteten Parameter im Blutbild inbegriffen waren oder unvermeidbarerweise Daten verloren gingen, wenn Patienten nicht zu den vorgesehenen Terminen erschienen. Um eine ausreichende Menge an Vorwerten akquirieren zu können, konnte aber z. B. für die HbA1c-Vorwerte der Patienten auf den jeweils zuletzt gemessenen Wert vor dem Operationstermin (im Durchschnitt bis zu 3 Monate vorher) zurückgegriffen werden. Es ist davon auszugehen, dass hieraus kein verzerrtes Bild resultiert, da der HbA1c keinen kurzzeitigen Schwankungen unterliegt und in den letzten präoperativen Monaten beim jeweiligen Patienten stabil gewesen sein dürfte.

Da es sich um multimorbide Personen handelte, kann ein relevanter Einfluss der von den Studienteilnehmern eingenommenen Vielzahl an Medikamenten, aber auch der Vitamine und anderen Supplemente auf die Resultate der Studie nicht vollständig ausgeschlossen werden. Bedenkenswert ist hier z. B., dass Patienten je nach Vorerkrankungen unterschiedlich stark z. B. von der Vitamineinnahme profitiert haben könnten. So nutzt eine Vitamin E-Gabe eventuell besonders Diabetikern, indem sie zu einer Besserung der Insulinresistenz führt (Manning, Sutherland et al. 2004). Die Kenntnis des Raucherstatus der Patienten, der nicht standardmäßig erfasst worden war, wäre wünschenswert gewesen; andererseits ergaben Analysen hinsichtlich des gentoxischen Schadens im Mikrokerntest signifikante Differenzen nur zwischen sehr starken Rauchern und Nichtrauchern, so dass auch dieser Kritikpunkt die Qualität des Studiendesigns nicht herabsetzt (Fenech and Bonassi 2011).

Es wurde bereits angesprochen, dass die eingesetzten Insulinkonzentrationen zwar im Hinblick auf den in vivo-Zustand der physiologischen Konzentration angenähert gewählt wurden. Gleichwohl müssen weitere Faktoren wie die konstante Dauer der Exposition menschlicher Zellen gegenüber dem Insulin oder die Quantität der Insulinrezeptor-Expression auf verschiedenen Zellarten berücksichtigt werden, die eine direkte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen natürlich limitieren.

5.3.2 Ausblick: Bariatrische Chirurgie

Es existiert eine bislang überschaubare Anzahl an Studien, die nach bariatrischen Operationen die Konzentrationen oxidativer Stressmarker bzw. antioxidativer Stoffe – wie Vitamin C, E und β -Caroten, GSH oder das Enzym Katalase – im Körper der Patienten untersuchten. Einige Autoren fanden im Vergleich zu Kontrollgruppen erniedrigte Antioxidantienpiegel bei Übergewichtigen, die im ersten postoperativen Jahr zum Teil anstiegen, sowie erhöhte Werte an TBARs (thiobarbituric acid reacting substances) oder des proinflammatorischen Metaboliten NO und anderer Biomarker für oxidativen Stress, der postoperativ häufig zurückging (Boesing, Moreira et al. 2010, Cabrera, Valezi et al. 2010, da Silva, Moreira et al. 2012). In einer anderen Studie von Dadalt et al. dagegen zeigte sich kein Zuwachs an antioxidativer Kapazität (i. e. unveränderter oxidativer Stress) nach operativ erreichtem Gewichtsverlust oder gar nach primärer Besserung eine Rückkehr zu einem prooxidativen Status bei längerem Follow-up von 2 Jahren (Dadalt, Fagundes et al. 2013). Die Anzahl an Studien ist insgesamt noch spärlich und es fehlen besonders Langzeituntersuchungen.

Obwohl die bariatrische Chirurgie sich inzwischen als sehr effektiv bewährt hat und weiter verbessert wird, bleiben derartige Eingriffe eine große Belastung für den Patienten. Ein neuer Ansatz ist daher, durch direkte pharmakotherapeutische Beeinflussung auf zellulärer und molekularer Ebene einen „medikamentösen Bypass“ zu schaffen, der vergleichbare metabolische Änderungen erzielt (Miras and Le Roux 2014). Auch hierfür ist ein tiefergehendes Verständnis des Zusammenspiels von u. a. β -Zell-Funktion, Gallensäure-Signaling, (neuro-)hormonellem Einfluss auf Appetit und Hunger, dem Mikrobiom und anderen Faktoren notwendig.

6. Zusammenfassung

Übergewicht, das als Volkskrankheit ein wachsendes globales Problem darstellt, ist mit mehreren folgenreichen Komorbiditäten behaftet und die Assoziation der Erkrankung mit nachweisbarer Schädigung des Erbguts durch oxidativen Stress ist mittlerweile unangefochten. In der vorliegenden Studie wurden periphere Lymphozyten stark bis morbid adipöser Patienten, die sich einem bariatrischen Eingriff unterzogen, diesbezüglich mit Hilfe des Mikrokern-Assays untersucht. Blutproben hierfür wurden präoperativ sowie ein halbes und ein Jahr postoperativ entnommen, wobei nach 12 Monaten – begleitend zu der zu erwartenden BMI-Abnahme – eine signifikante Reduktion des Genomschadens durch Magenbypass bzw. Sleeve-Gastrektomie detektierbar war. Außerdem wurden einzelne Untergruppen aus Patienten mit beispielsweise Diabetes mellitus Typ 2, metabolischem Syndrom oder Fettleberhepatitis gebildet, um zu eruieren, welche der Nebenerkrankungen mit besonders hoher Mikrokernfrequenz einhergehen bzw. auf welche Erkrankungen die bariatrische Chirurgie besonders gute Wirksamkeit durch Reduktion des oxidativen Stresses zeigt. Deutlich auffällig war hier die Reduktion der Mikrokernfrequenz bei Diabetikern, v. a. solchen, die zeitgleich am metabolischen Syndrom litten.

Eine zusätzliche Analyse der erhobenen Patientendaten, die Nüchternblutglucose, HbA1c, Blutdruck und Herzfrequenz sowie ein Blutbild der Patienten (inklusive CRP als Entzündungsmarker, Transaminasen, γ GT sowie Lipidprofil) umfasste, demonstrierte, dass spätestens 12 Monate nach der Operation für jeden Parameter eine deutliche Besserung teilweise wieder zu den physiologischen Normwerten erzielt werden konnte. Weiterhin wurden in die Betrachtung Mundschleimhautproben der Patienten einbezogen, deren Untersuchung per Buccal Micronucleus Cytome Assay eine den Ergebnissen des Mikrokerntests gleichgerichtete Tendenz ergab, wenngleich die Veränderungen nicht signifikant waren. All diese Ergebnisse stützen die These der metabolischen Wirksamkeit sowohl des Roux-en-Y-Magenbypass als auch der Sleeve-Gastrektomie. Ihre Bedeutung liegt nicht zuletzt in der angenommenen Reduktion des Krebsrisikos, da jeweils ein Zusammenhang mit der Adipositas an sich, dem Diabetes und durch oxidativen Stress verursachter DNA-Schädigung besteht.

Im Rahmen der Arbeit wurde außerdem in vitro eine Genomschädigung im HL60- und NRK-Modell, induzierbar sowohl durch Insulin, Angiotensin II als auch die Kombination beider Hormone, durch die Methoden des Comet Assays sowie des Mikrokerntests nachgewiesen. Mit Blick auf eine in jüngerer Vergangenheit und gegenwärtig immer noch in der Forschung diskutierte potentielle therapeutische Anwendung von Antioxidantien zur Reduktion von Erbgutschädigungen, die durch oxidativen Stress zustande

kommen, wurden die Substanzen Tricetinidin, Curcumin und Resveratrol an Zellen getestet, in denen mit der Mischung aus Insulin und Angiotensin II eine genotoxische Wirkung erzielt worden war. Eine signifikante Abnahme der Mikrokernfrequenz konnte bei diesen Experimenten mit Tricetinidin in einer Konzentration von 1 μM und mit Resveratrol in einer Konzentration von 1 und 5 μM beobachtet werden.

Vor allem bezüglich der Bioverfügbarkeit, der Wirkungsmechanismen und einer möglichen präventiven oder therapeutischen Anwendbarkeit von Antioxidantien am Menschen ist allerdings zukünftige weitere Forschung geboten, um noch tiefergehende Klarheit über bislang bestehende Hypothesen in der Literatur zu gewinnen. Ebenso sollten weitergehende Untersuchungen zur Reduktion der Genomschädigung nach bariatrischen Eingriffen stattfinden, zu der bis heute nur wenige Daten verfügbar sind.

7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

7.1 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Wichtige bariatrische Operationsverfahren sind a. Magenband (mit Portzugang), b. Biliopankreatische Diversion, c. Sleeve-Gastrektomie (Schlauchmagen und entfernter größerer Magenanteil) sowie d. Roux-en-Y-Magenbypass. S. 6
- Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung der über Insulin vermittelten Signalwege und Wirkungen sowie der ROS-Produktion. S. 11
- Abbildung 3: AT-II-Bildung und -Signalwege in der Zelle sowie über AT-II vermittelte ROS-Produktion. S. 13
- Abbildung 4: Lipidperoxidation als Beispiel für eine radikalische Kettenreaktion, ausgelöst durch ein Hydroxylradikal. S. 15
- Abbildung 5: Quellen oxidativen Stresses und antioxidative Gegenspieler. S. 17
- Abbildung 6: Grundstruktur Anthocyanidine. S. 20
- Abbildung 7: a. Mit Gel Green gefärbtes Lymphozytenpräparat unter dem Fluoreszenzmikroskop. b. Mitotische Zelle. S. 29
- Abbildung 8: Mundschleimhautzellen (ein- und doppelkernig) mit Mikrokernen unter dem Fluoreszenzmikroskop. S. 30
- Abbildung 9: Comet Assay mit a. nicht bzw. wenig geschädigter Zelle, b. deutlicher Schweifbildung aus geschädigter DNA. S. 33
- Abbildung 10: Angewandte Signifikanztests innerhalb der Patientenstudie. S. 34
- Abbildung 11: Darstellung der BMI-Reduktion in der Patientengruppe im Zeitverlauf. S. 35
- Abbildung 12: Darstellung der Mikrokernfrequenz in peripheren Lymphozyten der adipösen Patientengruppe zu den drei Untersuchungszeitpunkten sowie die der Kontrollgruppe. S. 36
- Abbildung 13: a. Mittlere Apoptose- und Mitosezahl, b. Proliferationsindex (CBPI) der Patienten und der Kontrollpersonen. S. 37
- Abbildung 14: Wertepaare identischer Patienten nach 6 (a.) und nach 12 Monaten (b.), S. 38
- Abbildung 15: BMI-Subgruppen für Patienten mit einem BMI < 50 kg/m² bzw. > 50 kg/m² zum Zeitpunkt t₀. S. 38
- Abbildung 16: Mikrokernhäufigkeit bei Patienten mit metabolischem Syndrom im Vergleich zu nicht daran erkrankten Patienten. S. 39
- Abbildung 17: Mikrokernfrequenz in peripheren Lymphozyten an Diabetes erkrankter und diesbezüglich gesunder Studienteilnehmer im Zeitverlauf. S. 40
- Abbildung 18: Mikrokernfrequenz bei hyper- und normotonen Probanden im Verlauf. S. 41
- Abbildung 19: Mikrokernfrequenz bei Patienten mit und ohne Fettstoffwechselstörung. S. 42
- Abbildung 20: Mikrokernfrequenz bei Frauen und Männern. S. 43
- Abbildung 21: Mikrokernfrequenz in Abhängigkeit der angewandten Operationsart (RYGB vs. SG). S. 43
- Abbildung 22: Mikrokernfrequenz bei Patienten mit und ohne Steatohepatitis. S. 44
- Abbildung 23: Mikrokern/1000 Zellen bei NASH und/oder NAFLD-Patienten im Vergleich zu lebergesunden Studienteilnehmern. S. 45
- Abbildung 24: Mikrokernfrequenz in Mundschleimhautzellen der Studienteilnehmer zu den drei Untersuchungszeitpunkten. S. 46
- Abbildung 25: Tabelle mit Leukozyten (LEU, n*1000/μl), Erythrozyten (ERY, n*106/μl), Thrombozyten (THR, n*1000/μl) im Zeitverlauf als MW ± STAB. Die Kreisdiagramme zeigen die mittlere Verteilung der Leukozyten auf ihre

