

# **Ceramide im Plasma und ihre Rolle bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit und Diabetes mellitus Typ 2**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

**Nadine Ningning Heinrich**

aus Singapur / Südostasien

2024

Angefertigt mit der Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: PD Dr. Felix Jansen
2. Gutachterin: Prof. Dr. Birgit Stoffel-Wagner

Tag der Mündlichen Prüfung: 11.12.2023

Aus der Medizinischen Klinik II – Innere Medizin (Kardiologie, Pneumologie, Angiologie)  
Direktor: Prof. Dr. med. Georg Nickenig

Meinen Großeltern



## Inhaltsverzeichnis

	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	7
<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	9
1.1	Koronare Herzkrankheit	9
1.1.1	Epidemiologie	9
1.1.2	Ätiologie und Pathophysiologie	9
1.1.3	Klinik	11
1.1.4	Diagnostik und Therapie	12
1.2	Diabetes mellitus	14
1.2.1	Definition und Epidemiologie	14
1.2.2	Ätiologie und Pathophysiologie	14
1.2.3	Diabetes mellitus als Risikofaktor für KHK	16
1.3	Ceramide	17
1.3.1	Struktur und Synthese	17
1.3.2	Ceramide und kardiovaskuläre Erkrankungen	19
1.3.3	Ceramide und Diabetes mellitus Typ 2	20
1.4	Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	21
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden</b>	23
2.1	Patientenkollektiv und Rekrutierung	23
2.2	Koronarangiografie	24
2.3	Probengewinnung	25
2.4	Sphingolipid-Analyse im Plasma	25
2.5	Klinische Daten	29
2.5.1	Medizinischer Hintergrund	29
2.5.2	Gefäßstatus und Interventionsbedarf während der Koronarangiografie	29
2.5.3	Bestimmung der Laborparameter	29
2.6	Statistische Analyse	30
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	32
3.1	Basis-Charakteristika	32

3.2	Sphingolipidquantifizierung	34
3.3	Vergleich der Sphingolipide	37
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>50</b>
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>58</b>
<b>6.</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>59</b>
<b>7.</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>61</b>
<b>8.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>62</b>
<b>9.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>90</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Akt/PKB	Akt/Proteinkinase B
AP	Angina pectoris
AKS	Akutes Koronarsyndrom
ARB	Angiotensin1-Rezeptor-Blocker
ASS	Acetylsalicylsäure
BOT	Basal unterstützte orale Therapie
Cer	Ceramid
CerS	Ceramidsynthase
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomografie
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus Typ 2
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
EPA	Elektronische Patientenakte
ESC	European Society of Cardiology
EZV	Extrazelluläre Vesikel
GLP	Glucagon-like Peptid
GLUT4	Glucosetransporter 4
GMZ	Glatte Muskelzellen
HDL	High Density Lipoprotein
HexCer	Hexosylceramid
ICT	Intensivierte konventionelle Insulintherapie
IDF	International Diabetes Federation
IMBIO	Institut für Molekulare Physiologie und Biotechnik der Pflanzen
KHK	Koronare Herzkrankheit
LC	Liquid Chromatography
LDL	Low Density Lipoprotein
LVF	Linksventrikuläre Funktion
M-CSF	Monozytenkolonien-stimulierenden Faktor

MODY	Maturity-onset Diabetes of the Young
MRT	Magnetresonanztomografie
MS	Massenspektrometrie
NO	Stickstoffmonoxid
PCSK-9	Proproteinkonvertase Subtilisin/Kexin Typ 9
PCI	Perkutane Koronarintervention
PECT	Positronen-Emissions-Tomografie
PTA	Perkutane transluminale Koronarangioplastie
RKI	Robert Koch-Institut
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
SPT	Serin-Palmitoyltransferase
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
UDP	Uridindiphosphat
WHO	World Health Organization



# 1. Einleitung

## 1.1 Koronare Herzkrankheit

### 1.1.1 Epidemiologie

Die koronare Herzkrankheit (KHK) spielt nach wie vor weltweit eine bedeutende Rolle im klinischen Alltag. Laut einer Studie des Robert Koch-Instituts (RKI) beträgt die mittlere Lebenszeitprävalenz in Deutschland für Frauen 6,4 % und für Männer 12,3% (Gößwald et al., 2013). Trotz sinkender Mortalität zählen kardiovaskuläre Erkrankungen noch immer zu den häufigsten Todesursachen im Erwachsenenalter (Statistisches Bundesamt, 2020). So waren im Jahr 2020 34% der Todesfälle darauf zurückzuführen (Statistisches Bundesamt, 2020). Zu den möglichen Komplikationen der KHK zählen der Myokardinfarkt, die Herzinsuffizienz und Herzrhythmusstörungen (Busch und Kuhnert, 2012). Diese Komplikationen bilden den größten Anteil in der Kategorie der Sterbefälle durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen (Statistisches Bundesamt, 2020). Zudem verursachen sie die höchsten Kosten für das Gesundheitssystem in Deutschland, im Jahr 2015 beliefen sich die Kosten beispielsweise auf 338,2 Millionen Euro (Statistisches Bundesamt, 2017).

### 1.1.2 Ätiologie und Pathophysiologie

Bei der KHK handelt es sich um die klinische Manifestation der Atherosklerose an den Koronararterien. Hauptrisikofaktoren für die Entstehung einer KHK sind eine Dyslipidämie, Nikotinabusus, abdominale Fettleibigkeit, Diabetes mellitus, arterielle Hypertension und psychosoziale Faktoren wie Stress (Castelli und Anderson, 1986; Yusuf et al., 2004). Dazu kommen eine familiäre Vorbelastung, ein erhöhtes Lebensalter sowie das männliche Geschlecht (Castelli und Anderson, 1986; Schächinger et al., 1999). Die Atherosklerose im Allgemeinen ist charakterisiert durch eine chronische Inflammation der arteriellen Gefäßschichten (Weber und Noels, 2011). Betroffen ist hierbei vor allem die Intima, die unter anderem von Endothelzellen gebildet wird. Arterienbifurkationen und -abzweigungen sind aufgrund eines erhöhten Risikos für einen gestörten laminaren Blutfluss besonders prädisponiert für die Entstehung einer Atherosklerose (Moore und Tabas, 2011). Die Atherosklerose beginnt zunächst mit einer Schädigung des Endothels durch chronische Belastung. Mögliche Ursachen für eine solche Belastung sind erhöhte und modifizierte Lipoproteine wie das Low Density Lipoprotein (LDL), Nikotinabusus, arterielle

Hypertension oder Diabetes mellitus (DM) (Ross, 1999). Vor allem erhöhte LDL-Spiegel spielen in der Pathogenese eine wesentliche Rolle (Tabas et al., 2007). Das LDL akkumuliert in der Intima und wird dort oxidiert. Die LDL-Oxidation sowie die vorangegangene Endothelschädigung lösen eine Immunantwort aus (Moriya, 2019). Dies führt zu einer vermehrten Ausschüttung proinflammatorischer Moleküle, wie Chemokine, proinflammatorische Zytokine, Adhäsionsmoleküle und Wachstumsfaktoren wie beispielsweise der Monozytenkolonien-stimulierenden Faktor (M-CSF), wodurch es zu einer Migration und Adhäsion von Monozyten und T-Lymphozyten in die Intima kommt (Jonasson et al., 1986; Libby et al., 2002; Lusis, 2000). Erleichtert wird die Migration durch eine über die Endothelschädigung entstandene Endotheldysfunktion. Sie führt zu einer erhöhten Permeabilität sowie einer gesteigerten Adhäsion von Leuko- und Thrombozyten (Ross, 1999). Zudem senkt oxidiertes LDL die Produktion des vasodilatatorisch wirkenden Stickstoffmonoxids (NO) (Lusis, 2000). M-CSF führt zur Differenzierung der eingewanderten Monozyten zu Makrophagen, die das oxidierte LDL aufnehmen und sich zu Schaumzellen entwickeln (Lusis, 2000; Moriya, 2019). Diese Ansammlung lipidreicher Makrophagen und T-Lymphozyten wird als „fatty streak“ bezeichnet und kann bereits im Kindesalter auftreten (Ross, 1993). Die initiale inflammatorische Antwort führt zu einer kontinuierlichen Ausschüttung proinflammatorischer Mediatoren, wie des Tumornekrosefaktor- $\alpha$ , Interleukin-1 und M-CSF (Zaman et al., 2000). Durch diese andauernde, ineffektive inflammatorische Reaktion proliferieren glatte Muskelzellen (GMZ) aus der mittleren Gefäßschicht (Media) und migrieren ebenfalls in die Intima (Ross, 1999). Parallel schütten Endothelzellen und Leukozyten fibrogene Mediatoren aus, die die Proliferation der GMZ weiter fördern (Libby et al., 2002). Aus den lipidreichen Schaumzellen, den immigrierten GMZ und entstandenen fibrösen Belägen, die von den GMZ sezerniert werden, entstehen schließlich Plaques mit einer fibrösen Kappe. Apoptotische Schaumzellen entwickeln sich in der Mitte der Plaques zu einem lipidreichen nekrotischen Kern (Lusis, 2000). Durch die chronische Belastung der Endothelzellen entsteht ein Kreislauf aus Inflammation, Proliferation, Migration immer weiterer Zellen und bindegewebiger Infiltration. Mit der Zeit wird der Plaque immer größer und führt zu einer Einengung des Gefäßlumens mit einer daraus resultierenden Störung des Blutflusses (Ross, 1999). In den Koronargefäßen verursacht ein gestörter Blutfluss eine Sauerstoffunterversorgung des Myokards. Unter gewissen Umständen, wie zum Beispiel bei starker körperlicher Aktivität oder emotionalem Stress, resultiert

das Missverhältnis aus Sauerstoffbedarf und -angebot in einer kurzen, reversiblen Episode einer Myokardischämie. Die kurze Sauerstoffunterversorgung des Myokards führt zur klinischen Äußerung der chronisch koronaren Herzerkrankung (Montalescot et al., 2013). Plaques können jedoch nicht nur an Größe zunehmen, sondern auch instabil werden und rupturieren. Die Vulnerabilität der Plaques und Gefahr einer Ruptur hängt mit dessen Zusammensetzung zusammen. Besonders anfällig sind lipidreiche Plaques mit großem und weichem nekrotischen Kern, starker Makrophageninfiltration und dünner fibröser Kappe mit niedrigem Anteil an GMZ (Falk et al., 1995; Zaman et al., 2000). Kommt es zu einer Plaqueruptur, strömt das Blut wieder ungehindert durch das Gefäß und die Gerinnungskaskade sowie Thrombozyten werden aktiviert. Sie gelangen zu dem beschädigten Endothel und sezernieren vasokonstriktive Substanzen, wie Thromboxan A<sub>2</sub> und Serotonin, wodurch wiederum eine weitere Thrombozytenaggregation bewirkt wird. Der thrombozytenreiche Thrombus wächst weiter in Richtung des Gefäßlumens, bis zur vollständigen Okklusion und Blutflussbehinderung (Zaman et al., 2000). Kommt es zu einem solchen Prozess in den Herzkranzgefäßen, ist die Myokardversorgung distal des Gefäßverschlusses ohne das Vorliegen von Kollateralen bis auf Weiteres unterbrochen, wenn keine Versorgung über Kollateralen vorliegt. Dies äußert sich klinisch als akutes Koronarsyndrom. Ohne Revaskularisierung und bei anhaltender Ischämie nekrotisieren die Myokardzellen. Dies führt zu einem Myokardinfarkt (Thygesen et al., 2019).

### 1.1.3 Klinik

Die Myokardischämie bei der KHK präsentiert sich klinisch in unterschiedlichen Formen. Grundsätzlich manifestiert sie sich als asymptomatische KHK, chronisches oder akutes Koronarsyndrom. Wie bereits dargestellt, kommt es bei der chronischen KHK episodisch zu einer Sauerstoffunterversorgung des Myokards. Leitsymptom der chronischen KHK ist die Angina pectoris (AP): ein Enge-, Brenn- oder Druckgefühl hinter dem Brustbein. Die Schmerzlokalisation kann variieren, so ist beispielsweise eine Ausstrahlung in den Hals und Unterkiefer, in den linken Arm und linken Schulterbereich oder ins Epigastrium möglich. Weitere potentielle Symptome sind Dyspnoe, Übelkeit, Müdigkeit oder Synkopen. Eine Angina Pectoris wird kann durch körperliche Anstrengung ausgelöst werden. Sie kann auch nach schweren Mahlzeiten, in den frühen Morgenstunden oder bei psychischer Belastung auftreten. Mit dem Wegfall der Auslöser lässt sie innerhalb weniger

Minuten nach und auch der Einsatz von Nitraten bewirkt über eine Gefäßdilataion eine rasche Entlastung (Piepoli et al., 2016).

Zu dem akuten Koronarsyndrom (AKS) zählen die instabile AP und der akute Myokardinfarkt mit oder ohne ST-Streckenhebung im Elektrokardiogramm (EKG). Allen drei Krankheitsbildern ist eine ähnliche Symptomatik gemeinsam. Typisch sind anhaltende massive AP-Beschwerden, die sich klinisch ähnlich dem chronischen Koronarsyndrom präsentieren. Möglich sind auch hier Übelkeit, Dyspnoe, vermehrtes Schwitzen, Oberbauchschmerzen und Synkopen (Collet et al., 2021). Die Symptomatik hält meist 20 Minuten oder länger an und lässt sich nicht durch Nitrate beenden. (Steg et al., 2012) Eine atypische Klinik, beispielsweise in Form reiner epigastrischer Beschwerden oder eine asymptomatischen Klinik, sind ebenfalls möglich. Dies tritt gehäuft bei Frauen und Patienten mit einem Diabetes mellitus auf (Collet et al., 2021).

#### 1.1.4 Diagnostik und Therapie

In dieser Arbeit steht die Diagnostik und Therapie der chronischen KHK im Vordergrund, da sie am häufigsten in der untersuchten Patientengruppe vertreten war. Nach der aktuellen Leitlinie beinhaltet das diagnostische Vorgehen bei Verdacht auf ein chronisches Koronarsyndrom zunächst eine vollständige Anamnese und körperliche Untersuchung. Bei entsprechender Symptomatik und der Verdachtsdiagnose einer KHK werden in erster Linie nicht-invasive Verfahren zur Basisdiagnostik eingesetzt. Dazu gehören zunächst einmal ein 12-Kanal EKG und die Echokardiografie in Ruhe. Ergänzt werden diese durch weitere funktionelle und morphologische Untersuchungsverfahren. Zu den funktionellen Untersuchungen zählen beispielsweise die Stressechokardiografie, Belastungsergometrie, Myokard-Perfusions-Single Photon Emission Computed Tomography/Positronen-Emissions-Tomografie (SPECT/PET) oder das Stress-Magnetresonanztomografie (MRT). Sie dienen dem Nachweis der Folgen der Myokardischämie und setzen eine körperliche oder pharmakologische Belastbarkeit voraus. Morphologische Untersuchungen können die Gefäßverkalkungen und -stenosen beispielsweise in der Computertomografie (CT) darstellen. Die Art der Untersuchung ist jeweils abhängig vom Patientenprofil, der Verfügbarkeit und der Expertise der Untersuchenden. Eine Diagnostik mittels invasiver Koronarangiografie sollte bei Patienten erfolgen, bei denen die nicht-invasive Diagnostik nicht ausreichend aufschlussreich war und weiterhin ein hochgradiger Verdacht auf eine KHK

besteht. Patienten mit einer hohen Vortestwahrscheinlichkeit erhalten ebenfalls eine invasive Koronarangiografie. Ansonsten sollte sie Patienten empfohlen werden, bei denen revaskularisierende Therapiemaßnahmen vorgenommen werden können. Beispielsweise zählen hierzu Patienten mit hochgradigem Verdacht auf eine stenosierende KHK in der nicht-invasiven Diagnostik und frustranen medikamentösen Therapieversuchen oder zur präoperativen Abklärung bei Indikation einer Bypass-Operation (Bundesärztekammer et al., 2022; Knuuti et al., 2020). Zur Diagnostik der Ursachen, Begleiterkrankungen und der Feststellung kardiovaskulärer Risikofaktoren sollte eine Blutanalyse mit Laborwerten wie des Lipidstatus, HbA1c und Nüchternblutzucker sowie das Erheben der Nierenretentionsparameter erfolgen (Knuuti et al., 2020).

Eine frühzeitige Therapie hat das Ziel einer Symptom- und Prognoseverbesserung der chronischen KHK. Das Risiko für Komplikationen wie den Myokardinfarkt oder die Herzinsuffizienz sollte dabei weitestgehend reduziert werden (Bundesärztekammer et al., 2022; Knuuti et al., 2020). Bestandteil der Therapie ist zunächst einmal die Lebensstiländerung zur Minimierung kardiovaskulärer Risikofaktoren. Dies beinhaltet beispielsweise eine Gewichtsabnahme, den Verzicht auf Nikotin und eine Steigerung der körperlichen Aktivität. Die medikamentöse Therapie dient zur Symptomlinderung und Prävention atherothrombotischer Ereignisse. Beispielsubstanzen sind Nitrate, Betablocker, Thrombozytenaggregationshemmer und Statine. Ergänzend zur medikamentösen Therapie kann eine perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTA) im Rahmen einer Linksherzkatheteruntersuchung oder eine Aortokoronare-Bypass-Operation notwendig sein. Sie ermöglichen eine Revaskularisierung stenotischer Koronargefäße und die Wiederherstellung der Versorgung des Herzens.

Im Jahre 2019 wurden in Deutschland mindestens 836.202 invasive Linksherzkatheteruntersuchungen durchgeführt, von denen 41,1% im Bundesdurchschnitt mit einer therapeutischen Intervention einhergingen (Fleck et al., 2021). Trotz technischer Fortschritte ist die invasive Koronarangiografie weiterhin mit teils schwerwiegenden Komplikationen wie Blutung, akutem Myokardinfarkt, Schlaganfall oder dem Tod verbunden (Knuuti et al., 2020). Daher wäre es vorteilhaft, für die Zukunft eine diagnostisch gleichwertige Untersuchung mit einer geringeren Risikobelastung zu finden, durch die eine KHK frühzeitig erkannt und eine Behandlung zeitnah eingeleitet werden könnte.

## 1.2 Diabetes mellitus

### 1.2.1 Definition und Epidemiologie

Die Erkrankung des DM umfasst verschiedene metabolische Erkrankungen, die alle eine pathologische Glucoseerhöhung im Blut gemeinsam haben. Laut der World Health Organization (WHO) sprechen folgende diagnostische Parameter für einen DM: Nüchtern Glucose im Plasma  $\geq 126$  mg/dl (7,0 mmol/l), nicht nüchtern Glucose im Plasma  $\geq 200$  mg/dl (11,1 mmol/l) plus diabetestypische Symptome oder einen HbA1c  $\geq 6,5\%$  (World Health Organization, 2020). Insgesamt wird der DM in vier Typen eingeteilt (American Diabetes Association, 2020): Beim DM Typ 1 bewirkt eine autoimmune Zerstörung der Betazellen des Pankreas deren vollständigen Funktionsverlust. Beim DM Typ 2 (DM2) kommt es zu einem progressiven Funktionsverlust, meist vor dem Hintergrund einer Insulinresistenz. Typ 3 umfasst spezifische Diabetesformen anderer Ursachen, wie zum Beispiel durch genetische Defekte der Betazellfunktion beim Maturity-onset Diabetes of the Young (MODY), exokrine Pankreasdysfunktion bei Zystischer Fibrose oder durch den medikamenteninduzierten Diabetes. Beim DM Typ 4 handelt es sich um den Gestationsdiabetes. Die häufigsten Typen sind der DM Typ 1 und 2, von denen wiederum der DM2 die häufigere Form darstellt. Laut einer Bevölkerungsstudie des RKIs betrug die Prävalenz für DM2 für die Einwohner zwischen 18 und 79 Jahren in Deutschland im Jahr 2010 circa 7,2% (Heidemann und Scheidt-Nave, 2017). 2015 belief sich die Zahl der bekannten Diabetes-erkrankten in Deutschland auf ca. 6,9 Millionen Einwohner, mit der Tendenz, in Zukunft noch weiter anzusteigen (Tönnies et al., 2019). Bei Patienten mit DM2 ist die Prävalenz für eine kardiovaskuläre Begleiterkrankung verglichen mit Patienten ohne DM2 erhöht. Eine Querschnittsstudie des RKI im Jahre 2019 wies für Frauen mit einem bekannten DM2 eine Prävalenz von 20,7% und für Männer von 33% für eine KHK nach, was eine nahezu zweifache Prävalenzerhöhung verglichen mit Patienten ohne DM2 bedeutet (Schmidt et al., 2021).

### 1.2.2 Ätiologie und Pathophysiologie

Beim DM2 handelt es sich um eine metabolische Erkrankung multifaktorieller Genese. Es wird ein Zusammenhang zwischen einer genetischer Komponente und Umwelteinflüssen vermutet (Chatterjee et al., 2017). So erhöht eine positive Familienanamnese die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von DM2 (Pierce et al., 1995). In den letzten Jahren wurden

zudem verschiedene genetische Loci identifiziert, die prädisponierend für die Manifestation eines DM2 sein könnten (Cho et al., 2012; Kooner et al., 2011; Mahajan et al., 2014; Morris et al., 2012). Ob es zur Ausprägung des diabetischen Phänotypen kommt, ist jedoch abhängig vom jeweiligen Lebensstil (Leahy, 2005). Viele DM2-Manifestationen sind mit dem metabolischen Syndrom assoziiert und bilden sich auf dessen Grundlage (Laaksonen et al., 2002; Lorenzo et al., 2003). Entscheidend für die Manifestation eines DM2 sind die westlichen Lebensgewohnheiten: eine Ernährung mit einem hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren, eine abdominelle Fettleibigkeit und eine mangelnde körperliche Aktivität (Aune et al., 2015; Carey et al., 1997; Chan et al., 1994; Hu et al., 2001; Kahn et al., 2006). Auch der Nikotinabusus erhöht das Risiko für einen DM2 (Pan et al., 2015).

Die Pathogenese des DM ist charakterisiert durch multiple Störungen im Glucosestoffwechselweg, die durch die oben genannten Risikofaktoren verstärkt werden. Es handelt sich um ein Zusammenspiel aus peripherer Insulinresistenz und einer verminderten Insulinsekretion aufgrund einer Dysfunktion der Betazellen des Pankreas (Kahn, 2003; Leahy, 2005; Weyer et al., 1999). Die periphere Insulinresistenz führt zu einer verminderten Glucoseaufnahme in insulinempfindlichem Gewebe wie beispielsweise Muskelzellen oder Hepatozyten (DeFronzo, 1988). Vor allem ein bestehendes Übergewicht ist mit einer verminderten Insulinsensitivität assoziiert (Rabinowitz und Zierler, 1962). Zum Erhalt eines normoglycämischen Blutzuckerspiegels produzieren die Betazellen vermehrt Insulin (Leahy, 2005). Eine übermäßige Zufuhr an Nahrungsmitteln verstärkt die kompensatorische Insulinproduktion (Nolan und Prentki, 2008). Gleichzeitig besteht jedoch zu Beginn der Erkrankung eine Dysfunktion der Betazellen. Bei vollständigem Funktionsverlust der Zellen kann die Insulinproduktion nicht mehr aufrechterhalten werden und die Glucose verbleibt extrazellulär, wodurch es zu einer ausgeprägten Hyperglycämie kommen kann. Diese spricht für die endgültige Manifestation des DM (Kahn, 2003; Leahy, 2005; Nolan et al., 2011). Parallel wird durch die mangelnde Inhibition der hepatischen Gluconeogenese und Glycogenolyse durch Insulin vermehrt Glucose produziert und die Hyperglycämie verstärkt (DeFronzo et al., 1989; Groop et al., 1989). Hinzu kommt, dass DM2 und Übergewicht mit einer chronischen Inflammation assoziiert sind, die die Insulinresistenz zusätzlich verstärkt (Hotamisligil, 2006; Hotamisligil Gökhan S. et al., 1993; Tilg und Moschen, 2008; Wellen und Hotamisligil, 2005).