- Untergruppen (in %) entsprechend dem Differenzialblutbild zu den drei Untersuchungszeitpunkten. S. 47
- Abbildung 26: Durchschnittliche systolische und diastolische Blutdruckwerte (in mmHg) sowie Herzfrequenz (in min^{-1}) im Studienverlauf. S. 48
- Abbildung 27: CRP-Wert als $\text{MW} \pm \text{STAB}$ in mg/dl im Zeitverlauf der Studie. S. 48
- Abbildung 28: a. Nüchtern-glucose, b. HbA1c in %. S. 49
- Abbildung 29: Tail DNA in % der Gesamtheit aller Studienteilnehmer (N=100) sowie nur deren für die Arbeit verwendeter erster Hälfte (N=50). S. 52
- Abbildung 30: DNA-Schädigung im Comet Assay mit HL60- und NRK-Zellen bei unterschiedlich konzentrierter Insulinbehandlung für 2 h. S. 52
- Abbildung 31: %Tail DNA im Comet Assay mit HL60-Zellen bei Inkubation mit ansteigenden Konzentrationen Angiotensin II für 2 h. S. 53
- Abbildung 32: Comet Assay mit dem HL60-Zellkulturmodell bei Präinkubation mit Angiotensin II und anschließender Insulinbehandlung in unterschiedlichen Dosierungen. S. 53
- Abbildung 33: Mikrokernfrequenz HL60 und NRK mit Insulin (4 h), normiert auf die Negativkontrolle. S. 55
- Abbildung 34: Mikrokernfrequenz in mit Insulin für 72 h behandelten HL60-Zellen. S. 55
- Abbildung 35: Mikrokernfrequenz im HL60-Modell mit Angiotensin II (Inkubationszeit 4 h). S. 56
- Abbildung 36: Mikrokernfrequenz HL60 mit Insulin und Angiotensin II (4 h Inkubation). S. 56
- Abbildung 37: Mikrokernfrequenz HL60 mit Kombination aus Insulin und Angiotensin II sowie Tricetinidin. S. 57
- Abbildung 38: Mikrokernfrequenz HL60 mit Kombination aus Insulin und Angiotensin II sowie Curcumin. S. 58
- Abbildung 39: Mikrokernfrequenz HL60 mit Kombination aus Insulin und Angiotensin II sowie Resveratrol. S. 58

7.2 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Bei Adipositas gehäuft auftretende Nebenerkrankungen. Siehe auch Diagnosenliste im Anhang. S. 2
- Tabelle 2: Nach RYGB und SG (teils lebenslang) notwendige Supplemente sowie die postoperative Medikation der adipositaschirurgischen Patienten. S. 9
- Tabelle 3: Verwendete Arbeitsgeräte und Materialien. S. 22
- Tabelle 4: Genutzte Laborchemikalien und Substanzen. S. 23/24
- Tabelle 5: Zur Durchführung der Versuche hergestellte bzw. verwendete Puffer und Lösungen. S. 24/25
- Tabelle 6: Gegenüberstellung multimorbider Adipöser und bzgl. Diabetes/met. Syndrom gesunder Adipöser. S. 40/41
- Tabelle 7: Mikrokerne/1000 Zellen bei Adipösen mit depressiver Erkrankung und solchen mit Hyperurikämie/Gicht. S. 45
- Tabelle 8: Durchschnittliche Transaminasen- und γ GT-Werte der Patienten zu den drei Untersuchungszeitpunkten. S. 50
- Tabelle 9: Durchschnittliche Änderungen der Lipoproteinwerte der Patienten im Studienverlauf. S. 51
- Tabelle 10: a. Vitalitätstest mit NRK- bzw. HL60-Zellen bei Insulinbehandlung und b. Vitalitätstest mit HL60-Zellen bei kombinierter Insulin-/AT-II-Behandlung. S. 54

8. Anhang

8.1 Übersicht: Adipositaspatienten

Patient	Alter	Geschlecht	OP	BMI*	relevante Komorbiditäten
1	32	w	SG	58,61	NASH °5, Hepatosplenomegalie
2	55	w	RYGB	39,10	NAFLD, Art. Hypertonie, DM T2
3	34	m	-	81,00	-
4	55	w	RYGB	50,07	NAFLD/ NASH °7, Art. Hypertonie, Insulinresistenz
5	34	m	RYGB	53,44	Insulinresistenz
6	56	w	RYGB	60,94	NASH °6, Met. Syndrom, Hyperurikämie, Chr. Herzinsuffizienz, COPD, Bulimie
7	39	w	SG	68,74	DM T2, V.a. Art. Hypertonie
8	36	w	SG	44,46	NAFLD, Insulinresistenz, M. Crohn, Rheumatoide Arthritis
9	44	m	RYGB	48,50	NAFLD, Met. Syndrom, Art. Hypertonie, Depression, Asthma
10	40	w	SG	40,49	NASH, DM T2, Hyperurikämie
11	40	m	RYGB	60,38	DM T2, Art. Hypertonie, Depression
12	57	w	RYGB	54,86	NAFLD/ NASH°5, Insulinresistenz, Art. Hypertonie, Depression
13	54	w	SG	57,36	NASH °4, Art. Hypertonie, Hyperlipidämie
14	46	w	RYGB	50,68	Asthma
15	24	w	RYGB	68,98	Insulinresistenz, rez. Abszesse
16	39	w	SG	47,48	Prädiabetes mellitus, Art. Hypertonie, Depression
17	49	w	RYGB	52,32	NASH °4, Insulinresistenz, Art. Hypertonie
18	30	w	RYGB	44,62	Cholezystitis (Cholezystektomie zum Zeitpunkt t1)
19	32	w	RYGB	56,08	NASH °7, Insulinresistenz, Hyperurikämie
20	30	w	RYGB	54,49	Insulinresistenz, Hyperurikämie
21	35	w	RYGB	50,42	NAFLD, Art. Hypertonie, Depression

22	63	w	SG	51,86	NASH, Met. Syndrom (Art. Hypertonie, DM T2), COPD
23	67	m	SG	54,88	NASH, DM T2, COPD
24	38	w	SG	42,74	-
25	52	w	SG	47,80	NASH °5, DM T2, Art. Hypertonie, Asthma, Depression
26	42	w	RYGB	50,19	Insulinresistenz (+ Z. n. Gestationsdiabetes)
27	33	w	RYGB	50,30	Met. Syndrom, Hyperurikämie
28	46	w	RYGB	43,42	Met. Syndrom, Chron. Bronchitis
29	53	w	SG	47,87	DM T2, Art. Hypertonie
30	32	m	RYGB	42,12	NAFLD, Art. Hypertonie, Fettstoffwechselstörung, Psoriasis
31	42	w	RYGB	42,75	NAFLD/NASH °2, Insulinresistenz, Hypertriglyceridämie, Hyperurikämie, Depression
32	36	w	RYGB	62,87	Met. Syndrom (Insulinresistenz, Art. Hypertonie, Hyperlipidämie), Hyperurikämie
33	48	w	SG	52,79	Art. Hypertonie
34	56	w	SG	51,56	DM T2, Art. Hypertonie, Hyperurikämie, Chr. Herzinsuffizienz mit persistierendem VHF
35	31	m	RYGB	46,97	NAFLD, Met. Syndrom
36	35	w	RYGB	45,29	Insulinresistenz, Art. Hypertonie, Chron. Typ C-Gastritis
37	61	m	RYGB	63,48	Met. Syndrom, Hyperurikämie, COPD, Psoriasis
38	44	w	RYGB	55,52	NAFLD, Art. Hypertonie
39	45	w	RYGB	58,08	Art. Hypertonie, COPD, Hyperurikämie, Neurodermitis
40	47	w	RYGB	47,47	NASH °4, Asthma/Atopie, Depression
41	39	w	RYGB	47,05	NAFLD/NASH °3, Hyperlipidämie, Depression
42	41	w	SG	35,15	Insulinresistenz, Hypercholesterinämie

43	56	w	RYGB	57,59	Steatosis hepatis
44	56	w	SG	66,13	Steatosis hepatis, Hypercholesterinämie
45	44	m	RYGB	54,34	Art. Hypertonie, Chron. Herzinsuffizienz
46	27	w	RYGB	48,98	Insulinresistenz
47	35	w	RYGB	41,05	Insulinresistenz, Hyperurikämie, Psoriasis, Sarkoidose (immunsuppress. Therapie)
48	61	w	SG	50,07	NAFLD (evtl. Zirrhose), Hyperurikämie, Depression
49	54	w	SG	57,53	V.a. Zirrhose, DM T2, Art. Hypertonie, Niereninsuffizienz °4, Depression
50	47	m	RYGB	45,55	Steatosis hepatis, Art. Hypertonie, Hyperurikämie
	Ø 43,8	w=40 m=10	RYGB=32 SG=17	Ø 52,09	

8.2 Übersicht: Kontrollpersonen

Person	Alter	Geschlecht	BMI	Besonderheiten
1	24	w	22,89	Pilleneinnahme
2	28	m	24,64	Alkohol- und Drogenkonsum
3	27	w	22,59	Alkoholkonsum
4	24	w	19,96	Alkohol- und Drogenkonsum
5	24	w	20,05	
6	26	m	24,58	
7	25	w	(fehlt)	
8	25	m	23,15	
9	39	m	23,55	
10	52	w	24,22	
11	33	w	22,49	
12	27	w	21,50	
13	30	w	19,65	

14	26	w	21,63	
15	35	w	19,68	
16	41	w	25,50	
17	36	w	24,70	
18	36	w	25,90	
	∅ 31,0	w=14 m=4	∅ 22,7	