### 1.2.3 Diabetes mellitus als Risikofaktor für KHK

Langfristige Folgen des DM sind sowohl Mikroangiopathien und die daraus resultierende Nephropathie, Retinopathie und Neuropathie als auch Makroangiopathien und atherosklerotische Erkrankungen wie die KHK und periphere arterielle Verschlusskrankheit (Kalyani, 2021). Wie bereits dargestellt, ist das Risiko für die Manifestation einer KHK bei Diabeteserkrankten doppelt so hoch wie bei Gesunden (The Emerging Risk Factors Collaboration, 2010). Hinzu kommt, dass bei Diabeteserkrankten die Mortalität bei fatalen kardiovaskulären Ereignissen, wie einem akuten Myokardinfarkt, erhöht ist (Alabas et al., 2017). Sie haben demzufolge ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko (Bundesärztekammer et al., 2022). Die Mehrheit der Todesfälle bei Patienten mit DM2 ist auf eine kardiovaskuläre Ursache, vor allem auf eine KHK oder einen Schlaganfall, zurückzuführen (Einarson et al., 2018). Einer der wichtigsten Risikofaktoren für das Entstehen einer kardiovaskulären Erkrankung, wie der KHK, ist demzufolge der DM selbst (Kannel und McGee, 1979; Schramm et al., 2008; Spencer et al., 2008). Von Bedeutung ist hierbei vor allem das weibliche Geschlecht, ein junges Erkrankungsalter und die Erkrankungsdauer an DM (Cosentino et al., 2020; Fox et al., 2004; Peters et al., 2014).

Zudem gibt es Hinweise für die Assoziation einer Diabeteserkrankung mit der Pathogenese der KHK: Post mortem Analysen ergaben eine höhere Anzahl abgeheilter Plaques in den Koronararterien bei Patienten mit DM, ebenso fand sich eine Erhöhung stumm abgelaufener Myokardinfarkte im DM-Kollektiv (Arenja et al., 2013; Burke et al., 2001). Der Anteil lipidreicher Plaques und die Größe des nekrotischen Kerns in atherosklerotischen Koronararterien ist bei diabetischen Patienten signifikant erhöht, ebenso wie das Ausmaß inflammatorischer Infiltrate (Burke et al., 2004; Moreno et al., 2000). Wie bereits erwähnt, sind solche Plaques gefährdeter für eine Ruptur (Falk et al., 1995). Bei Koronararterien von Patienten mit DM lässt sich zudem eine verstärkte Kalzifikation nachweisen (Hoff et al., 2003; Yahagi et al., 2017). Überdies vergrößert ein erhöhter HbA1c die Prävalenz für die Kalzifizierung von Gefäßen und damit für eine kardiovaskuläre Erkrankung (Chang et al., 2013; Jung et al., 2015). Gefäßkalzifikationen stehen ebenfalls mit chronischer Niereninsuffizienz im Zusammenhang, eine Folgeerkrankung des langjährigen DM2 (Alexopoulos und Raggi, 2009). Weiter wird über bestehende Hyperglycämien zusätzlicher oxidativer Stress auf die Endothelzellen ausgeübt, was zu einer erhöhten



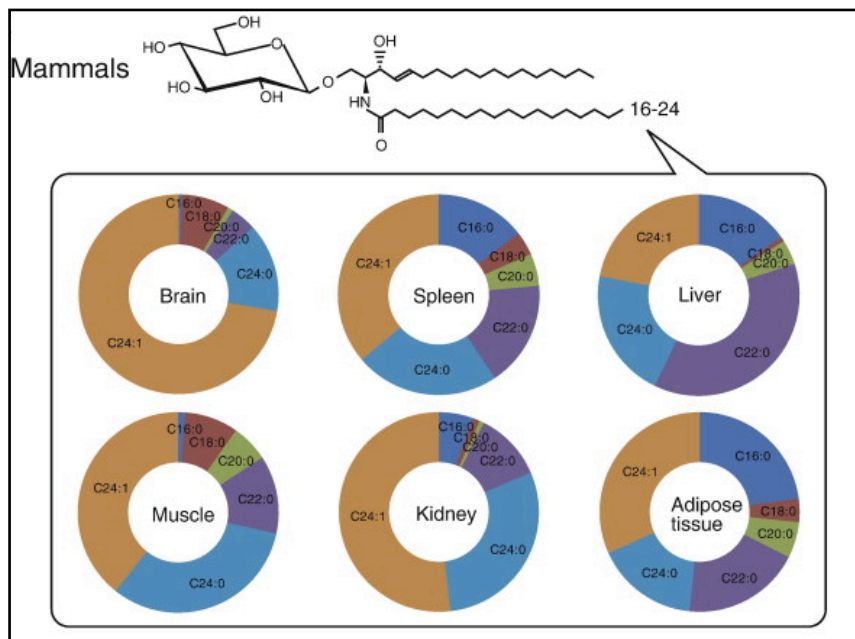
Zellpermeabilität, Dysfunktion und Apoptose führt (Yahagi et al., 2017). Dies begünstigt die Entwicklung einer Atherosklerose.

### 1.3 Ceramide

#### 1.3.1 Struktur und Synthese

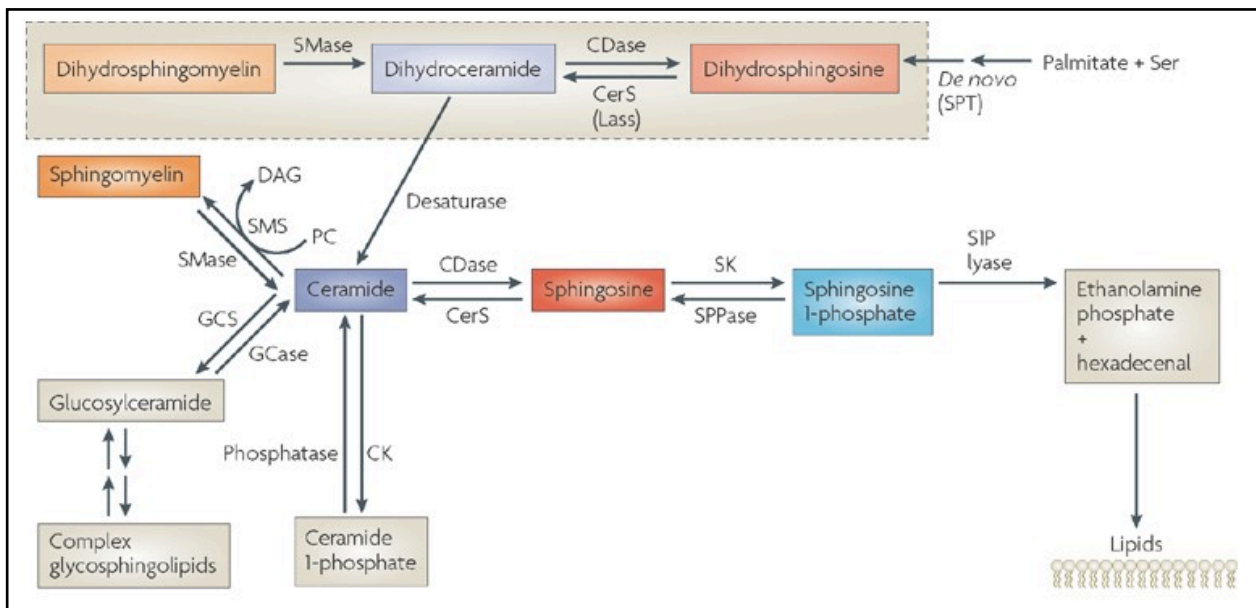
Sphingolipide sind Bestandteile der Zellmembran und spielen eine bedeutende Rolle für die Membranintegrität. Sie sind in allen Gewebsarten zu finden. Zu einer ihrer Hauptgruppen zählen die Ceramide (Cer) (Chaurasia und Summers, 2015). Diese bestehen aus einer Fettsäure, die über eine Amidbindung an den Aminoalkohol Sphingosin gebunden sind. Meist handelt es sich dabei um langkettige, gesättigte Fettsäuren mit 14 bis 26 Kohlenstoffatomen (Fahy et al., 2005). Die Ceramidsynthese kann de novo oder aus der Rückgewinnung ihrer eigenen Abbauprodukte erfolgen. Die De-novo-Synthese findet im Endoplasmatischen Retikulum der Zellen statt und beginnt mit der Kondensation der Aminosäure L-Serin mit der aktivierten Form der Palmitinsäure Palmitoyl-CoA über die Serin-Palmitoyltransferase (SPT). Der nächste Schritt ist die Reduktion des Zwischenproduktes zu Sphinganin. Daraufhin erfolgt der Transfer einer Fettsäure auf das Sphinganin durch eine Ceramidsynthase (CerS) und es entsteht Dihydroceramid (Wegner et al., 2016). Von der CerS existieren sechs verschiedene Isotypen bei Säugetieren (Zelnik et al., 2019). Durch das Einfügen von Doppelbindungen in das Dihydroceramid im letzten Syntheseschritt entsteht schließlich das Endprodukt Ceramid. Zur weiteren Metabolisierung und Synthetisierung werden Ceramide zum Golgi Apparat transportiert (Wegner et al., 2016). Hier entstehen Sphingolipide mit einer komplexeren Struktur, wie zum Beispiel Sphingomyeline oder Hexosylceramide (HexCer) (Snider et al., 2018). Zu den Hexosylceramiden werden hydrophobe Ceramide mit einer hydrophilen Zuckergruppe zusammengefasst (Ishibashi et al., 2013; Reza et al., 2021). Ihre Variabilität ist hoch und abhängig von der jeweils gebundenen Zuckergruppe sowie der Fettsäurenlänge. Es handelt sich beispielsweise um Monohexosylceramide, die entweder Glucose oder Galactose enthalten (Abb. 1). Bei der Synthese der Monohexosylceramide werden die metabolisch aktiven Formen Uridindiphosphat(UDP)-Glucose und UDP-Galactose an die C1 Position des Ceramids transferiert (Ishibashi et al., 2013; Reza et al., 2021). Katalysiert wird die Glycolysierung entsprechend von der Glucosylceramidsynthase oder der Galactosylceramidsynthase (Gault et al., 2010). In der Regel weisen Glucosylceramide nicht hydroxylierte Fettsäuren

der Längen C16 oder C24, Galactosylceramide hingegen langkettige, hydroxylierte Fettsäuren der Längen C18-C26 auf (Schweppe et al., 2010). Im Golgi Apparat können einfache Hexosylceramide weiter zu hoch komplexen Glucosphingolipiden glycosyliert werden (D'Angelo et al., 2007). Der Abbau der Monohexosylceramide in ihre jeweilige Zuckergruppe und ihr Ceramid erfolgt mithilfe der Glucosyl- und Galactosylceramidasen (Astudillo et al., 2016; Beier et al., 2005).



**Abb. 1:** Oben: Beispielhafte Strukturdarstellung des Glucosylceramids. Die Angabe 16-24 steht für die variable Fettsäurenkettenlänge. Unten: Unterschiedliche Verteilung der Glucosylceramide verschiedener Kettenlängen in den jeweiligen Organen bei Mäusen (entnommen aus Ishibashi et al., 2013).

Wie bereits erwähnt, können Ceramide über den sogenannten „Salvage Pathway“ aus ihren Produkten zurückgewonnen werden. Von Bedeutung ist hier vor allem die Hydrolyse des Sphingomyelins über verschiedene Sphingomyelinasen (Borodicz et al., 2015; Marchesini und Hannun, 2004). Über eine Deacylierung durch Ceramidasen kann das Ceramid schließlich in seine Grundbausteine, Sphingosin und die Fettsäure, umgewandelt werden (Koch et al., 1996). Sphingosin bildet wiederum das Ausgangsprodukt für Sphingosin-1-Phosphat. Abbildung 2 stellt die verschiedenen Möglichkeiten der Sphingolipidstoffwechselwege dar.



**Abb. 2:** Die Zusammenhänge der verschiedenen Sphingolipidstoffwechselwege (entnommen aus Hannun und Obeid, 2008).

Die Funktion der Ceramide und ihrer Metabolite geht über ihre Rolle in den Zellmembranen weit hinaus. Auf zellulärer Ebene dienen sie auch als bioaktive Mediatoren und second Messenger und reagieren auf Stresseinwirkungen auf die Zelle. Sie nehmen Einfluss auf die Regulation der Zellproliferation, Zellmigration, Inflammation, Zellalterung und Apoptose (Hannun und Obeid, 2008). Während zum Beispiel der Metabolit Sphingosin-1-phosphat zellprotektiv wirkt (Hla, 2004; Zhang et al., 1991), spielen Ceramide vor allem als proinflammatorische und proapoptotische Transmitter eine essenzielle Rolle (Edsfeldt et al., 2016; Mullen und Obeid, 2012).

### 1.3.2 Ceramide und kardiovaskuläre Erkrankungen

In den letzten Jahren hat die Bedeutung der Ceramide in der Rolle als Regulatoren in Bezug auf kardiovaskuläre Erkrankungen an Bedeutung gewonnen (Meeusen et al., 2018). Als second Messenger sind sie in die Pathogenese der Atherosklerose involviert und beeinflussen die Lipidaufnahme, inflammatorische Prozesse sowie die Zellapoptose (Bismuth et al., 2008). Beispielsweise zeigten in vitro Versuche mit Endothelzellen, dass eine erhöhte Exposition mit Ceramiden den oxidativen Stress in den Zellen erhöhte, die NO-Verfügbarkeit durch verminderte Aktivierung der endothelialen NO-Synthase senkte und zu einer verstärkten vaskulären Dysfunktion führte (Li et al., 2002; Zhang et al., 2012).

Die vaskuläre Dysfunktion wird durch den Einfluss von Ceramiden auf die inflammatorischen Prozesse im Endothel und ihre Beteiligung an Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) vermittelten inflammatorischen Signalwegen verstärkt (Al-Rashed et al., 2020; Koka et al., 2017). Im LDL atherosklerotischer Plaques lässt sich zudem ein erhöhter Anteil an Ceramiden nachweisen. Dies trifft vor allem auf Patienten mit symptomatischer Atherosklerose zu und impliziert einen möglichen Zusammenhang von Ceramiden und Plaquevulnerabilität (Edsfeldt et al., 2016; Schissel et al., 1996). Park et al. (2004) konnten den Gesamtcholesterin- und Triglyceridspiegel im Plasma bei Nagetieren mithilfe von Myriocin, einem Inhibitor der SPT, vermindern. Zudem reduzierte sich dabei die atherosklerotische Plaquebildung bei den mit Myriocin behandelten Mäusen. Dies ist ein weiterer Hinweis für die bedeutsame Rolle der Ceramide in der Pathophysiologie der Atherosklerose (Park et al., 2004).

Weitere Studien wiesen darauf hin, dass der Plasmaspiegel von Ceramiden bestimmter Länge bei Patienten mit einem fatalen kardiovaskulären Ereignis erhöht ist. Dies trifft vor allem auf Ceramide mit einer langen Kohlenstoffkette, wie zum Beispiel Cer-d18:1-16:0 Cer-d18:1-18:0 oder Cer-d18:1-24:1, zu. Die Plasmaerhöhung zeigte sich dabei unabhängig von traditionellen Risikofaktoren wie dem Lipidstatus oder einer bereits erfolgten Statintherapie (Hilvo et al., 2020; Laaksonen et al., 2016). Durch diese Erkenntnis entsteht die Möglichkeit, Patienten mit bekannter KHK nach ihren Ceramidspiegeln in zwei Gruppen einzuteilen: stabile KHK-Patienten und Patienten mit einem erhöhten Risiko für ein kardiovaskuläres Event (ebd.). Für den klinischen Alltag könnte dies zu einer verbesserten Risikostratifizierung hinsichtlich des Outcomes von Patienten mit KHK und einer verbesserten Therapieeinstellung verhelfen.

### 1.3.3 Ceramide und Diabetes mellitus Typ 2

Des Weiteren nehmen Ceramide im Zusammenhang mit Diabetes mellitus Typ 2 ebenfalls eine zentrale Rolle ein (Chaurasia et al., 2019). Studien wiesen eine erhöhte intrazelluläre Ceramidkonzentration in Muskelgewebe bei übergewichtigen Probanden nach (Adams et al., 2004; Straczkowski et al., 2004). Zudem konnten Straczkowski et al. (2004) erstmalig eine negative Korrelation der Ceramidkonzentration in Muskelgewebe mit der Insulinsensitivität nachweisen. Darüber hinaus nehmen Ceramide auch Einfluss auf den Insulinsignalweg. Zum einen verhindern sie die insulinsensitive Translokation von

Akt/Proteinkinase B (Akt/PKB) in die Zellmembran, zum anderen führen sie zu einer Dephosphorylierung und damit Inaktivierung des Enzyms. Dies resultiert wiederum in einer reduzierten Translokation des insulinempfindlichen Glucose Transporters 4 (GLUT4) in die Plasmamembran und in einer damit verminderten Glucoseaufnahme in die Zellen (Summers et al., 1998; Stratford et al., 2004). In einer weiteren *in vitro* Studie konnte nachgewiesen werden, dass der Ceramidgehalt nach einer hyperglycämischen Schädigung von Endothelzellen auch in extrazellulären Vesikeln (EZV) erhöht ist (Zietzer et al., 2021). Der interzelluläre Transfer dieser EZV aus hyperglycämischen Endothelzellen führte zudem bei den Empfängerzellen vermehrt zur Apoptose. Als proinflammatorische Mediatoren beeinflussen Ceramide zudem das Zusammenspiel aus Inflammation und Insulinresistenzentwicklung. So führt eine Inhibition der Ceramidsynthese zu einer verminderten TNF- $\alpha$  vermittelte Immunantwort (Al-Rashed et al., 2020).

Neben der intrazellulären Ceramiderhöhung zeigen sich bei übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 Ceramide bestimmter Länge auch im Plasma erhöht, ähnlich zu Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung (Bergman et al., 2015; Haus et al., 2009). Wigger et al. (2017) konnten erhöhte Ceramid- und Dihydroceramidlevel, bis zu neun Jahre vor Diabetesmanifestation nachweisen. Parallel zeigte die finnische Studie FINRISK, dass das Verhältnis von Cer-d18:1-18:0 zu Cer-d18:1-16:0 eine hohe Signifikanz für das Auftreten von DM2 aufwies (Hilvo et al., 2018). Die Autoren suggerierten darin einen potenziellen neuen prognostischen Biomarker für die Entstehung von DM2, der unabhängig von traditionellen Risikofaktoren ist (Hilvo et al., 2018; Wigger et al., 2017).

#### 1.4 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

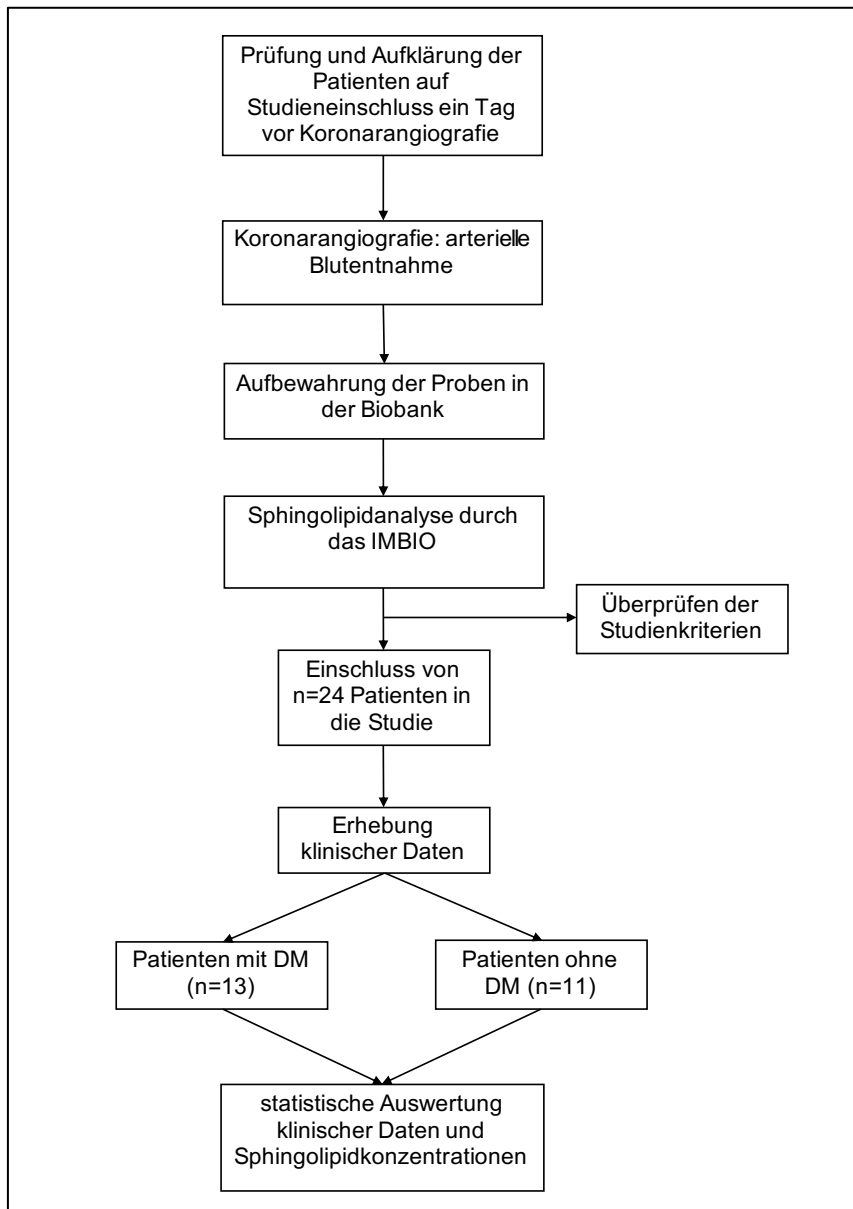
Die Plasmakonzentration von Ceramiden bestimmter Länge zeigen sich sowohl bei der KHK als auch bei DM2 erhöht und an der Pathogenese beteiligt. Die vorliegende Arbeit hat das Ziel, den Einfluss von DM2 auf die Ceramid-Spiegel bei KHK-Patienten zu untersuchen. Perspektivisch könnte so evaluiert werden, ob Ceramide bei der Progression der Atherosklerose bei DM2-Patienten eine Rolle spielen. In dieser Arbeit wurden KHK-Patientin mit und ohne DM2 hinsichtlich ihrer Ceramid-Spiegel verglichen. Das Vorliegen einer KHK wurde mit der erfolgten Koronarangiografie bestätigt. Die Diagnose eines DM2

wurden anhand der WHO-Kriterien gestellt. Die Plasmaspiegel der Ceramidgruppen wurden anhand von Blutproben der Probanden analysiert.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Patientenkollektiv und Rekrutierung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden im Zeitraum von Dezember 2018 bis Januar 2020 Blutproben von Patienten gesammelt. Alle Patienten unterzogen sich in diesem Zeitraum einer koronarangiographischen Untersuchung an der Medizinischen Klinik II des Universitätsklinikums Bonn. Die Koronarangiografie erfolgte dabei unabhängig von dieser Studie aus klinischer Indikation. Alle für eine Koronarangiografie geplanten Patienten, wurden einen Tag vorher im elektronischen Patientendokumentationssystem Orbis (Dedalus Healthcare Group AG, Bonn, Deutschland) auf eine potentielle Studieneignung überprüft. Ausschlusskriterien für die Studienaufnahme waren Leukopenien und Thrombozytopenien, schwere Lebererkrankungen, entzündliche oder maligne Grunderkrankungen sowie psychotische Erkrankungen. Jeder Proband wurde über den Verlauf und die Risiken aufgeklärt und unterzeichnete eine schriftliche Einverständniserklärung vor Einschluss in die Studie. Die Untersuchungen wurden auf Grundlage der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes aus dem Jahre 1983 durchgeführt. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Bonn geprüft und genehmigt (Entscheidung 276/18). Gemäß der Studienkriterien wurden insgesamt 24 Patientenproben eingeschlossen. Davon bestand bei allen Patienten eine KHK. 13 von den 24 Patienten litten zudem an einem DM2. Folgende Abbildung erläutert zur besseren Übersicht den Studienablauf.