9. Literaturverzeichnis

- Abdali, D., S. E. Samson and A. K. Grover (2015). "How effective are antioxidant supplements in obesity and diabetes?" Med Princ Pract **24**(3): 201-215.
- Adams, T. D., A. M. Stroup, R. E. Gress, K. F. Adams, E. E. Calle, S. C. Smith, R. C. Halverson, S. C. Simper, P. N. Hopkins and S. C. Hunt (2009). "Cancer incidence and mortality after gastric bypass surgery." Obesity (Silver Spring) **17**(4): 796-802.
- Aggarwal, B. B. and B. Sung (2009). "Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets." Trends Pharmacol Sci **30**(2): 85-94.
- Alberdi, G., V. M. Rodríguez, J. Miranda, M. T. Macarulla, N. Arias, C. Andrés-Lacueva and M. P. Portillo (2011). "Changes in white adipose tissue metabolism induced by resveratrol in rats." Nutr Metab (Lond) **8**(1): 29.
- Almeida, L., M. Vaz-da-Silva, A. Falcão, E. Soares, R. Costa, A. I. Loureiro, C. Fernandes-Lopes, J. F. Rocha, T. Nunes, L. Wright and P. Soares-da-Silva (2009). "Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers." Mol Nutr Food Res **53** Suppl 1: S7-15.
- Amiot, M. J., B. Romier, T. M. Dao, R. Fanciullino, J. Ciccolini, R. Burcelin, L. Pechere, C. Emond, J. F. Savouret and E. Seree (2013). "Optimization of trans-Resveratrol bioavailability for human therapy." Biochimie **95**(6): 1233-1238.
- Amri, A., J. C. Chaumeil, S. Sfar and C. Charrueau (2012). "Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations?" J Control Release **158**(2): 182-193.
- Anand, P., A. B. Kunnumakkara, R. A. Newman and B. B. Aggarwal (2007). "Bioavailability of curcumin: problems and promises." Molecular pharmaceutics **4**(6): 807-818.
- Anderson, E. K., D. A. Gutierrez and A. H. Hasty (2011). "Adipose Tissue Recruitment of Leukocytes." Curr Opin Lipidol. **21**(3): 172–177.
- Angrisani, L., A. Santonicola, P. Iovino, A. Vitiello, N. Zundel, H. Buchwald and N. Scopinaro (2017). "Bariatric Surgery and Endoluminal Procedures: IFSO Worldwide Survey 2014." Obes Surg **27**(9): 2279-2289.
- Apovian, C. M. and N. Gokce (2012). "Obesity and cardiovascular disease." Circulation **125**(9): 1178-1182.
- Arruda, A. P., B. M. Pers, G. Parlakgöl, E. Güney, K. Inouye and G. S. Hotamisligil (2014). "Chronic enrichment of hepatic endoplasmic reticulum-mitochondria contact leads to mitochondrial dysfunction in obesity." Nat Med **20**(12): 1427-1435.
- Arterburn, D. E. and A. P. Courcoulas (2014). "Bariatric surgery for obesity and metabolic conditions in adults." BMJ **349**: g3961.
- Ashrafian, H., K. Ahmed, S. P. Rowland, V. M. Patel, N. J. Gooderham, E. Holmes, A. Darzi and T. Athanasiou (2011). "Metabolic surgery and cancer: protective effects of bariatric procedures." Cancer **117**(9): 1788-1799.
- Atlas, S. A. (2007). "The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition." Journal of Managed Care Pharmacy **13**: S9-S20.
- Bankoglu, E. E. (2016). Oxidative status and genomic damage in an obesity model, Julius-Maximilians-Universität Würzburg.
- Bankoglu, E. E., C. Arnold, I. Hering, M. Hankir, F. Seyfried and H. Stopper (2018). "Decreased Chromosomal Damage in Lymphocytes of Obese Patients After Bariatric Surgery." Sci Rep **8**(1): 11195.
- Bankoglu, E. E., F. Seyfried, C. Arnold, A. Soliman, C. Jurowich, C. T. Germer, C. Otto

- and H. Stopper (2017). "Reduction of DNA damage in peripheral lymphocytes of obese patients after bariatric surgery-mediated weight loss." Mutagenesis.
- Baur, J. A. and D. A. Sinclair (2006). "Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence." Nat Rev Drug Discov **5**(6): 493-506.
- Becker, D. A., L. J. Balcer and S. L. Galetta (2012). "The Neurological Complications of Nutritional Deficiency following Bariatric Surgery." J Obes **2012**: 608534.
- Bekay, R. E., M. Álvarez, J. Monteseirín, G. Álba, P. Chacon, A. Vega, J. Martin-Nieto, J. Jiménez, E. Pintado, F. J. Bedoya and F. Sobrino (2003). "Oxidative stress is a critical mediator of the angiotensin II signal in human neutrophils: involvement of mitogen-activated protein kinase, calcineurin, and the transcription factor NF- κ B." Blood **102**: 662-671.
- Belia, S., G. Lupattelli, E. Urbani, G. Vaudo, A. R. Roscini, S. Perni and V. Marsili (2014). "Oxidative balance in lymphocytes from patients with nonalcoholic steatohepatitis." Am J Med Sci **348**(1): 30-36.
- Bell, L. N., C. J. Temm, R. Saxena, R. Vuppalachchi, P. Schauer, M. Rabinovitz, A. Krasinskas, N. Chalasani and S. G. Mattar (2010). "Bariatric surgery-induced weight loss reduces hepatic lipid peroxidation levels and affects hepatic cytochrome P-450 protein content." Ann Surg **251**(6): 1041-1048.
- Berg, A., S. C. Bischoff, G. Buchholz, M. Colombo-Benkmann, T. Ellrott, A. Hamann, H. Hauner, C. Heintze, B. Husemann, U. Kanthak, B. Koletzko, D. Kunze, H. Liebermeister, E. Shang, N. Stefan, M. Teufel, M. Wabitsch, J. Westenhöfer, A. Wirth and G. Wolfram. (2013). "Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur „Prävention und Therapie der Adipositas“."
- Bisht, K., K. H. Wagner and A. C. Bulmer (2010). "Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto- and DNA-protective dietary compounds." Toxicology **278**(1): 88-100.
- Boesing, F., E. A. Moreira, D. Wilhelm-Filho, S. V. Vigil, E. B. Parizotto, D. B. Inácio, G. V. Portari, E. B. Trindade, A. A. Jordão-Júnior and T. S. Fröde (2010). "Roux-en-Y bypass gastroplasty: markers of oxidative stress 6 months after surgery." Obes Surg **20**(9): 1236-1244.
- Bolognesi, C., C. Lando, A. Forni, E. Landini, R. Scarpato, L. Migliore and S. Bonassi (1999). "Chromosomal damage and ageing: effect on micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes." Age Ageing **28**(4): 393-397.
- Bonassi, S., A. Znaor, M. Ceppi, C. Lando, W. P. Chang, N. Holland, M. Kirsch-Volders, E. Zeiger, S. Ban, R. Barale, M. P. Bigatti, C. Bolognesi, A. Cebulska-Wasilewska, E. Fabianova, A. Fucic, L. Hagmar, G. Joksic, A. Martelli, L. Migliore, E. Mirkova, M. R. Scarfi, A. Zijno, H. Norppa and M. Fenech (2007). "An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans." Carcinogenesis **28**(3): 625-631.
- Bramlage, P., D. Pittrow, H. U. Wittchen, W. Kirch, S. Boehler, H. Lehnert, M. Hoefler, T. Unger and A. M. Sharma (2004). "Hypertension in overweight and obese primary care patients is highly prevalent and poorly controlled." Am J Hypertens **17**(10): 904-910.
- Brown, C. D., M. Higgins, K. A. Donato, F. C. Rohde, R. Garrison, E. Obarzanek, N. D. Ernst and M. Horan (2000). "Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia." Obes Res **8**(9): 605-619.
- Buchwald, H., Y. Avidor, E. Braunwald, M. D. Jensen, W. Pories, K. Fahrbach and K. Schoelles (2004). "Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis." JAMA **292**(14): 1724-1737.
- Buchwald, H., R. Estok, K. Fahrbach, D. Banel, M. D. Jensen, W. J. Pories, J. P. Bantle and I. Sledge (2009). "Weight and Type 2 Diabetes after Bariatric Surgery: Systematic Review and Meta-analysis." The American Journal of Medicine **122**: 248-256.

- Buyukkaya, E., M. F. Karakas, E. Karakas, A. B. Akçay, I. H. Tanboga, M. Kurt and N. Sen (2014). "Correlation of neutrophil to lymphocyte ratio with the presence and severity of metabolic syndrome." *Clin Appl Thromb Hemost* **20**(2): 159-163.
- Cabrera, E. J., A. C. Valezi, V. D. Delfino, E. L. Lavado and D. S. Barbosa (2010). "Reduction in plasma levels of inflammatory and oxidative stress indicators after Roux-en-Y gastric bypass." *Obes Surg* **20**(1): 42-49.
- Cai, H. and D. G. Harrison (2000). "Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress." *Circ Res* **87**(10): 840-844.
- Cai, Q., R. O. Rahn and R. Zhang (1997). "Dietary flavonoids, quercetin, luteolin and genistein, reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals." *Cancer Lett* **119**(1): 99-107.
- Calabrese, E. J., M. P. Mattson and V. Calabrese (2010). "Resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance." *Hum Exp Toxicol* **29**(12): 980-1015.
- Calle, E. E. and R. Kaaks (2004). "Overweight, obesity and cancer: Epidemiological evidence and proposed mechanisms." *Nature Reviews Cancer* **4**(8): 579-591.
- Cameron, A. J., J. E. Shaw and P. Z. Zimmet (2004). "The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations." *Endocrinol Metab Clin North Am* **33**(2): 351-375, table of contents.
- Cao, J., L. P. Jiang, Y. Liu, G. Yang, X. F. Yao and L. F. Zhong (2007). "Curcumin-induced genotoxicity and antigenotoxicity in HepG2 cells." *Toxicol* **49**(8): 1219-1222.
- Carnethon, M. R., P. J. De Chavez, M. L. Biggs, C. E. Lewis, J. S. Pankow, A. G. Bertoni, S. H. Golden, K. Liu, K. J. Mukamal, B. Campbell-Jenkins and A. R. Dyer (2012). "Association of weight status with mortality in adults with incident diabetes." *JAMA* **308**(6): 581-590.
- Castañeda-Ovando, A., M. Pacheco-Hernández, M. E. Páez-Hernández, J. A. Rodríguez and C. Galán-Vidal (2009). "Chemical studies of anthocyanins: A review." *Food Chemistry* **113**: 859-871.
- Catalgol, B., S. Batirel, Y. Taga and N. K. Ozer (2012). "Resveratrol: French paradox revisited." *Front Pharmacol* **3**: 141.
- Ceriello, A., N. Bortolotti, E. Motz, C. Pieri, M. Marra, L. Tonutti, S. Lizzio, F. Feletto, B. Catone and C. Taboga (1999). "Meal-induced oxidative stress and low-density lipoprotein oxidation in diabetes: the possible role of hyperglycemia." *Metabolism* **48**(12): 1503-1508.
- Chan, D. C., H. P. Barrett and G. F. Watts (2004). "Dyslipidemia in visceral obesity: mechanisms, implications, and therapy." *Am J Cardiovasc Drugs* **4**(4): 227-246.
- Chang, S.-H., C. R. T. Stoll, J. Song, E. Varela, C. J. Eagon and G. A. Colditz (2014). "The Effectiveness and Risks of Bariatric Surgery." *JAMA Surg* **149**: 275-287.
- Chen, S. B., Y. C. Lee, K. H. Ser, J. C. Chen, S. C. Chen, H. F. Hsieh and W. J. Lee (2009). "Serum C-reactive protein and white blood cell count in morbidly obese surgical patients." *Obes Surg* **19**(4): 461-466.
- Cho, Y. M. (2014). "A gut feeling to cure diabetes: potential mechanisms of diabetes remission after bariatric surgery." *Diabetes Metab J* **38**(6): 406-415.
- Circu, M. L. and T. Y. Aw (2010). "Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis." *Free Radic Biol Med* **48**(6): 749-762.
- Corbi, S. C., A. S. Bastos, S. R. Orrico, R. Secolin, R. A. Dos Santos, C. S. Takahashi and R. M. Scarel-Caminaga (2014). "Elevated micronucleus frequency in patients with type 2 diabetes, dyslipidemia and periodontitis." *Mutagenesis*: geu043.
- Cottam, D. R., P. A. Schaefer, G. W. Shaftan and L. D. Angus (2003). "Dysfunctional immune-privilege in morbid obesity: implications and effect of gastric bypass surgery." *Obes Surg* **13**(1): 49-57.
- Cottam, D. R., P. A. Schaefer, G. W. Shaftan, L. Velcu and L. D. Angus (2002). "Effect