**Abb. 3:** Studienaufbau. Alle Patienten erhielten eine Koronarangiografie. Die Blutentnahmen, die für die Sphingolipidanalysen erforderlich waren, erfolgten währenddessen. IMBIO = Institut für molekulare Biologie und Biotechnologie der Pflanzen

## 2.2 Koronarangiografie

Bei den Patienten wurde eine Koronarangiografie gemäß der aktuellen Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) durchgeführt (Knuuti et al., 2020). Sie war kein inhaltlicher Bestandteil der Studie. Eine Gefäßeinengung von 50% bei mindestens einem der Hauptstammäste galt als signifikant und definierte eine KHK. Entsprechend der Lokalität und Anzahl der betroffenen Koronargefäße erfolgte die Einteilung in eine Ein-, Zwei- oder Drei-Gefäß-Erkrankung. Die linksventrikuläre Pumpfunktion wurde anhand der



Ventrikulografie mithilfe von Kontrastmittel bestimmt. Bei Vorliegen einer interventionsbedürftigen Stenose entschied der verantwortliche Arzt unabhängig von der Studie über das weitere Vorgehen zur Revaskularisierung. Alle therapeutischen Maßnahmen wurden ebenfalls gemäß aktueller Standards durchgeführt (Bundesärztekammer et al., 2022; Knuuti et al., 2020).

### 2.3 Probengewinnung

Für die vorliegende Studie wurden den Patienten 25 ml arterielles Blut vor oder nach der Koronarangiografie entnommen. Die Entnahme erfolgte über den für die Untersuchung notwendigen arteriellen Zugang in der Arteria radialis oder Arteria femoralis unter sterilen Bedingungen. Für die Analyse der Sphingolipide wurden jeweils 1,5 ml Blut verwendet und in eine Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) enthaltende Monovette (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) gefüllt. Das restliche Blut wurde in weitere Blutprobenröhrchen gefüllt und zu anderen Studienzwecken verwendet. Nach der Entnahme wurden die Blutproben zur weiteren Aufbereitung und Lagerung in die BioBank Bonn im Institut für Klinische Chemie und Klinische Pharmakologie des Universitätsklinikums Bonn gebracht. Dort wurden die Proben in drei Zyklen für jeweils 15 Minuten mit 3000 g bei 4 °C zentrifugiert (Typ 5810 R, Eppendorf, Hamburg, Deutschland). Nach jeder Zentrifugation erfolgte ein Abpipetieren der Überstände in vorbereitete 15 ml Falcon Tubes (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Während der Zentrifugation wurden die Stammdaten (Name, Vorname, Geburtsdatum, Fallnummer und KHK-Nummer) in die Datenbank CentraXX (KAIROS GmbH, Bochum, Deutschland) eingegeben. Nach der Zentrifugation wurden die Plasma-proben auf Eis gelagert und in 500 µl Aliquote in 0,5 ml FluidX-tubes (Brooks Life Sciences, Chelmsford, USA) gefüllt und bei -80 °C bis zur weiteren Analyse aufbewahrt.

### 2.4 Sphingolipid-Analyse im Plasma

Die Analyse der Sphingolipide wurde durch das IMBIO der Universität Bonn durchgeführt. Für die Lipidanalyse waren zunächst eine Lipidisolation und Lipidextraktion erforderlich. Die Lipidextraktion wurde analog bereits publizierter Studien vorgenommen (Schonauer et al., 2017; Zietzer et al., 2021). Dafür wurde den Proben über Nacht eine homogene Phase aus Chloroform und Methanol (1:2, v/v) über Nacht zugesetzt. Die Inkubation erfolgte bei 37 °C. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation für 15 Minuten bei 2500 rpm

(Typ 5430, Eppendorf, Hamburg). Nach der Abnahme des Überstandes wurde dieser mithilfe von molekularem Stickstoff-N<sub>2</sub> getrocknet. Für die weitere Extraktion wurden die Proben mit Chloroform und Methanol in den Mischverhältnissen 1:1, v/v und 2:1, v/v versetzt. Nach jedem Schritt erfolgte eine einstündige Inkubation bei 37 °C. Danach wurden die Lipide in Chloroform aufgelöst und auf Silica Säulen geladen (Strata-1, Silica, 55 µm, 70Å, 100 mg, Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland). Die Säulen wurden jeweils dreimal mit reinem Chloroform gewaschen, um nichtpolare Lipide zu entfernen. Mithilfe von Aceton/Isopropanol (1:1, v/v) wurden die Ceramide, Dihydroceramide, Hexosylceramide und Dihydrohexosylceramide schließlich gelöst.

Nach der Lipidextraktion wurden diese mit einem Flüssigkeitschromatografen (Liquid-Chromatographie, LC) mittels Massenspektrometrie (MS) (QTRAP® 6500+ LC-MS/MS System mit Turbo V Ionenquelle, Sciex, Darmstadt, Deutschland) quantifiziert. Die Nutzung des Gerätes erfolgte gemäß Herstellerangaben. Das Vorgehen zur Analyse der Sphingolipide wurde wie bei Brügger et al. (1997), Irmgrund et al. (2009) sowie Woeste et al. (2019) beschrieben durchgeführt. Zur Standardwertbestimmung wurde je Lipidklasse die Konzentration einer Plasmaprobe mit kurzkettigen und einer Plasmaprobe mit langkettigen Fettsäuren, deren Lipidkonzentration vorher bekannt war, bestimmt. Diese wurden auf einer Trendgeraden aufgetragen und mit den Messungen der Proben verglichen. Zur optimalen Sensitivitätssteigerung ist zudem eine regelmäßige sowie adäquate Gerätekalibrierung notwendig (Brügger et al., 1997).

1. 0 -10 min: Zuführung der Lipide mit einer Flussrate von 10 µl/min mithilfe eines konstanten Flusses von 100% Methanol via M3 MicroLC (Sciex, Darmstadt)
2. 10 -12 min: Auswaschen verbliebener Komponenten mit 100% Methanol/Essigsäure (9:1, v/v)
3. 12 - 15 min: erneute Equilibrierung mit 100% Methanol
4. Auflösung der Proben in 100 µl Isopropanol, Chloroform, Methanol, 300 mM Ammoniumacetat in Wasser (25:30:41.5:3.5, v/v/v/v)

Folgende Geräteeinstellungen wurden für den Sphingolipidnachweis vorgenommen:

- Positiver Ionenmodus
- Vorhanggas: 20 psi, Kollisionsgas: medium, Vernebler und Turbogas: 25 psi
- Ionenspray-Spannung: 5500 V

- Temperatur der Ionenquelle: 150 °C
- Declustering Potential: 70 V, Eingangspotential: 10 V, Zellausgangspotential: 12 V
- Kollisionsenergien: Long Chain Bases 15 V, Ceramide 35 V, Hexosylceramide 40 V

Es erfolgte die Analyse von jeweils 66 einfachen Ceramiden, Dihydroceramiden und Dihydrohexosylceramiden sowie von 68 Hexosylceramide. In der folgenden Tabelle, Tabelle 1, sind alle 266 analysierten Sphingolipide dargestellt.

**Tab. 1:** Darstellung der in der Massenspektrometrie quantifizierten Sphingolipide. Diese sind zur besseren Übersicht nach den jeweiligen Gruppen aufgeteilt \* = nicht eindeutig trennbar anhand der Masse.

Ceramide	Dihydroceramide	Hexosylceramide	Dihydrohexosylceramide
d18:0-14:0	d18:0-14:0(2-OH)	HexCer-d18:0-12:0	HexCer-d18:0-14:0(2-OH)
d18:0-14:1	d18:0-14:1(2-OH)	HexCer-d18:2-12:0	HexCer-d18:0-14:1(2-OH)
d18:1-14:0	d18:1-14:0(2-OH)	HexCer-d18:0-14:0	HexCer-d18:1-14:0(2-OH)
d18:1-14:1	d18:1-14:1(2-OH)	HexCer-d18:0-14:1	HexCer-d18:1-14:1(2-OH)
d18:2-14:0	d18:2-14:0(2-OH)	HexCer-d18:1-14:0	HexCer-d18:2-14:0(2-OH)
d18:2-14:1	d18:2-14:1(2-OH)	HexCer-d18:1-14:1	HexCer-d18:2-14:1(2-OH)
d18:0-16:0	d18:0-16:0(2-OH)	HexCer-d18:2-14:0	HexCer-d18:0-16:0(2-OH)
d18:0-16:1	d18:0-16:1(2-OH)	HexCer-d18:2-14:1	HexCer-d18:0-16:1(2-OH)
d18:1-16:0	d18:1-16:0(2-OH)	HexCer-d18:0-16:0	HexCer-d18:1-16:0(2-OH)
d18:1-16:1	d18:1-16:1(2-OH) / 17:0 *	HexCer-d18:0-16:1	HexCer-d18:1-16:1(2-OH)
d18:2-16:0	d18:2-16:0(2-OH)	HexCer-d18:1-16:0	HexCer-d18:2-16:0(2-OH)
d18:2-16:1	d18:2-16:1(2-OH)	HexCer-d18:1-16:1	HexCer-d18:2-16:1(2-OH)
d18:0-18:0	d18:0-18:0(2-OH)	HexCer-d18:2-16:0	HexCer-d18:0-18:0(2-OH)
d18:0-18:1	d18:0-18:1(2-OH)	HexCer-d18:2-16:1	HexCer-d18:0-18:1(2-OH)
d18:1-18:0	d18:1-18:0(2-OH)	HexCer-d18:0-18:0	HexCer-d18:1-18:0(2-OH)
d18:1-18:1	d18:1-18:1(2-OH)	HexCer-d18:0-18:1	HexCer-d18:1-18:1(2-OH)
d18:2-18:0	d18:2-18:0(2-OH)	HexCer-d18:1-18:0	HexCer-d18:2-18:0(2-OH)
d18:2-18:1	d18:2-18:1(2-OH)	HexCer-d18:1-18:1	HexCer-d18:2-18:1(2-OH)
d18:0-20:0	d18:0-20:0(2-OH)	HexCer-d18:2-18:0	HexCer-d18:0-20:0(2-OH)
d18:0-20:1	d18:0-20:1(2-OH)	HexCer-d18:2-18:1	HexCer-d18:0-20:1(2-OH)
d18:1-20:0	d18:1-20:0(2-OH)	HexCer-d18:0-20:0	HexCer-d18:1-20:0(2-OH)
d18:1-20:1	d18:1-20:1(2-OH)	HexCer-d18:0-20:1	HexCer-d18:1-20:1(2-OH)
d18:2-20:0	d18:2-20:0(2-OH)	HexCer-d18:1-20:0	HexCer-d18:2-20:0(2-OH)
d18:2-20:1	d18:2-20:1(2-OH)	HexCer-d18:1-20:1	HexCer-d18:2-20:1(2-OH)
d18:0-21:0	d18:0-21:0(2-OH)	HexCer-d18:2-20:0	HexCer-d18:0-21:0(2-OH)
d18:0-21:1	d18:0-21:1(2-OH)	HexCer-d18:2-20:1	HexCer-d18:0-21:1(2-OH)
d18:1-21:0	d18:1-21:0(2-OH)	HexCer-d18:0-21:0	HexCer-d18:1-21:0(2-OH)
d18:1-21:1	d18:1-21:1(2-OH)	HexCer-d18:0-21:1	HexCer-d18:1-21:1(2-OH)
d18:2-21:0	d18:2-21:0(2-OH)	HexCer-d18:1-21:0	HexCer-d18:2-21:0(2-OH)
d18:2-21:1	d18:2-21:1(2-OH)	HexCer-d18:1-21:1	HexCer-d18:2-21:1(2-OH)
d18:0-22:0	d18:0-22:0(2-OH)	HexCer-d18:2-21:0	HexCer-d18:0-22:0(2-OH)
d18:0-22:1	d18:0-22:1(2-OH)	HexCer-d18:2-21:1	HexCer-d18:0-22:1(2-OH)
d18:1-22:0	d18:1-22:0(2-OH)	HexCer-d18:0-22:0	HexCer-d18:1-22:0(2-OH)
d18:1-22:1	d18:1-22:1(2-OH)	HexCer-d18:0-22:1	HexCer-d18:1-22:1(2-OH)
d18:2-22:0	d18:2-22:0(2-OH)	HexCer-d18:1-22:0	HexCer-d18:2-22:0(2-OH)
d18:2-22:1	d18:2-22:1(2-OH)	HexCer-d18:1-22:1	HexCer-d18:2-22:1(2-OH)
d18:0-23:0	d18:0-23:0(2-OH)	HexCer-d18:2-22:0	HexCer-d18:0-23:0(2-OH)
d18:0-23:1	d18:0-23:1(2-OH)	HexCer-d18:2-22:1	HexCer-d18:0-23:1(2-OH)
d18:1-23:0	d18:1-23:0(2-OH)	HexCer-d18:0-23:0	HexCer-d18:1-23:0(2-OH)
d18:1-23:1	d18:1-23:1(2-OH)	HexCer-d18:0-23:1	HexCer-d18:1-23:1(2-OH)
d18:2-23:0	d18:2-23:0(2-OH)	HexCer-d18:1-23:0	HexCer-d18:2-23:0(2-OH)
d18:2-23:1	d18:2-23:1(2-OH)	HexCer-d18:1-23:1	HexCer-d18:2-23:1(2-OH)
d18:0-24:0	d18:0-24:0(2-OH)	HexCer-d18:2-23:0	HexCer-d18:0-24:0(2-OH)
d18:0-24:1	d18:0-24:1(2-OH)	HexCer-d18:2-23:1	HexCer-d18:0-24:1(2-OH)
d18:1-24:0	d18:1-24:0(2-OH)	HexCer-d18:0-24:0	HexCer-d18:1-24:0(2-OH)
d18:1-24:1	d18:1-24:1(2-OH)	HexCer-d18:0-24:1	HexCer-d18:1-24:1(2-OH)
d18:2-24:0	d18:2-24:0(2-OH)	HexCer-d18:1-24:0	HexCer-d18:2-24:0(2-OH)
d18:2-24:1	d18:2-24:1(2-OH)	HexCer-d18:1-24:1	HexCer-d18:2-24:1(2-OH)
d18:0-25:0	d18:0-25:0(2-OH)	HexCer-d18:2-24:0	HexCer-d18:0-25:0(2-OH)
d18:0-25:1	d18:0-25:1(2-OH)	HexCer-d18:2-24:1	HexCer-d18:0-25:1(2-OH)
d18:1-25:0	d18:1-25:0(2-OH)	HexCer-d18:0-25:0	HexCer-d18:1-25:0(2-OH)
d18:1-25:1	d18:1-25:1(2-OH)	HexCer-d18:0-25:1	HexCer-d18:1-25:1(2-OH)
d18:2-25:0	d18:2-25:0(2-OH)	HexCer-d18:1-25:0	HexCer-d18:2-25:0(2-OH)
d18:2-25:1	d18:2-25:1(2-OH)	HexCer-d18:1-25:1	HexCer-d18:2-25:1(2-OH)
d18:0-26:0	d18:0-26:0(2-OH)	HexCer-d18:2-25:0	HexCer-d18:0-26:0(2-OH)
d18:0-26:1	d18:0-26:1(2-OH)	HexCer-d18:2-25:1	HexCer-d18:0-26:1(2-OH)
d18:1-26:0	d18:1-26:0(2-OH)	HexCer-d18:0-26:0	HexCer-d18:1-26:0(2-OH)
d18:1-26:1	d18:1-26:1(2-OH)	HexCer-d18:0-26:1	HexCer-d18:1-26:1(2-OH)
d18:2-26:0	d18:2-26:0(2-OH)	HexCer-d18:1-26:0	HexCer-d18:2-26:0(2-OH)
d18:2-26:1	d18:2-26:1(2-OH)	HexCer-d18:1-26:1	HexCer-d18:2-26:1(2-OH)
d18:0-28:0	d18:0-28:0(2-OH)	HexCer-d18:2-26:0	HexCer-d18:0-28:0(2-OH)
d18:0-28:1	d18:0-28:1(2-OH)	HexCer-d18:2-26:1	HexCer-d18:0-28:1(2-OH)
d18:1-28:0	d18:1-28:0(2-OH)	HexCer-d18:0-28:0	HexCer-d18:1-28:0(2-OH)
d18:1-28:1	d18:1-28:1(2-OH)	HexCer-d18:0-28:1	HexCer-d18:1-28:1(2-OH)
d18:2-28:0	d18:2-28:0(2-OH)	HexCer-d18:1-28:0	HexCer-d18:2-28:0(2-OH)
d18:2-28:1	d18:2-28:1(2-OH)	HexCer-d18:1-28:1	HexCer-d18:2-28:1(2-OH)
		HexCer-d18:2-28:0	
		HexCer-d18:2-28:0	

## 2.5 Klinische Daten

Die Erfassung und Sortierung der klinischen Daten erfolgte nach Studieneinschluss der Patienten und nach erfolgter Koronarangiografie sowie Blutprobenentnahme. Die klinischen Daten der Patientendatenbank wurden anhand der elektronischen Patientenakte (EPA) im Patientendokumentationssystem Orbis vervollständigt. Die Erhebung der klinischen Daten erfolgte durch verschiedene Institute des Universitätsklinikums Bonn. Im Nachfolgenden werden die klinischen Daten erläutert.

### 2.5.1 Medizinischer Hintergrund

Vordiagnosen und weitere Informationen bezüglich der medizinischen Vorgeschichte der Studienpatienten wurden aus der EPA übernommen. Die Arztbriefe wurden im Rahmen des stationären Aufenthaltes der Patienten von den jeweils betreuenden Ärzten erstellt. Von Relevanz waren hierbei folgende Inhalte:

- Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2
- Kardiovaskuläre Erkrankungen und Risikofaktoren: Zustand nach früherer Koronarangiografie, Myokardinfarkt und Bypass-Operation, Vorliegen eines Vitiums, Herzrhythmusstörung, peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, chronische Niereninsuffizienz, arterielle Hypertonie, Dyslipoproteinämie, Nikotinabusus
- Medikamente: Antidiabetika, Acetylsalicylsäure (ASS), ACE-Hemmer oder Angiotensin-1-Rezeptor-Blocker, Betablocker, Diuretika, orale Antikoagulantien

### 2.5.2 Gefäßstatus und Interventionsbedarf während der Koronarangiografie

Alle Daten bezüglich des Ausmaßes der KHK der Studienpatienten und des Ablaufes der durchgeführten Koronarangiografie wurden aus den klinikinternen Herzkatheterprotokollen entnommen. Diese Berichte wurden jeweils von den durchführenden Ärzten der Medizinischen Klinik II des Uniklinikums Bonn angefertigt.

### 2.5.3 Bestimmung der Laborparameter

Es wurden jeweils die präinterventionellen Laborwerte vor den durchgeführten Koronarangiografien übernommen. Die Blutentnahme erfolgte unabhängig von der vorliegenden Studie. Die folgenden Laborparameter bestimmte das Zentrallabor im Institut für Klinische Chemie und Klinische Pharmakologie des Universitätsklinikums Bonn.

- Kreatinin: Referenzbereich 0,7-1,2 mg/dl
- High Density Lipoprotein (HDL): Referenzbereich > 40 mg/dl
- Low Density Lipoprotein (LDL): Referenzbereich < 150 mg/dl
- C-reaktives Protein (CRP): Referenzbereich 0-3 mg/l

Das Zentrallabor arbeitet nach den Vorgaben der Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Gemäß dieser Vorgaben erfolgen interne Qualitätskontrollen über das Messen von Kontrollmaterial sowie externe Qualitätskontrollen über die Teilnahme von Ringversuchen. Infolge dieser Richtlinien beträgt beim Kreatinin bei einem Zielwert von 0,5 – 10,5 mg/dl die zulässige Abweichung bei der Messung von Kontrollmaterial bei +/- 11,5 %. Beim HDL liegt die Abweichung bei +/- 10 % bei einem Zielwert von 10 – 120 mg/dl, beim LDL bei +/- 9 % bei einem Zielwert von 30 – 300 mg/dl und beim CRP bei +/- 13,5 % bei einem Zielwert von 1 – 120 mg/l (Bundesärztekammer, 2022).

Für die Analyse der genannten Parameter waren jeweils Serumproben der Patienten notwendig. Diese wurden mittels venöser Blutabnahmen gewonnen. Nach der Blutabnahme wurden die Proben ungekühlt mittels Rohrpost in das Zentrallabor geschickt. Die Analysen der Parameter fanden täglich über 24 Stunden statt. Die Analyse der Proben wurde mittels Cobas 8000 Modul c702 (Roche Diagnostics GmbH, Rotkreuz, Schweiz) gemäß Herstellerangaben durchgeführt. HDL, LDL sowie Kreatinin wurden mittels VIS-Photometrie mit folgenden Reagenzien (Roche Diagnostics GmbH, Rotkreuz, Schweiz) bestimmt: LDLc3 für LDL, HDLc4 für HDL und CREJ2 für Kreatinin. Über Turbidimetrisches Immunoassay mit dem Reagenz CRP4 (Roche Diagnostics GmbH, Rotkreuz, Schweiz) wurde das CRP ermittelt.

Durch die studienunabhängige Laboranalyse lagen nicht bei allen Patienten Laborergebnisse für die präinterventionellen Parameter HDL, LDL und CRP vor. Die verminderte Gesamtzahl (n) ist in diesen Fällen im Ergebnisteil entsprechend gekennzeichnet.

## 2.6 Statistische Analyse

Sowohl die klinischen Daten, als auch die Ergebnisse der Lipidquantifizierung wurden zur Erfassung zunächst in Microsoft Excel (Version 2018) überführt. Die Daten wurden zur statistischen Berechnung und Erstellung der Graphen in das Programm GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Prism, San Diego, USA) übertragen. Zur Überprüfung der

Normalverteilung kontinuierlicher Werte wurde der D'Agostino-Pearson-Normality- und Shapiro-Wilk-Test verwendet. Die Darstellung normalverteilter kontinuierlicher Variablen erfolgte über den Mittelwert und die Standardabweichung. Zur Darstellung kategorialer Variablen wurden die jeweilige Häufigkeit in absoluten Zahlen und Prozentzahlen angegeben. Zum Vergleich der beiden Gruppen wurde der ungepaarte t-Test verwendet. Statistisch signifikant galten bei allen Analysen Unterschiede mit einem p-Wert  $<0,05$ . Nicht verwertbare Konzentrationsangaben wurden aus der Analyse ausgeschlossen.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Basis-Charakteristika

Es wurden insgesamt 24 Patienten in die Studienanalyse eingeschlossen. Alle Patienten wiesen eine koronare Herzerkrankung sowie eine zum Zeitpunkt der Studie durchgeführte Koronarangiografie vor. Die männlichen Patienten bildeten mit einer Gesamtanzahl von  $n=18$  und einem Anteil von 75 % die Mehrheit. Es wurden 6 weibliche Patientinnen (25 %) in der Studie eingeschlossen. Das durchschnittliche Alter der Probanden betrug  $70,63 \pm 11,71$  Jahre. Die Patienten mit einem DM2 (KHK+DM2) waren verglichen mit den Patienten ohne Vorliegen eines DM2 (KHK-DM2) im Schnitt etwa drei Jahre jünger (KHK+DM2:  $69,31 \pm 13,06$  Jahre; KHK-DM2:  $72,18 \pm 10,29$  Jahre).