- of surgically-induced weight loss on leukocyte indicators of chronic inflammation in morbid obesity." *Obes Surg* **12**(3): 335-342.
- Courcoulas, A. P., N. J. Christian, S. H. Belle and P. D. Berk (2013). "Weight Change and Health Outcomes at 3 Years After Bariatric Surgery Among Individuals With Severe Obesity." *JAMA*: 2416-2425.
- Cracowski, J. L., J. P. Baguet, O. Ormezzano, J. Bessard, F. Stanke-Labesque, G. Bessard and J. M. Mallion (2003). "Lipid peroxidation is not increased in patients with untreated mild-to-moderate hypertension." *Hypertension* **41**(2): 286-288.
- D'Archivio, M., C. Filesi, R. Vari, B. Scazzocchio and R. Masella (2010). "Bioavailability of the polyphenols: status and controversies." *Int J Mol Sci* **11**(4): 1321-1342.
- da Silva, V. R., E. A. Moreira, D. Wilhelm-Filho, J. X. de Miranda, J. P. Beninca, S. V. Vigil, A. M. Moratelli, T. R. Garlet, M. S. de Souza Meirelles, H. Vannucchi and T. S. Frode (2012). "Proinflammatory and oxidative stress markers in patients submitted to Roux-en-Y gastric bypass after 1 year of follow-up." *Eur J Clin Nutr* **66**(8): 891-899.
- Dadalt, C., R. L. Fagundes, E. A. Moreira, D. Wilhelm-Filho, M. B. de Freitas, A. A. Jordao Junior, F. Biscaro, R. C. Pedrosa and H. Vannucchi (2013). "Oxidative stress markers in adults 2 years after Roux-en-Y gastric bypass." *Eur J Gastroenterol Hepatol* **25**(5): 580-586.
- de Kloet, A. D., E. G. Krause and S. C. Woods (2010). "The renin angiotensin system and the metabolic syndrome." *Physiology and Behavior* **100**: 525-534.
- Del Pozo-Insfran, D., S. S. Percival and S. T. Talcott (2006). "Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells." *J Agric Food Chem* **54**(4): 1222-1229.
- DeMarco, V. G., A. R. Aroor and J. R. Sowers (2014). "The pathophysiology of hypertension in patients with obesity." *Nat Rev Endocrinol* **10**(6): 364-376.
- Deutsche Adipositas Gesellschaft (DAG e. V.). (2012). "Definition der Adipositas." Retrieved 06.10.2018, 2016, from <http://www.adipositas-gesellschaft.de/index.php?id=39>.
- Devi, P. S., M. S. Kumar and S. M. Das (2011). "Evaluation of antiproliferative activity of red sorghum bran anthocyanin on a human breast cancer cell line (mcf-7)." *Int J Breast Cancer* **2011**: 891481.
- Devi, P. S., M. Saravanakumar and S. Mohandas (2011). "Identification of 3-deoxyanthocyanins from red sorghum (*Sorghum bicolor*) bran and its biological properties." *African Journal of Pure and Applied Chemistry* **5**(7): 181-193.
- Devi, P. S., M. S. Saravanakumar and S. M. Das (2012). "DNA Damage Protecting Activity and Free Radical Scavenging Activity of Anthocyanins from Red Sorghum (*Sorghum bicolor*) Bran." *Biotechnol Res Int* **2012**: 258787.
- Dieterle, C. and R. Landgraf (2006). "[Comorbidities and complications of adiposis]." *Internist (Berl)* **47**(2): 141-149.
- Dixon, A. E. P., R. E.; Forgione, P. M. et al. (2011). "Effects of obesity and bariatric surgery on airway hyperresponsiveness, asthma control, and inflammation." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **128**: 508-515.
- Donmez-Altuntas, H., F. Sahin, F. Bayram, N. Bitgen, M. Mert, K. Guclu, Z. Hamurcu, S. Aribas, K. Gundogan and H. Diri (2014). "Evaluation of chromosomal damage, cytostasis, cytotoxicity, oxidative DNA damage and their association with body-mass index in obese subjects." *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* **771**: 30-36.
- Duvvuri, L. S., S. Katiyar, A. Kumar and W. Khan (2015). "Delivery aspects of antioxidants in diabetes management." *Expert Opin. Drug Deliv.* **12**: 827-844.
- Engeli, S., J. Böhnke, K. Gorzelniak, J. Janke, P. Schling, M. Bader, F. C. Luft and A. M. Sharma (2005). "Weight Loss and the Renin-Angiotensin-Aldosterone System." *Hypertension* **45**: 256-362.

- Ertle, J., A. Dechêne, J. P. Sowa, V. Penndorf, K. Herzer, G. Kaiser, J. F. Schlaak, G. Gerken, W. K. Syn and A. Canbay (2011). "Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis." Int J Cancer **128**(10): 2436-2443.
- Fan, Y., J. F. Chiu, J. Liu, Y. Deng, C. Xu, J. Zhang and G. Li (2018). "Resveratrol induces autophagy-dependent apoptosis in HL-60 cells." BMC Cancer **18**(1): 581.
- Farey, J. E., T. C. Preda, O. M. Fisher, A. J. Levert-Mignon, R. L. Stewart, E. Karsten, B. R. Herbert, M. M. Swarbrick and R. V. Lord (2017). "Effect of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy on Fasting Gastrointestinal, Pancreatic, and Adipose-Derived Hormones and on Non-Esterified Fatty Acids." Obes Surg **27**(2): 399-407.
- Fazeli, G., H. Stopper, R. Schinzel, C. W. Ni, H. Jo and N. Schupp (2012). "Angiotensin II induces DNA damage via AT1 receptor and NADPH oxidase isoform Nox4." Mutagenesis **27**(6): 673-681.
- Fenech, M. (2000). "The in vitro micronucleus technique." Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis **455**(1): 81-95.
- Fenech, M. and S. Bonassi (2011). "The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes." Mutagenesis **26**(1): 43-49.
- Fenech, M., W. P. Chang, M. Kirsch-Volders, N. Holland, S. Bonassi and E. Zeiger (2003). "HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures." Mutat Res **534**(1-2): 65-75.
- Fenech, M., N. Holland, E. Zeiger, W. P. Chang, S. Burgaz, P. Thomas, C. Bolognesi, S. Knasmueller, M. Kirsch-Volders and S. Bonassi (2011). "The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells--past, present and future." Mutagenesis **26**(1): 239-245.
- Festa, A., R. D'Agostino, K. Williams, A. J. Karter, E. J. Mayer-Davis, R. P. Tracy and S. M. Haffner (2001). "The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation." International Journal of Obesity **25**(10): 1407-1415.
- Freisling, H., M. Arnold, I. Soerjomataram, M. G. O'Doherty, J. M. Ordóñez-Mena, C. Bamia, E. Kampman, M. Leitzmann, I. Romieu, F. Kee, K. Tsilidis, A. Tjønneland, A. Trichopoulou, P. Boffetta, V. Benetou, H. B. A. Bueno-de-Mesquita, J. M. Huerta, H. Brenner, T. Wilsgaard and M. Jenab (2017). "Comparison of general obesity and measures of body fat distribution in older adults in relation to cancer risk: meta-analysis of individual participant data of seven prospective cohorts in Europe." Br J Cancer **116**(11): 1486-1497.
- Friedberg, E. (2003). "DNA damage and repair." Nature **421**: 436-440.
- Funk, J. L., J. B. Frye, J. N. Oyarzo, N. Kuscuoglu, J. Wilson, G. McCaffrey, G. Stafford, G. Chen, R. C. Lantz, S. D. Jolad, A. M. Solyom, P. R. Kiela and B. N. Timmermann (2006). "Efficacy and mechanism of action of turmeric supplements in the treatment of experimental arthritis." Arthritis Rheum **54**(11): 3452-3464.
- Furukawa, S., T. Fujita, M. Shimabukuro, M. Iwaki, Y. Yamada, Y. Nakajima, O. Nakayama, M. Makishima, M. Matsuda and I. Shimomura (2004). "Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome." J Clin Invest **114**(12): 1752-1761.
- Furuncuoğlu, Y., S. Tulgar, A. Dogan, S. Cakar, Y. Tulgar and B. Cakiroglu (2016). "How obesity affects the neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio, systemic immune-inflammatory index and platelet indices: a retrospective study." European review for medical and pharmacological sciences **20**(7): 1300-1306.