Es konnten nach Zuteilung der Patienten in die Untersuchungsgruppen keine gehäuften kardiovaskulären Risikofaktoren der Patienten der Gruppe KHK+DM2 gegenüber der Patienten der Gruppe KHK-DM2 nachgewiesen werden (siehe Tabelle 2). Patienten der Gruppe KHK+DM2 wurden signifikant häufiger einer interventionellen Maßnahmen im Rahmen der Koronarangiografie unterzogen ( $p=0,05$ ). Es erhielten alle Patienten dieser Gruppe eine Intervention. Demgegenüber wurden drei Patienten der Gruppe KHK-DM2 einer rein diagnostischen Koronarangiografie unterzogen. Mehr als die Hälfte aller Patienten (66,7 %) hatte bereits in der Vergangenheit eine Koronarangiografie erhalten. Fünf Patienten stellten sich notfallmäßig mit einem akuten Koronarsyndrom vor, von denen drei der Gruppe KHK+DM2 angehörten. Ein Patient der Gruppe KHK+DM2 mit AKS verstarb während der Koronarangiografie an einem kardiogenen Schock. Des Weiteren wiesen die Patienten der Gruppe KHK+DM2 signifikant vermehrt die Komorbidität einer chronischen Niereninsuffizienz ( $p=0,05$ ) auf. Darüber hinaus konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientengruppen und ihrer Komorbiditäten nachgewiesen werden (siehe Tabelle 2). Bezüglich der einzunehmenden Dauermedikation unterschieden sich die beiden Gruppen ebenfalls nicht wesentlich voneinander. Hervorzuheben ist, dass alle Patienten der Gruppe KHK-DM2 Lipidsenker einnahmen, wohingegen zwei Patienten der Gruppe KHK+DM2 keine Fettsenker einnahmen (siehe Tab. 3).



**Tab. 2:** Basischarakteristika, klinische Informationen aus der Koronarangiografie, kardiovaskuläre Risikofaktoren sowie relevante Vorerkrankungen aller Patienten. Die Werte sind angegeben in absoluten Zahlen und Prozentzahlen. Signifikante p-Werte sind fett markiert.

Interventionsbedarf: Maßnahmen zur Gefäßrekanalisation über Ballondilatation oder Stent-Implantation; Definition einer chronischen Niereninsuffizienz: Glomeruläre Filtrationsrate <60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> über 3 Monate; PCI = perkutane Koronarintervention; LVF = linksventrikuläre Funktion

Charakteristika	Gesamtzahl aller Patienten (n=24)	KHK+DM2 (n=13)	KHK-DM2 (n=11)	p-Wert
<b>Basischarakteristika</b>				
Alter (in Jahren)	70,63±11,71	69,31±13,06	72,18±10,29	0,56
<b>Geschlecht (%)</b>				
weiblich	6 (25%)	4 (30,8%)	2 (18,2%)	0,5
männlich	18 (75%)	9 (69,2%)	9 (81,8%)	0,5
<b>Koronare Herzkrankheit</b>				
1-Gefäßkrankheit	3 (12,5%)	1 (7,7%)	2 (18,2%)	0,46
2-Gefäßkrankheit	9 (37,5%)	6 (46,2%)	3 (27,3%)	0,36
3-Gefäßkrankheit	12 (50%)	6 (46,2%)	6 (54,5%)	0,7
<b>Koronarangiografie</b>				
AKS zum Interventionszeitpunkt	5 (20,8%)	3 (23,1%)	2 (18,2%)	0,78
Aktueller Interventionsbedarf in der PCI	21 (87,5%)	13 (100%)	8 (72,7%)	<b>0,05</b>
Versterben zum Interventionszeitpunkt	1 (4,2%)	1 (7,7%)	0 (0%)	0,37
eingeschränkte LVF	11 (45,8%)	5 (38,5%)	6 (54,5%)	0,45
<b>Kardiovaskuläre Risikofaktoren</b>				
Diabetes mellitus Typ 2	13 (54,2%)	13 (100%)	0 (0%)	k.A.
Arterielle Hypertonie	18 (75%)	11 (84,6%)	7 (63,6%)	0,26
Dyslipoproteinämie	14 (58,%)	9 (69,2%)	5 (45,4%)	0,26
Nikotinabusus	11 (45,8%)	6 (46,2%)	5 (45,4%)	0,97
<b>medizinische Vorgeschichte</b>				
frühere PCI	16 (66,7%)	8 (61,5%)	8 (72,7%)	0,58
früherer Myokardinfarkt	9 (37,5%)	5 (38,5%)	4 (36,3%)	0,92
Zustand nach Bypass	2 (16,7%)	1 (7,7%)	1 (9,1%)	0,91
Vitium	11 (45,8%)	5 (38,5%)	6 (54,5%)	0,45
Herzrhythmusstörung	8 (33,3%)	5 (38,5%)	3 (27,3%)	0,58
periphere arterielle Verschlusskrankheit	6 (25%)	3 (23,1%)	3 (27,3%)	0,82
chronische Niereninsuffizienz	4 (16,7%)	4 (30,8%)	0 (0%)	<b>0,05</b>

**Tab. 3:** Relevante Dauermedikation aller Patienten zum Zeitpunkt der Studie. ASS = Acetylsalicylsäure, Cholesterinsenker = Statine, Ezetimib, PCSK9-Inhibitoren oder in Kombination miteinander; ARB = Angiotensin1-Rezeptor-Blocker; orale Antikoagulantien = Vitamin-K-Antagonisten, Faktor-Xa-Hemmer, direkte Thrombin-Inhibitoren

Dauermedikation	Gesamtzahl aller Patienten (n=24)	KHK+DM2 (n=13)	KHK-DM2 (n=11)	p-Wert
ASS	21 (87,5%)	11 (84,6%)	10 (90,9%)	0,66
Cholesterinsenker	22 (91,7%)	11 (84,6%)	11 (100%)	0,19
ACE-Hemmer o. ARB	19 (79,2%)	10 (76,9%)	9 (81,8%)	0,78
Betablocker	20 (83,3%)	11 (84,6%)	9 (81,8%)	0,86
Diuretika	11 (45,8%)	7 (53,8%)	4 (36,4%)	0,41
orale Antikoagulantien	5 (20,8%)	3 (23,1%)	2 (18,2%)	0,78
antidiabetische Therapie	11 (45,8%)	11 (84,6%)	0 (0%)	k.A.

In der Gruppe KHK+DM2 wurde bei einem Patienten zum Zeitpunkt der Studie die Erstdiagnose eines DM2 gestellt. Dieser Patient sowie ein weiterer Patient der Gruppe KHK+DM2 nahmen zum Zeitpunkt der Blutentnahme keine antidiabetische Therapie ein. Alle anderen Patienten der Gruppe KHK+DM2 erhielten bereits eine antidiabetische Therapie, meist in Form oraler Antidiabetika, wie zum Beispiel Metformin oder Sitagliptin (53,8 % der Gruppe KHK+DM2).

**Tab. 4:** Antidiabetische Therapie der Patienten mit DM2 (KHK+DM2). ICT = intensiviert konventionelle Insulintherapie, BOT = basal unterstützte orale Therapie

Charakteristika	Anzahl alle Patienten (n=24)	KHK+DM2 (n=13)
<b>Erstdiagnose DM</b>	1 (4,2%)	1 (7,7%)
<b>keine Therapie</b>	13 (54,2%)	2 (15,4%)
<b>antidiabetische Therapie</b>	11 (45,8%)	11 (84,6)
<b>orale Antidiabetika</b>	7 (29,2%)	7 (53,8%)
<b>ICT</b>	1 (4,2%)	1 (7,7%)
<b>BOT</b>	3 (12,5%)	3 (23,1%)

Laboranalytisch fielen ein signifikant erhöhtes Kreatinin ( $p=0,03$ ) und ein erhöhtes C-reaktives Protein (CRP) bei den Patienten der Gruppe KHK+DM2 ( $p=0,01$ ) auf. Das HDL war dahingegen in der Gruppe KHK-DM2 signifikant höher als in der Gruppe KHK+DM2 ( $p=0,01$ ).

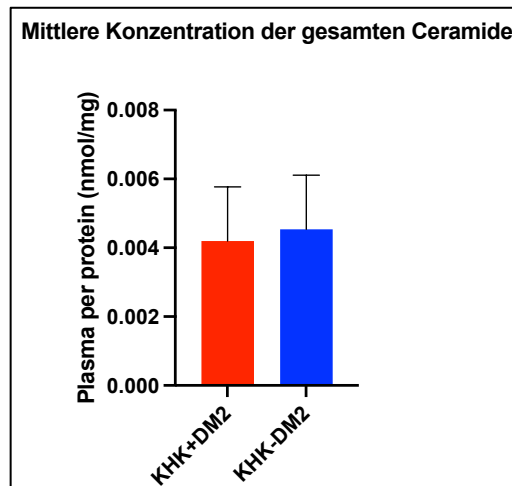
**Tab. 5:** Ausgewählte Laborparameter aller Patienten. Die Werte sind angegeben als Mittelwert und Standardabweichung bei normalverteilten Variablen. Signifikante p-Werte sind fett markiert. Anmerkung: \*n=20, jeweils n=10 in KHK+DM2 und KHK-DM2, \*\*n=21, mit n=11 in KHK+DM2 und n=10 in KHK-DM2

Laborparameter	Gesamtzahl aller Patienten (n=24)	KHK+DM2 (n=13)	KHK-DM2 (n=11)	p-Wert
Serum-Kreatinin (mg/dl)	1,00±0,2	1,1±0,21	0,9±0,12	<b>0,03</b>
HDL-Cholesterin (mg/dl)	48,3±10,69*	42,4±7,92	54,2±10,06	<b>0,01</b>
LDL-Cholesterin (mg/dl)	92,1±25,73*	85,4±21,78	98,8±28,69	0,25
C-reaktives Protein (mg/l)	3,08±2,89**	4,75±2,8	0,86±0,58	<b>0,01</b>

### 3.2 Sphingolipidquantifizierung

Vergangene Studien haben gezeigt, dass vor allem das Plasmalevel der Ceramide mit der Struktur Cer-d18:1-16:0, Cer-d18:1-18:0 und Cer-d18:1-24:1 unabhängig von traditionellen Risikofaktoren im Zusammenhang mit dem Outcome kardiovaskulärer

Erkrankungen stehen (Hilvo et al., 2020; Laaksonen et al., 2016). Zudem geht aus anderen Studien hervor, dass zwischen erhöhten Ceramidleveln im Plasma und einer DM2-Erkrankung möglicherweise eine Verbindung besteht (Fretts et al., 2020; Hilvo et al., 2018; Wigger et al., 2017). Dieser Zusammenhang war ebenfalls bei langkettigen Ceramiden zu beobachten, signifikant waren vor allem Ceramide mit der Struktur Cer-d18:1-18:0, Cer-d18:1-20:0, Cer-d18:1-22:0 (ebd). Für die vorliegende Studie wurde untersucht, wie sich bestimmte Ceramide bei Vorliegen einer KHK und einem DM2 verhalten. Hierfür wurden KHK-Patientengruppen mit (KHK+DM2) und ohne DM2 (KHK-DM2) Blut abgenommen und die Ceramidkonzentration im Plasma quantifiziert. Aufgrund der vorbeschriebenen Signifikanz wurden die Plasmakonzentrationen für langkettige Ceramide, Dihydroceramide, Hexosylceramide sowie Dihydrohexosylceramide gemessen. Mithilfe des Vergleichs der mittleren Konzentrationswerte für die gemessenen Ceramide wurden die Ceramidverhältnisse zwischen den beiden Patientengruppen untersucht. Nicht verwertbare Konzentrationsangaben, die sich im Negativbereich befanden, wurden aus der statistischen Analyse ausgeschlossen. Insgesamt wurden 65 Ceramide, 52 Dihydroceramide, 54 Hexosylceramide sowie 52 Dihydrohexosylceramide analysiert. Die Sphingolipide besaßen entweder die Aminoalkohole d18:0, d18:1 oder d18:2 als Basis. Die mittlere Gesamtkonzentration aller gemessener Ceramide betrug für die Gruppe KHK+DM2  $0,00420 \pm 0,00158$  nmol/mg Protein und für die Gruppe KHK-DM2  $0,00453 \pm 0,00157$  nmol/mg Protein (siehe Abb. 4). Dies bedeutet, dass in der Gruppe KHK-DM2 der Mittelwert der Gesamtkonzentration der Ceramide höher als in der Gruppe KHK+DM2 war.



**Abb. 4:** Darstellung der mittleren Gesamtkonzentration aller gemessenen Ceramide der Gruppen KHK+DM2 (rot) und KHK-DM2 (blau). Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung.