- Gandhi, G. and A. K. Saini (2013). "DNA Damage And Obesity In Diabetic Patients." George, V. C., G. Dellaire and H. P. V. Rupasinghe (2017). "Plant flavonoids in cancer chemoprevention: role in genome stability." J Nutr Biochem **45**: 1-14.
- Giacchetti, G., L. A. Sechi, S. Rilli and R. M. Carey (2005). "The renin–angiotensin–aldosterone system, glucose metabolism and diabetes." Trends in Endocrinology and Metabolism **16**: 120-126.
- Giannini, E. G., R. Testa and V. Savarino (2005). "Liver enzyme alteration: a guide for clinicians." CMAJ **172**(3): 367-379.
- Giovannucci, E., D. M. Harlan, M. C. Archer, R. M. Bergenstal, S. M. Gapstur, L. A. Habel, M. Pollak, J. G. Regensteiner and D. Yee (2010). "Diabetes and cancer: a consensus report." CA Cancer J Clin **60**(4): 207-221.
- Gletsu-Miller, N., J. M. Hansen, D. P. Jones, Y. M. Go, W. E. Torres, T. R. Ziegler and E. Lin (2009). "Loss of total and visceral adipose tissue mass predicts decreases in oxidative stress after weight-loss surgery." Obesity (Silver Spring) **17**(3): 439-446.
- Gloy, V. L., M. Briel, D. L. Bhatt, S. R. Kashyap, P. R. Schauer, G. Mingrone, H. C. Bucher and A. J. Nordmann (2013). "Bariatric surgery versus non-surgical treatment for obesity: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials." BMJ **347**: f5934.
- Goldstein, B. J., K. Mahadev, X. Wu, L. Zhu and H. Motoshima (2005). "Role of Insulin-Induced Reactive Oxygen Species in the Insulin Signaling Pathway." Antioxid Redox Signal. **7**: 1021-1031.
- Griendling, K. K., C. A. Minieri, J. D. Ollerenshaw and R. W. Alexander (1994). "AngiotensinII Stimulates NADH and NADPH Oxidase Activity in Cultured Vascular Smooth Muscle Cells." Circulation Research **74**: 1141-1148.
- Gutt, C., C. Jenssen, A. P. Barreiros, T. O. Götze, C. S. Stokes, P. L. Jansen, M. Neubrand, F. Lammert, f. d. T. d. Konsensuskonferenz, D. G. f. I. M. e. V. (DGIM), Ö. G. f. G. u. H. (ÖGGH), S. G. f. G. (SGH), G. f. H. (GfH), D. G. f. U. i. d. M. (DEGUM), D. G. f. C. (DGCH), I. f. Q. u. T. i. G. (IQTIG, b. F. o. Stimmrecht), D. A. z. S. d. L. (GASL), D. R. (DRG) and D. L. e. V. (2018). "[Updated S3-Guideline for Prophylaxis, Diagnosis and Treatment of Gallstones. German Society for Digestive and Metabolic Diseases (DGVS) and German Society for Surgery of the Alimentary Tract (DGAV) - AWMF Registry 021/008]." Z Gastroenterol **56**(8): 912-966.
- Halazonetis, T. D., V. G. Gorgoulis and J. Bartek (2008). "An oncogene-induced DNA damage model for cancer development." Science **319**(5868): 1352-1355.
- Halbirk, M., H. Nørrelund, N. Møller, O. Schmitz, H. E. Bøtker and H. Wiggers (2010). "Short-term changes in circulating insulin and free fatty acids affect Nt-pro-BNP levels in heart failure patients." Int J Cardiol **144**(1): 140-142.
- Hall, T. C., M. G. Pellen, P. C. Sedman and P. K. Jain (2010). "Preoperative factors predicting remission of type 2 diabetes mellitus after Roux-en-Y gastric bypass surgery for obesity." Obes Surg **20**(9): 1245-1250.
- Hauer, H., A. Berg, S. C. Bischoff, M. Colombo-Benkmann, T. Ellrott, H. Heintze, U. Kanthak and D. Kunze (2014). "Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur „Prävention und Therapie der Adipositas“."
- Hauer, H., A. Moss, A. Berg, S. C. Bischoff, M. Colombo-Benkmann, T. Ellrott, U. Kanthak, D. Kunze, N. Stefan, M. Teufel, M. Wabitsch and A. Wirth (2017). "Adipositas und Diabetes mellitus." Diabetologie und Stoffwechsel **12**(S 02): 157-163.
- Hayden, M. R. and S. C. Tyagi (2002). "Islet redox stress: the manifold toxicities of insulin resistance, metabolic syndrome and amylin derived islet amyloid in type 2 diabetes mellitus." JOP **3**(4): 86-108.
- Heilbronn, L. K., L. de Jonge, M. I. Frisard, J. P. DeLany, D. E. Larson-Meyer, J. Rood,

- T. Nguyen, C. K. Martin, J. Volaufova, M. M. Most, F. L. Greenway, S. R. Smith, W. A. Deutsch, D. A. Williamson, E. Ravussin and P. C. Team (2006). "Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial." JAMA **295**(13): 1539-1548.
- Hirata, Y. and H. Satonaka (2001). "Hypertension and Oxidative Stress." Journal of the Japan Medical Association **124**: 1575-1579.
- Holland, N., C. Bolognesi, M. Kirsch-Volders, S. Bonassi, E. Zeiger, S. Knasmueller and M. Fenech (2008). "The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps." Mutat Res **659**(1-2): 93-108.
- Holst, B. and G. Williamson (2008). "Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants." Curr Opin Biotechnol **19**(2): 73-82.
- Holst, J. J. and J. Gromada (2004). "Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans." Am J Physiol Endocrinol Metab **287**(2): E199-206.
- Horwath, J. A., C. Hurr, S. D. Butler, M. Guruju, M. D. Cassell, A. L. Mark, R. L. Davissou and C. N. Young (2017). "Obesity-induced hepatic steatosis is mediated by endoplasmic reticulum stress in the subfornical organ of the brain." JCI Insight **2**(8).
- Hotamisligil, G. S. (2006). "Inflammation and metabolic disorders." Nature **444**: 860-867.
- Hou, D. X., T. Ose, S. Lin, K. Harazoro, I. Imamura, M. Kubo, T. Uto, N. Terahara, M. Yoshimoto and M. Fujii (2003). "Anthocyanidins induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells: structure-activity relationship and mechanisms involved." Int J Oncol **23**(3): 705-712.
- Hüttl, T. P., F. W. F. Obeidat, K. G. Parhofer, N. Zügel, P. E. Hüttl, K.-W. Jauch and R. A. Lang (2009). "Operative Techniken und deren Outcome in der metabolischen Chirurgie: Sleeve-Gastrektomie." Zentralblatt für Chirurgie **134**: 24-31.
- Ibero-Baraibar, I., A. Azqueta, A. Lopez de Cerain, J. A. Martinez and M. A. Zulet (2015). "Assessment of DNA damage using comet assay in middle-aged overweight/obese subjects after following a hypocaloric diet supplemented with cocoa extract." Mutagenesis **30**(1): 139-146.
- Inge, T. H., A. P. Courcoulas, T. M. Jenkins, M. P. Michalsky, M. A. Helmrath, M. L. Brandt, C. M. Harmon, M. H. Zeller, M. K. Chen, S. A. Xanthakos, M. Horlick and C. R. Buncer (2016). "Weight Loss and Health Status 3 Years after Bariatric Surgery in Adolescents." The New England Journal of Medicine **374**(2): 113-123.
- Inzucchi, S. E. (2002). "Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review." JAMA **287**(3): 360-372.
- Isbell, J. M., R. A. Tamboli, E. N. Hansen, J. Saliba, J. P. Dunn, S. E. Phillips, P. A. Marks-Shulman and N. N. Abumrad (2010). "The Importance of Caloric Restriction in the Early Improvements in Insulin Sensitivity After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery." Diabetes Care **33**: 1438-1422.
- Jackson, S. P. and J. Bartek (2009). "The DNA-damage response in human biology and disease." Nature **461**(7267): 1071-1078.
- Jagielski, A. C., A. Brown, M. Hosseini-Araghi, G. N. Thomas and S. Taheri (2014). "The association between adiposity, mental well-being, and quality of life in extreme obesity." PLoS One **9**(3): e92859.
- Jahansouz, C., F. J. Serrot, B. I. Frohnert, R. E. Foncea, R. B. Dorman, B. Slusarek, D. B. Leslie, D. A. Bernlohr and S. Ikramuddin (2015). "Roux-en-Y Gastric Bypass Acutely Decreases Protein Carbonylation and Increases Expression of Mitochondrial Biogenesis Genes in Subcutaneous Adipose Tissue." Obes Surg **25**(12): 2376-2385.

- Jahn, J., M. Spielau, C. Brandsch, G. I. Stangl, K. S. Delank, I. Bähr, T. Berreis, C. D. Wrann and H. Kielstein (2015). "Decreased NK cell functions in obesity can be reactivated by fat mass reduction." Obesity (Silver Spring) **23**(11): 2233-2241.
- Jaldappagari, S. M., N.; Gangeenahalli, M. P. et al. (2008). Bioactive Heterocycles VI: Flavonoids and Anthocanins in Plants, and Latest Bioactive Heterocycles I. Bioactive.
- Jones, K. H. and J. A. Senft (1985). "An improved method to determine cell viability by simultaneous staining with fluorescein diacetate-propidium iodide." J Histochem Cytochem **33**(1): 77-79.
- Juan, C.-C., Y. Chien, L.-Y. Wu, W.-M. Yang, C.-L. Chang, Y.-H. Lai, P.-H. Ho, C. F. Kwok and L.-T. Ho (2005). "Angiotensin II enhances insulin sensitivity in vitro and in vivo." Endocrinology **146**(5): 2246-2254.
- Kalupahana, N. S. and N. Moustaid-Moussa (2012). "The renin-angiotensin system: a link between obesity, inflammation and insulin resistance." Obesity Reviews **13**: 126-149.
- Karaman, A., H. Aydın, B. Geçkinli, A. Çetinkaya and S. Karaman (2015). "DNA damage is increased in lymphocytes of patients with metabolic syndrome." Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen **782**: 30-35.
- Karaman, H., A. Karaman, H. Donmez-Altuntas, N. Bitgen, Z. Hamurcu, A. Oguz and C. Karakukcu (2013). "Investigation of genome instability in patients with non-alcoholic steatohepatitis." World J Gastroenterol **19**(32): 5295-5301.
- Kayodé, A. P., M. J. Nout, A. R. Linnemann, J. D. Hounhouigan, E. Berghofer and S. Siebenhandl-Ehn (2011). "Uncommonly high levels of 3-deoxyanthocyanidins and antioxidant capacity in the leaf sheaths of dye sorghum." J Agric Food Chem **59**(4): 1178-1184.
- Keany, J. F., M. G. Larson, R. S. Vasan, P. W. F. Wilson, I. Lipinska, D. Corey, J. M. Massaro, P. Sutherland, J. A. Vita and E. J. Benjamin (2003). "Obesity and Systemic Oxidative Stress Clinical Correlates of Oxidative Stress in The Framingham Study." Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology **23**: 434-439.
- Khoo, H. E., A. Azlan, S. T. Tang and S. M. Lim (2017). "Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits." Food Nutr Res **61**(1): 1361779.
- Kirkinezos, I. G. and C. T. Moraes (2001). "Reactive oxygen species and mitochondrial diseases." Semin Cell Dev Biol **12**(6): 449-457.
- Kong, J. M. C., L.-S.; Goh, N.-K. et al. (2003). "Analysis and biological activities of anthocyanins." Phytochemistry: 923-933.
- Kowdley, K. V. (2000). "Ursodeoxycholic acid therapy in hepatobiliary disease." Am J Med **108**(6): 481-486.
- Kral, J. G., S. N. Thung, S. Biron, F. S. Hould, S. Lebel, S. Marceau, S. Simard and P. Marceau (2004). "Effects of surgical treatment of the metabolic syndrome on liver fibrosis and cirrhosis." SURGERY **135**: 48-58.
- Krauss, R. M., M. Winston, B. J. Fletcher and S. M. Grundy (1998). "Obesity : impact on cardiovascular disease." Circulation **98**(14): 1472-1476.
- Kuo, M.-L., T.-S. Huang and J.-K. Lin (1996). "Curcumin, an antioxidant and anti-tumor promoter, induces apoptosis in human leukemia cells." Biochimica et Biophysica Acta **1317**: 95-100.
- Lamas, O., A. Marti and J. A. Martínez (2002). "Obesity and immunocompetence." Eur J Clin Nutr **56 Suppl 3**: S42-45.
- Lasselin, J., E. Magne, C. Beau, P. Ledaguenel, S. Dexpert, A. Aubert, S. Layé and L. Capuron (2014). "Adipose inflammation in obesity: relationship with circulating levels of inflammatory markers and association with surgery-induced weight loss." J Clin Endocrinol Metab **99**(1): E53-61.

- Le Lay, S., G. Simard, M. C. Martinez and R. Andriantsitohaina (2014). "Oxidative stress and metabolic pathologies: from an adipocentric point of view." Oxid Med Cell Longev **2014**: 908539.
- Lee, C. H., Y. C. Woo, Y. Wang, C. Y. Yeung, A. Xu and K. S. Lam (2015). "Obesity, adipokines and cancer: an update." Clin Endocrinol (Oxf) **83**(2): 147-156.
- Lee, J. H., Q. N. Nguyen and Q. A. Le (2016). "Comparative effectiveness of 3 bariatric surgery procedures: Roux-en-Y gastric bypass, laparoscopic adjustable gastric band, and sleeve gastrectomy." Surg Obes Relat Dis **12**(5): 997-1002.
- Lewinska, A., J. Adamczyk, J. Pajak, S. Stoklosa, B. Kubis, P. Pastuszek, E. Slota and M. Wnuk (2014). "Curcumin-mediated decrease in the expression of nucleolar organizer regions in cervical cancer (HeLa) cells." Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen **771**: 43-52.
- Li, J. F., D. D. Lai, B. Ni and K. X. Sun (2013). "Comparison of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass with laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity or type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized controlled trials." Can J Surg **56**(6): E158-164.
- Lips, M. A., J. B. van Klinken, H. Pijl, I. Janssen, K. Willems van Dijk, F. Koning and V. van Harmelen (2016). "Weight loss induced by very low calorie diet is associated with a more beneficial systemic inflammatory profile than by Roux-en-Y gastric bypass." Metabolism **65**(11): 1614-1620.
- Lo Menzo, E., S. Szomstein and R. J. Rosenthal (2015). "Changing trends in bariatric surgery." Scand J Surg **104**(1): 18-23.
- López-Otín, C., L. Galluzzi, J. M. Freije, F. Madeo and G. Kroemer (2016). "Metabolic Control of Longevity." Cell **166**(4): 802-821.
- Machado, M. V. and A. M. Diehl (2016). "Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis." Gastroenterology **150**(8): 1769-1777.
- Maffei, F., J. M. Zolezzi Moraga, S. Angelini, C. Zenesini, M. Musti, D. Festi, G. Cantelli-Forti and P. Hrelia (2014). "Micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes as a biomarker for the early detection of colorectal cancer risk." Mutagenesis **29**(3): 221-225.
- Maggard, M. S., L; Suttorp, M et al. (2005). "Meta-Analysis: Surgical Treatment of Obesity." Annals of Internal Medicine **142**.
- Maggard-Gibbons, M., M. Maglione, M. Livhits, B. Ewing, A. R. Maher, J. Hu, Z. Li and P. G. Shekelle (2013). "Bariatric surgery for weight loss and glycemic control in nonmorbidly obese adults with diabetes: a systematic review." JAMA **309**(21): 2250-2261.
- Mahakunakorn, P., M. Tohda, Y. Murakami, K. Matsumoto, H. Watanabe and O. Vajaragupta (2003). "Cytoprotective and cytotoxic effects of curcumin: dual action on H₂O₂-induced oxidative cell damage in NG108-15 cells." Biol Pharm Bull **26**(5): 725-728.
- Maki, K. C., M. S. Reeves, M. Farmer, K. Yasunaga, N. Matsuo, Y. Katsuragi, M. Komikado, I. Tokimitsu, D. Wilder, F. Jones, J. B. Blumberg and Y. Cartwright (2009). "Green tea catechin consumption enhances exercise-induced abdominal fat loss in overweight and obese adults." J Nutr **139**(2): 264-270.
- Manning, P. J., W. H. Sutherland, R. J. Walker, S. M. Williams, S. A. De Jong, A. R. Ryalls and E. A. Berry (2004). "Effect of high-dose vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects." Diabetes Care **27**(9): 2166-2171.
- Martí, A., A. Marcos and J. A. Martínez (2001). "Obesity and immune function relationships." obesity reviews **2**: 131-140.
- Mazza, F., A. Goodman, G. Lombardo, A. Vanella and N. G. Abraham (2003). "Heme Oxygenase-1 Gene Expression Attenuates Angiotensin II-Mediated DNA Damage in Endothelial Cells." Exp Biol Med **228**: 576-583.

- Mechanick, J. I., A. Youdim, D. B. Jones, W. T. Garvey, D. L. Hurley, M. M. McMahon, L. J. Heinberg, R. Kushner, T. D. Adams, S. Shikora, J. B. Dixon, S. Brethauer, A. A. o. C. Endocrinologists, O. Society and A. S. f. M. B. Surgery (2013). "Clinical practice guidelines for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the bariatric surgery patient--2013 update: cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists, The Obesity Society, and American Society for Metabolic & Bariatric Surgery." Obesity (Silver Spring) **21 Suppl 1**: S1-27.
- Melmed, S., K. S. Polonsky, P. R. Larsen and H. M. Kronenberg (2011). Williams Textbook of Endocrinology. Philadelphia, Elsevier Saunders.
- Mena, S., A. Ortega and J. M. Estrela (2009). "Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis." Mutat Res **674**(1-2): 36-44.
- Mendis, S., E. O'Brien, Y. K. Seedat and S. Yusuf (2013). "Hypertension and diabetes: entry points for prevention and control of the global cardiovascular epidemic." Int J Hypertens **2013**: 878460.
- Menguer, R. K., A. C. Weston and H. Schmid (2017). "Evaluation of Metabolic Syndrome in morbidly Obese Patients Submitted to Laparoscopic Bariatric Surgery: Comparison of the Results between Roux-En-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy." Obes Surg.
- Miller, G. D., B. J. Nicklas and A. Fernandez (2011). "Serial changes in inflammatory biomarkers after Roux-en-Y gastric bypass surgery." Surg Obes Relat Dis **7**(5): 618-624.
- Mineo, C., H. Deguchi, J. H. Griffin and P. W. Shaul (2006). "Endothelial and antithrombotic actions of HDL." Circ Res **98**(11): 1352-1364.
- Mingrone, G. P., S.; DeGaetano, A. et al. (2012). "Bariatric Surgery versus Conventional Medical Therapy for Type 2 Diabetes." The New England Journal of Medicine: 1577-1585.
- Miras, A. D. and C. W. Le Roux (2014). "Can medical therapy mimic the clinical efficacy or physiological effects of bariatric surgery?" International Journal of Obesity **38**: 325-333.
- Morrison, K. M., S. Shin, M. Tarnopolsky and V. H. Taylor (2015). "Association of depression & health related quality of life with body composition in children and youth with obesity." J Affect Disord **172**: 18-23.
- Morshed, G. and S. M. Fathy (2016). "Impact of post-laparoscopic sleeve gastrectomy weight loss on C-reactive protein, lipid profile and CA-125 in morbidly obese women." Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne **10**(4): 521-526.
- Moulin, C. M., I. Marguti, J. P. Peron, A. Halpern and L. V. Rizzo (2011). "Bariatric surgery reverses natural killer (NK) cell activity and NK-related cytokine synthesis impairment induced by morbid obesity." Obes Surg **21**(1): 112-118.
- Mukherjee, S., J. I. Dudley and D. K. Das (2010). "Dose-dependency of resveratrol in providing health benefits." Dose Response **8**(4): 478-500.
- Murri, M., E. Garcia-Fuentes, J. M. Garcia-Almeida, L. Garrido-Sanchez, M. D. Mayas, R. Bernal and F. J. Tinahones (2010). "Changes in oxidative stress and insulin resistance in morbidly obese patients after bariatric surgery." Obes Surg **20**(3): 363-368.
- Nagy, L. I., L. Z. Feher, G. J. Szebeni, M. Gyuris, P. Sipos, R. Alfoldi, B. Ozsvari, L. Hackler, Jr., A. Balazs, P. Batar, I. Kanizsai and L. G. Puskas (2015). "Curcumin and its analogue induce apoptosis in leukemia cells and have additive effects with bortezomib in cellular and xenograft models." Biomed Res Int **2015**: 968981.
- Nannipieri, M., C. Gonzales, S. Baldi, R. Posadas, K. Williams, S. M. Haffner, M. P. Stern, E. Ferrannini and M. C. d. study (2005). "Liver enzymes, the metabolic syndrome, and incident diabetes: the Mexico City diabetes study." Diabetes Care **28**(7): 1757-1762.

- Nauck, M., A. Petermann, D. Müller-Wieland, W. Kerner, U. A. Müller, R. Landgraf, G. Freckmann and L. Heinemann (2017). "Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus." Diabetologie **12**: 94-100.
- Nemes, K. and F. Åberg (2017). "Interpreting lipoproteins in nonalcoholic fatty liver disease." Curr Opin Lipidol.
- Nguyen, N. D., E.; Ikramuddin, S.; Hutter, M. (2008). The SAGES Manual - A Practical Guide to Bariatric Surgery.
- Niklason, A., T. Hedner, L. Niskanen and J. Lanke (2004). "Development of diabetes is retarded by ACE inhibition in hypertensive patients – a subanalysis of the Captopril Prevention Project (CAPPP)." Journal of Hypertension **22**: 645-652.
- Ogihara, T., T. Asano, K. Ando, Y. Chiba, H. Sakoda, M. Anai, N. Shojima, H. Ono, Y. Onishi and M. Fujishiro (2002). "Angiotensin II-induced insulin resistance is associated with enhanced insulin signaling." Hypertension **40**(6): 872-879.
- Olive, P. L. and J. P. Banath (2006). "The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells." Nat. Protocols **1**(1): 23-29.
- Orallo, F., E. Alvarez, M. Camiña, J. M. Leiro, E. Gómez and P. Fernández (2002). "The possible implication of trans-Resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption." Mol Pharmacol **61**(2): 294-302.
- Othman, E. M., M. C. Kreissl, F. R. Kaiser, P. A. Arias-Loza and H. Stopper (2013). "Insulin-mediated oxidative stress and DNA damage in LLC-PK1 pig kidney cell line, female rat primary kidney cells, and male ZDF rat kidneys in vivo." Endocrinology **154**(4): 1434-1443.
- Pan, H., W.-L. Chang, S.-Y. Lin-Shiau, C.-T. Ho and J.-K. Lin (2001). "Induction of Apoptosis by Garcinol and Curcumin through Cytochrome c Release and Activation of Caspases in Human Leukemia HL-60 Cells." Journal of agricultural and food chemistry **49**: 1464-1464.
- Pardina, E., R. Ferrer, J. A. Baena-Fustegueras, J. Rivero, A. Lecube, J. M. Fort, V. Vargas, R. Catalán and J. Peinado-Onsurbe (2012). "Only C-reactive protein, but not TNF- α or IL6, reflects the improvement in inflammation after bariatric surgery." Obes Surg **22**(1): 131-139.
- Pareek, M., P. R. Schauer, L. M. Kaplan, L. A. Leiter, F. Rubino and D. L. Bhatt (2018). "Metabolic Surgery: Weight Loss, Diabetes, and Beyond." J Am Coll Cardiol **71**(6): 670-687.
- Pearson, K. J., J. A. Baur, K. N. Lewis, L. Peshkin, N. L. Price, N. Labinsky, W. R. Swindell, D. Kamara, R. K. Minor, E. Perez, H. A. Jamieson, Y. Zhang, S. R. Dunn, K. Sharma, N. Pleshko, L. A. Woollett, A. Csiszar, Y. Ikeno, D. Le Couteur, P. J. Elliott, K. G. Becker, P. Navas, D. K. Ingram, N. S. Wolf, Z. Ungvari, D. A. Sinclair and R. de Cabo (2008). "Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span." Cell Metab **8**(2): 157-168.
- Pereira, C. S., P. Molz, R. P. Palazzo, T. A. de Freitas, S. W. Maluf, J. A. Horta, D. Prá and S. I. Franke (2013). "DNA damage and cytotoxicity in adult subjects with prediabetes." Mutat Res **753**(2): 76-81.
- Peterli, R., Y. Borbély, B. Kern, M. Gass, T. Peters, M. Thurnheer, B. Schultes, K. Laederach, M. Bueter and M. Schiesser (2013). "Early results of the Swiss Multicentre Bypass or Sleeve Study (SM-BOSS): a prospective randomized trial comparing laparoscopic sleeve gastrectomy and Roux-en-Y gastric bypass." Ann Surg **258**(5): 690-694; discussion 695.
- Peterli, R., R. E. Steinert, B. Woelnerhanssen, T. Peters, C. Christoffel-Courtin, M. Gass, B. Kern, M. von Fluee and C. Beglinger (2012). "Metabolic and hormonal changes after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: a randomized, prospective trial." Obes Surg **22**(5): 740-748.
- Peterli, R., B. Wölnerhanssen, T. Peters, N. Devaux, B. Kern, C. Christoffel-Courtin, J.

- Drewe, M. von Flüe and C. Beglinger (2009). "Improvement in glucose metabolism after bariatric surgery: comparison of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and laparoscopic sleeve gastrectomy: a prospective randomized trial." *Ann Surg* **250**(2): 234-241.
- Peterli, R., B. K. Wölnerhanssen, T. Peters, D. Vetter, D. Kröll, Y. Borbély, B. Schultes, C. Beglinger, J. Drewe, M. Schiesser, P. Nett and M. Bueter (2018). "Effect of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy vs Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass on Weight Loss in Patients With Morbid Obesity: The SM-BOSS Randomized Clinical Trial." *JAMA* **319**(3): 255-265.
- Petersen, M. C. and G. I. Shulman (2018). "Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance." *Physiol Rev* **98**(4): 2133-2223.
- Peeverill, W., L. W. Powell and R. Skoien (2014). "Evolving concepts in the pathogenesis of NASH: beyond steatosis and inflammation." *Int J Mol Sci* **15**(5): 8591-8638.
- Pham-Huy, L. A., H. He and C. Pham-Huy (2008). "Free radicals, antioxidants in disease and health." *Int J Biomed Sci* **4**(2): 89-96.
- Pisoschi, A. M. and A. Pop (2015). "The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review." *Eur J Med Chem* **97**: 55-74.
- Pontiroli, A. E., A. Benetti, L. Folini, C. Merlotti and F. Frigè (2013). "Other aspects of bariatric surgery: liver steatosis, ferritin and cholesterol metabolism." *Nutr Hosp* **28 Suppl 2**: 104-108.
- Póvoa, P., E. Almeida, P. Moreira, A. Fernandes, R. Mealha, A. Aragão and H. Sabino (1998). "C-reactive protein as an indicator of sepsis." *Intensive Care Med* **24**(10): 1052-1056.
- Punthakee, Z., R. Goldenberg, P. Katz and D. C. C. P. G. E. Committee (2018). "Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome." *Can J Diabetes* **42 Suppl 1**: S10-S15.
- Puzziferri, N., T. B. Roshek, H. G. Mayo, R. Gallagher, S. H. Belle and E. H. Livingstone (2014). "Long-Term Follow-up After Bariatric Surgery: A Systematic Review." *JAMA* **312**(9): 934-942.
- Quintero Ojeda, J. E., M. Aguilar-Medina, V. Olimón-Andalón, R. A. García Jau, A. Ayala Ham, J. G. Romero Quintana, E. L. Silva-Benítez, G. Sanchez-Schmitz and R. Ramos-Payán (2018). "Increased Micronuclei Frequency in Oral and Lingual Epithelium of Treated Diabetes Mellitus Patients." *Biomed Res Int* **2018**: 4898153.
- Ramalingam, L., K. Menikdiwela, M. LeMieux, J. M. Dufour, G. Kaur, N. Kalupahana and N. Moustaid-Moussa (2016). "The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance." *Biochim Biophys Acta*.
- Ramalingam, L., K. Menikdiwela, M. LeMieux, J. M. Dufour, G. Kaur, N. Kalupahana and N. Moustaid-Moussa (2017). "The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance." *Biochim Biophys Acta* **1863**(5): 1106-1114.
- Ramos, A. A., C. Pereira-Wilson and A. R. Collins (2010). "Protective effects of ursolic acid and luteolin against oxidative DNA damage include enhancement of DNA repair in Caco-2 cells." *Mutat Res* **692**(1-2): 6-11.
- Rani, V., G. Deep, R. K. Singh, K. Palle and U. C. Yadav (2016). "Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies." *Life Sci* **148**: 183-193.
- Rehman, A. G., M. Zwahlen and M. Egger (2015). "Adiposity and cancer risk: new mechanistic insights from epidemiology." *Nat Rev Cancer* **15**(8): 484-498.
- Roberfroid, M. B. (2000). "Concepts and strategy of functional food science: the European perspective." *Am J Clin Nutr* **71**(6 Suppl): 1660S-1664S; discussion 1674S-1665S.

- Roberts, D. L., C. Dive and A. G. Renehan (2010). "Biological Mechanisms Linking Obesity and Cancer Risk: New Perspectives." Annual Review of Medicine **61**: 301-316.
- Rojas, J. L., C.; Ciro, Y. (2016). "The Health Benefits of A Natural UVA Photoprotective Compounds Found in Botanical Sources." International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences **8**(3).
- Rolo, A. P., J. S. Teodoro and C. M. Palmeira (2012). "Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis." Free Radic Biol Med **52**(1): 59-69.
- Roos, D. and M. de Boer (2014). "Molecular diagnosis of chronic granulomatous disease." Clin Exp Immunol **175**(2): 139-149.
- Salmon, A. B., A. Richardson and V. I. Pérez (2010). "Update on the oxidative stress theory of aging: does oxidative stress play a role in aging or healthy aging?" Free Radic Biol Med **48**(5): 642-655.
- Salomone, F., J. Godos and S. Zelber-Sagi (2016). "Natural antioxidants for non-alcoholic fatty liver disease: molecular targets and clinical perspectives." Liver Int **36**(1): 5-20.
- San José, G., J. Bidegain, P. A. Robador, J. Díez, A. Fortuño and G. Zalba (2009). "Insulin-induced NADPH oxidase activation promotes proliferation and matrix metalloproteinase activation in monocytes/macrophages." Free Radic Biol Med **46**(8): 1058-1067.
- Sarkhosh, K., D. W. Birch, A. Sharma and S. Karmali (2013). "Complications associated with laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity: a surgeon's guide." Can J Surg **56**(5): 347-352.
- Schauer, D. P., H. S. Feigelson, C. Koebnick, B. Caan, S. Weinmann, A. C. Leonard, J. D. Powers, P. R. Yenumula and D. E. Arterburn (2017). "Association Between Weight Loss and the Risk of Cancer after Bariatric Surgery." Obesity (Silver Spring) **25 Suppl 2**: S52-S57.
- Schauer, P. R., D. L. Bhatt, J. P. Kirwan, K. Wolski, A. Aminian, S. A. Brethauer, S. D. Navaneethan, R. P. Singh, C. E. Pothier, S. E. Nissen, S. R. Kashyap and S. Investigators (2017). "Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes." N Engl J Med **376**(7): 641-651.
- Schek, A. (2002). "Sekundäre Pflanzenstoffe." Leistungssport **5**: 44-52.
- Scherrer, U., D. Randin, L. Tappy, P. Vollenweider, E. Jéquier and P. Nicod (1994). "Body fat and sympathetic nerve activity in healthy subjects." Circulation **89**(6): 2634-2640.
- Schiborr, C., A. Kocher, D. Behnam, J. Jandasek, S. Toelstede and J. Frank (2014). "The oral bioavailability of curcumin from micronized powder and liquid micelles is significantly increased in healthy humans and differs between sexes." Mol Nutr Food Res **58**(3): 516-527.
- Schupp, N., U. Schmid, P. Rutkowski, U. Lakner, N. Kanase, A. Heidland and H. Stopper (2007). "Angiotensin II-induced genomic damage in renal cells can be prevented by angiotensin II type 1 receptor blockage or radical scavenging." Am J Physiol Renal Physiol **292**(5): F1427-1434.
- Schütten, M. T., A. J. Houben, P. W. de Leeuw and C. D. Stehouwer (2017). "The Link Between Adipose Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System Signaling and Obesity-Associated Hypertension." Physiology (Bethesda) **32**(3): 197-209.
- Seyfried, F., A. Wierlemann, M. Bala, M. Fassnacht and C. Jurowich (2015). "[Dumping syndrome: Diagnostics and therapeutic options]." Chirurg **86**(9): 847-854.
- Shebis, Y., D. Iluz, Y. Kinel-Tahan, Z. Dubinsky and Y. Yehoshua (2013). "Natural Antioxidants: Function and Sources." Food and Nutrition Sciences **4**: 643-649.
- Shen, X., M. Wang, X. Bi, J. Zhang, S. Wen, G. Fu and L. Xia (2016). "Resveratrol

- prevents endothelial progenitor cells from senescence and reduces the oxidative reaction via PPAR- γ /HO-1 pathways." *Mol Med Rep* **14**(6): 5528-5534.
- Siewert, J. R., M. Rothmund and V. Schumpelick (2011). *Gastroenterologische Chirurgie*. Heidelberg, Springer Medizin Verlag.
- Sjöström, C. D., M. Peltonen, H. Wedel and L. Sjöström (2000). "Differentiated long-term effects of intentional weight loss on diabetes and hypertension." *Hypertension* **36**(1): 20-25.
- Sjöström, L., M. Peltonen, P. Jacobson, S. Ahlin, J. Andersson-Assarsson, Å. Anveden, C. Bouchard, B. Carlsson, K. Karason, H. Lönroth, I. Näslund, E. Sjöström, M. Taube, H. Wedel, P. A. Svensson, K. Sjöholm and L. M. Carlsson (2014). "Association of bariatric surgery with long-term remission of type 2 diabetes and with microvascular and macrovascular complications." *JAMA* **311**(22): 2297-2304.
- Skubleny, D., N. J. Switzer, R. S. Gill, M. Dykstra, X. Shi, M. A. Sagle, C. de Gara, D. W. Birch and S. Karmali (2016). "The Impact of Bariatric Surgery on Polycystic Ovary Syndrome: a Systematic Review and Meta-analysis." *Obes Surg* **26**(1): 169-176.
- Soares, N. P., A. C. Santos, E. C. Costa, G. D. Azevedo, D. C. Damasceno, A. P. Fayh and T. M. Lemos (2016). "Diet-Induced Weight Loss Reduces DNA Damage and Cardiometabolic Risk Factors in Overweight/Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome." *Ann Nutr Metab* **68**(3): 220-227.
- Steckelings, U. (2011). *Der Angiotensin AT2-Rezeptor: Untersuchungen zu Expression, physiologischen Wirkungen und zum therapeutischen Potential einer pharmakologischen Stimulation*, Charité Berlin - Medizinische Fakultät.
- Surh, Y.-J., Y.-J. Hurh, J.-Y. Kang, E. Lee, G. Kong and S. J. Lee (1999). "Resveratrol, an antioxidant present in red wine, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells." *Cancer Letters* **140**: 1-10.
- Taddei, S., A. Virdis, L. Ghiadoni, I. Sudano and A. Salvetti (2002). "Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction: clinical implications." *Drugs* **62**(2): 265-284.
- Tamura, S., K. Yoshihira, K. Fujiwara and N. Murakami (2010). "New inhibitors for expression of IgE receptor on human mast cell." *Bioorg Med Chem Lett* **20**(7): 2299-2302.
- Taniyama, Y., H. Hitomi, A. Shah, R. W. Alexander and K. K. Griendling (2005). "Mechanisms of reactive oxygen species-dependent downregulation of insulin receptor substrate-1 by angiotensin II." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **25**(6): 1142-1147.
- Tee, M. C., Y. Cao, G. L. Warnock, F. B. Hu and J. E. Chavarro (2013). "Effect of bariatric surgery on oncologic outcomes: a systematic review and meta-analysis." *Surg Endosc* **27**(12): 4449-4456.
- Timmers, S., E. Konings, L. Bilet, R. H. Houtkooper, T. van de Weijer, G. H. Goossens, J. Hoeks, S. van der Krieken, D. Ryu, S. Kersten, E. Moonen-Kornips, M. K. C. Hesselink, I. Kunz, V. B. Schrauwen-Hinderling, E. Blaak, J. Auwerx and P. Schrauwen (2011). "Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans." *Cell Metab* **14**(5): 612-622.
- Tomé-Carneiro, J., M. González, M. Larrosa, F. J. García-Almagro, F. Avilés-Plaza, S. Parra, M. J. Yáñez-Gascón, J. A. Ruiz-Ros, M. T. García-Conesa, F. A. Tomás-Barberán and J. C. Espín (2012). "Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and ApoB in patients undergoing primary prevention of cardiovascular disease: a triple-blind, 6-month follow-up, placebo-controlled, randomized trial." *Mol Nutr Food Res* **56**(5): 810-821.

- Tomé-Carneiro, J., M. Larrosa, A. González-Sarrías, F. A. Tomás-Barberán, M. T. García-Conesa and J. C. Espín (2013). "Resveratrol and clinical trials: the crossroad from in vitro studies to human evidence." Curr Pharm Des **19**(34): 6064-6093.
- Toolabi, K., M. Golzarand and R. Farid (2016). "Laparoscopic adjustable gastric banding: efficacy and consequences over a 13-year period." Am J Surg **212**(1): 62-68.
- Torriani, M., A. L. Oliveira, D. C. Azevedo, M. A. Bredella and E. W. Yu (2015). "Effects of Roux-en-Y gastric bypass surgery on visceral and subcutaneous fat density by computed tomography." Obes Surg **25**(2): 381-385.
- Tsai, I. C., Z. C. Pan, H. P. Cheng, C. H. Liu, B. T. Lin and M. J. Jiang (2016). "Reactive oxygen species derived from NADPH oxidase 1 and mitochondria mediate angiotensin II-induced smooth muscle cell senescence." J Mol Cell Cardiol **98**: 18-27.
- Tsubakimoto, Y., H. Yamada, H. Yokoi, S. Kishida, H. Takata, H. Kawahito, A. Matsui, N. Urao, Y. Nozawa, H. Hirai, J. Imanishi, E. Ashihara, T. Maekawa, T. Takahashi, M. Okigaki and H. Matsubara (2009). "Bone Marrow Angiotensin AT1 Receptor Regulates Differentiation of Monocyte Lineage Progenitors From Hematopoietic Stem Cells." Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology **29**: 1529-1536.
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur and J. Telser (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease." The International Journal of Biochemistry and Cell Biology **39**: 44-84.
- van Brussel, P. M., B. van den Bogaard, B. A. de Weijer, J. Truijen, C. T. Krediet, I. M. Janssen, A. van de Laar, K. Kaasjager, E. Fliers, J. J. van Lieshout, M. J. Serlie and B. H. van den Born (2017). "Blood pressure reduction after gastric bypass surgery is explained by a decrease in cardiac output." J Appl Physiol (1985) **122**(2): 223-229.
- Van Cauter, E., J. D. Blackman, D. Roland, J. P. Spire, S. Refetoff and K. S. Polonsky (1991). "Modulation of glucose regulation and insulin secretion by circadian rhythmicity and sleep." J Clin Invest **88**(3): 934-942.
- Velloso, L. A. F., F.; Sun, X. J. et al. (1996). "Cross-talk between the insulin and angiotensin signaling systems." Proceedings of the National Academy of Sciences **93**: 12490-12495.
- Veronelli, A., M. Laneri, R. Ranieri, D. Koprivec, D. Vardaro, M. Paganelli, F. Folli and A. E. Pontiroli (2004). "White blood cells in obesity and diabetes: effects of weight loss and normalization of glucose metabolism." Diabetes Care **27**(10): 2501-2502.
- Vigneri, P., F. Frasca, L. Sciacca, G. Pandini and R. Vigneri (2009). "Diabetes and cancer." Endocr Relat Cancer **16**(4): 1103-1123.
- Wan, X., D. Li and Z. Zhang (2009). Tea and Tea Products: Chemistry and Health-Promoting Properties, CRC Press Taylor and Francis Group.
- Wang, L., X. Chen, Z. Du, G. Li, M. Chen, G. Liang and T. Chen (2017). "Curcumin suppresses gastric tumor cell growth via ROS-mediated DNA polymerase γ depletion disrupting cellular bioenergetics." J Exp Clin Cancer Res **36**(1): 47.
- Wei, Y., J. R. Sowers, R. Nistala, H. Gong, G. M.-E. Uptergrove, S. E. Clarke, E. M. Morris, N. Szary, C. Manrique and C. S. Stump (2006). "Angiotensin II-induced NADPH Oxidase Activation Impairs Insulin Signaling in Skeletal Muscle Cells." Journal of Biological Chemistry **281**: 35137-35146.
- Weseler, A. and A. Bast (2009). "Etablierte Arzneistoffe als Antioxidantien." Pharmazeutische Wissenschaft.
- White, M. F. (2003). "Insulin signaling in health and disease." Science **302**(5651): 1710-1711.
- WHO. (2017). "Obesity and Overweight - Fact Sheet." Retrieved 03.12.2017, 2017, from

http://www.thehealthwell.info/node/82914?&content=resource&member=572160&catalogue=none&collection=Obesity&tokens_complete=true.

- Wilhelm, S. M., J. Young and P. B. Kale-Pradhan (2014). "Effect of bariatric surgery on hypertension: a meta-analysis." *Ann Pharmacother* **48**(6): 674-682.
- Xu, X. J., M. S. Gauthier, D. T. Hess, C. M. Apovian, J. M. Cacicedo, N. Gokce, M. Farb, R. J. Valentine and N. B. Ruderman (2012). "Insulin sensitive and resistant obesity in humans: AMPK activity, oxidative stress, and depot-specific changes in gene expression in adipose tissue." *J Lipid Res* **53**(4): 792-801.
- Yesilada, E., I. Sahin, H. Ozcan, I. H. Yildirim, S. Yologlu and C. Taskapan (2006). "Increased micronucleus frequencies in peripheral blood lymphocytes in women with polycystic ovary syndrome." *European journal of endocrinology* **154**: 563-568.
- Yki-Järvinen, H. (2014). "Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome." *Lancet Diabetes Endocrinol* **2**(11): 901-910.
- Young, I. S. and J. V. Woodside (2001). "Antioxidants in health and disease." *J Clin Pathol* **54**(3): 176-186.
- Yousseif, A., J. Emmanuel, E. Karra, Q. Millet, M. Elkalaawy, A. D. Jenkinson, M. Hashemi, M. Adamo, N. Finer, A. G. Fiennes, D. J. Withers and R. L. Batterham (2014). "Differential effects of laparoscopic sleeve gastrectomy and laparoscopic gastric bypass on appetite, circulating acyl-ghrelin, peptide YY3-36 and active GLP-1 levels in non-diabetic humans." *Obes Surg* **24**(2): 241-252.
- Yvan-Charvet, L. and A. Quignard-Boulangé (2011). "Role of adipose tissue renin–angiotensin system in metabolic and inflammatory diseases associated with obesity." *Kidney International* **79**: 162-168.
- Zhang, H. and R. Tsao (2016). "Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects." *Current Opinion in Food Science* **8**: 33-42.

Danksagung

Zu großem Dank bin ich Frau Prof. Dr. H. Stopper für die professionelle Betreuung und die freundliche Überlassung des Themas verpflichtet.

Ich danke außerdem Herrn PD Dr. F. Seyfried für die Übernahme des Koreferats sowie Frau Dr. E. E. Bankoglu, die bei jedweden Fragen stets zur Verfügung stand, mir fachlich kompetente Unterstützung leistete und mich hervorragend betreute.

Für die freundliche und kollegiale Atmosphäre möchte ich mich darüber hinaus sehr herzlich bei allen weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppen Stopper und Hintzsche am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Würzburg bedanken sowie bei den Probanden und Studienpartnern des Adipositaszentrums bzw. des ZIM|ZOM an der Uniklinik Würzburg.

Schließlich gilt mein Dank meinen Eltern und Geschwistern, die mich in allen Vorhaben nach Kräften unterstützen und auf die ich zu jedem Zeitpunkt zählen kann.

Lebenslauf

Name: Charlotte Antonia Arnold
Geburtsdatum: 02.11.1991
Geburtsort: Würzburg
Staatsangehörigkeit: deutsch
Eltern: Elmar Pankraz Arnold, Gymnasiallehrer
Claudia Arnold, geb. Ebenhöf, Grundschullehrerin

Bildungsweg:

2002-2011 Celtis-Gymnasium Schweinfurt
05/2011 Allgemeine Hochschulreife
ab 04/2012 Studium der Humanmedizin an der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
03/2014 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2017 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
05/2018 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
05/2017-04/2018 Praktisches Jahr in
- Neurologie, Inselspital Bern, Schweiz
- Chirurgie, Universitätsklinik Caen, Frankreich
- Innerer Medizin, Leopoldina-Krankenhaus Schweinfurt