In der Messung der Konzentrationsmittelwerte für alle Sphingolipide lagen die Konzentrationswerte sowohl für die Gruppe KHK+DM2 als auch für die Gruppe KHK-DM2 in einem niedrigen Bereich. Die höchste mittlere Konzentration wurde in der Einheit der einfachen Ceramide für Cer-d18:1-24:0 gemessen: Gruppe KHK+DM2 wies eine Konzentration von  $0,04844 \pm 0,03252$  nmol/mg Protein und Gruppe KHK-DM2 von  $0,05147 \pm 0,03001$  nmol/mg Protein auf. Somit war die Konzentration dieses Sphingolipids im Plasma von allen untersuchten Sphingolipiden die höchste. In der Gruppe der Dihydroceramide war die mittlere Konzentration des Lipids mit der Struktur Cer-d18:1-23:1(2-OH) von  $0,04713 \pm 0,03148$  nmol/mg Protein bei Gruppe KHK+DM2 und  $0,04996 \pm 0,02929$  nmol/mg Protein bei Gruppe KHK-DM2 am höchsten. Die höchste mittlere Konzentration in der Gruppe der Hexosylceramide wurde für HexCer-d18:1-24:0 mit einer Höhe von  $0,00672 \pm 0,001661$  nmol/mg Protein bei Gruppe KHK+DM2 und  $0,01110 \pm 0,004405$  nmol/mg Protein bei Gruppe KHK-DM2 gemessen. In der Gruppe der Dihydrohexosylceramide hatte das Sphingolipid der Struktur HexCer-d18:1-23:1(2-OH) die höchste mittlere Konzentration: Für die Gruppe KHK+DM2 wurden  $0,00688 \pm 0,001006$  nmol/mg Protein und für Gruppe KHK-DM2  $0,001101 \pm 0,004426$  nmol/mg Protein gemessen.

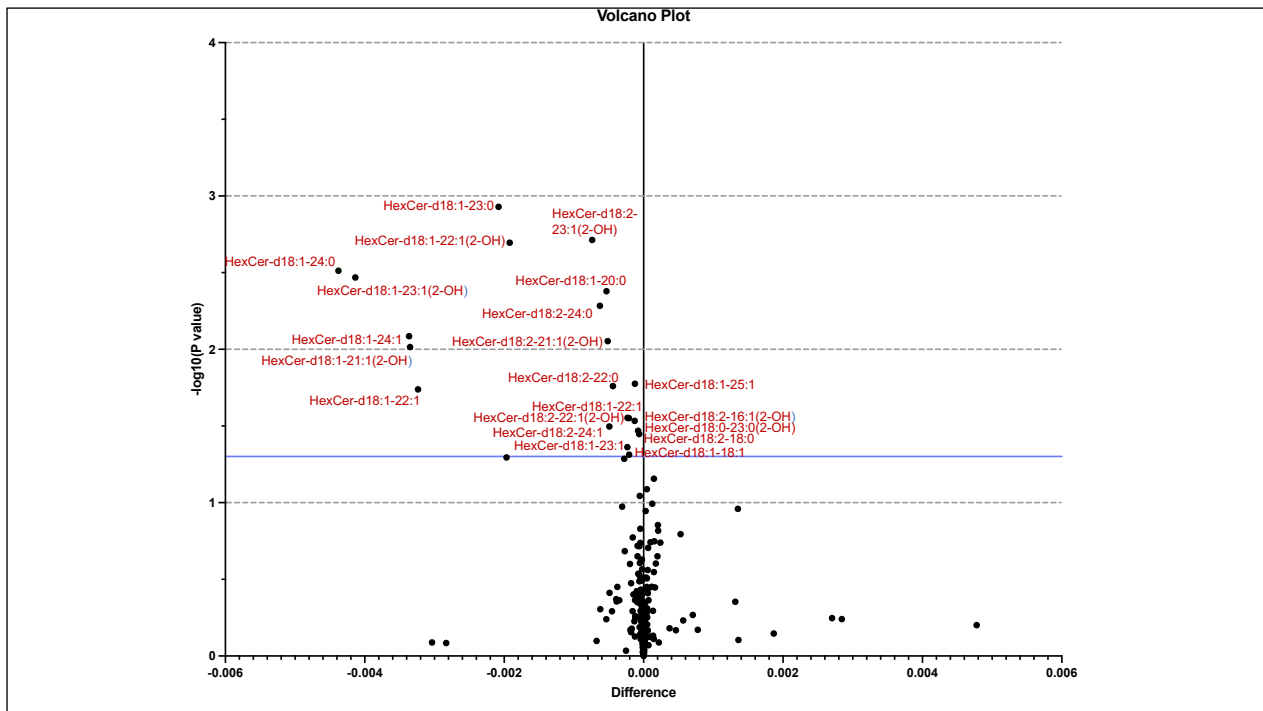
Für die Mehrheit der einzelnen Ceramide (169/266; 63,5 %) waren die mittleren Konzentrationen in der Gruppe der KHK-Patienten ohne einen DM2 höher als in der Gruppe der KHK-Patienten mit einem DM2. 36,5% der analysierten Ceramide (97/266) wiesen

demnach eine höhere mittlere Konzentration in der Gruppe KHK+DM2 auf. Die meisten dieser Ceramide (41/97) gehörten der Gruppe der einfachen Ceramide (Cer-d18:0-18:2) mit den Fettsäuren C14, C18, C20-C25 und C28 an. Des Weiteren ergab die Analyse für 22 Dihydroceramide (Cer-d18:0-18:2) der Längen C14, C16-C18, C20-C22 sowie C24, für 13 Hexosylceramide (HexCer-d18:0-d18:2) der Längen C12, C14, C16, C18, C20, C21, C24-C26 sowie C28 und für 21 Dihydrohexosylceramide (HexCer-d18:0-18:2) der Längen C14, C18, C20, C24, C25 sowie C28 einen erhöhten mittleren Konzentrationswert in der Gruppe KHK+DM2.

### 3.3 Vergleich der Sphingolipide

Insgesamt ließ sich bei 21 Ceramiden ein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 nachweisen. Diese Ceramide gehören zu der Gruppe der Hexosylceramide mit der Sphingoidbasis d18:1 sowie 18:2 und zu den Dihydrohexosylceramiden der Klasse d18:0-18:2. Die durchschnittliche Plasmakonzentration der Patienten mit einer alleinigen KHK war bei allen signifikanten Ceramiden höher als die Plasmakonzentration von KHK-Patienten mit einem DM2. Für die 97 Ceramide, für die Gruppe KHK+DM2 höhere mittlere Konzentrationen aufwies, konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden. Für die übrigen analysierten Sphingolipide, darunter die gesamte Gruppe der einfachen Ceramide und Dihydroceramide sowie die Hexosylceramide mit der Sphingoidbasis d18:0, konnte kein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen den Gruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 nachgewiesen werden. In der Gesamtmenge der Ceramide bestand ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den KHK-Patienten mit oder ohne DM2.

Die folgende Grafik stellt die durchgeführte Datenanalyse als Volcanoplot dar:



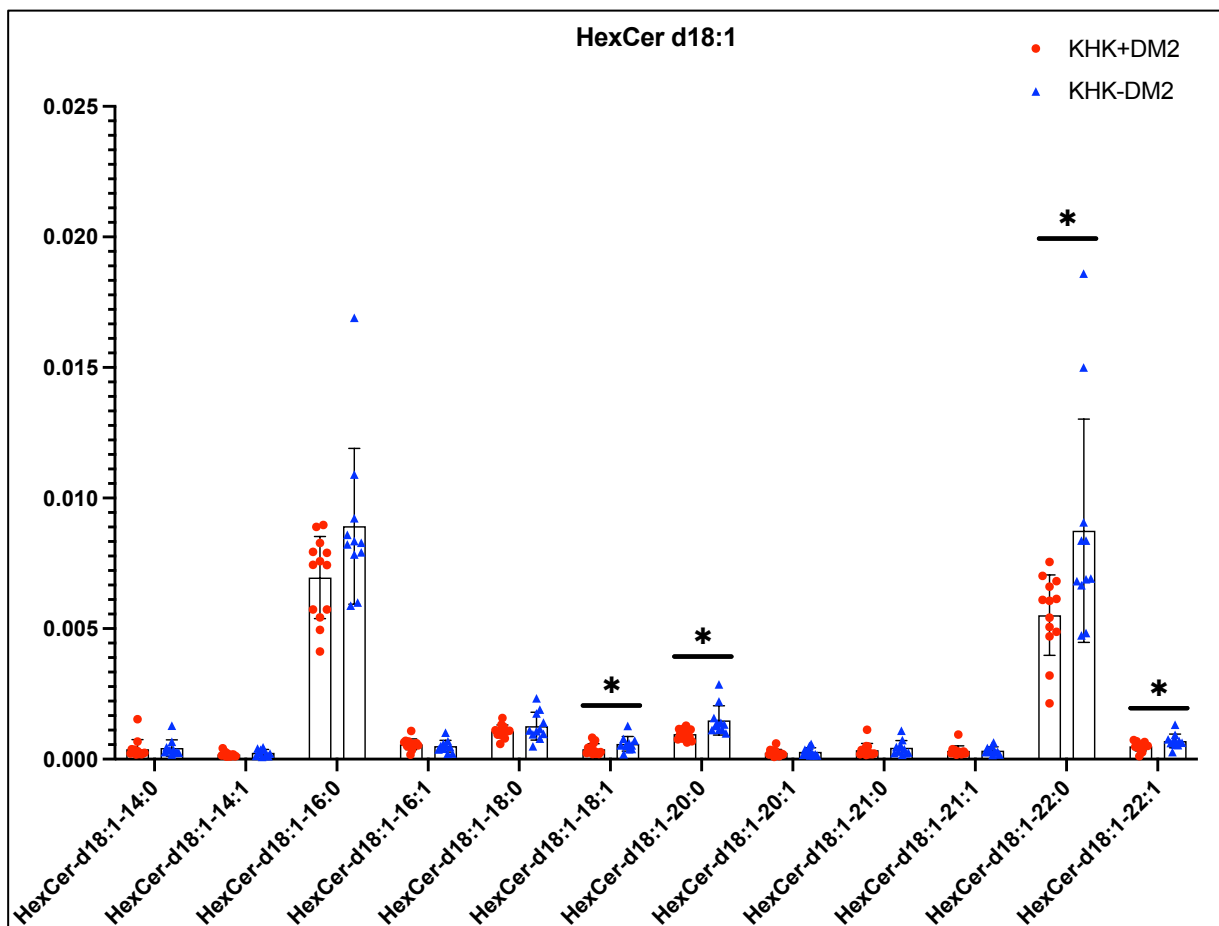
**Abb. 5:** Volcanoplot: Auswertungsgrafik für die Vergleiche der Sphingolipidkonzentrationen. Difference: Differenz der Konzentrationsmittelwerte aus Gruppe KHK+DM2 und KHK-DM2. Die horizontale blaue Linie markiert das Signifikanzniveau  $p=0,05$ . Sphingolipide mit einem signifikanten Konzentrationsunterschied befinden sich über der horizontalen Linie. Zur besseren Übersicht sind nur diese beschriftet. Befindet sich ein Punkt im negativen Differenzbereich, war die Konzentration der Gruppe KHK-DM2 höher als die der Gruppe KHK+DM2.

In Abbildung 5 ist zu sehen, dass 13 Lipide aus der Gruppe der Hexosylceramide und 8 Lipide aus der Gruppe der Dihydroxyhexosylceramide im Vergleich einen signifikanten Unterschied zwischen den KHK-Patienten mit und ohne DM2 zeigten. Die höchste Signifikanz war bei dem HexCer d18:2-23:0 mit einem p-Wert von 0,001 zu finden. Die mittlere Konzentration der Gruppe KHK+DM2 für das Hexosylceramid betrug  $0,00295 \pm 0,00066$  nmol/mg Protein und für die Gruppe KHK-DM2  $0,00503 \pm 0,00189$  nmol/mg Protein. KHK-Patienten ohne einen DM hatten in diesem Falle eine ca. 1,7 Mal höhere mittlere Konzentration für dieses Hexosylceramid vorzuweisen. Die höchste Differenz zwischen den beiden Konzentrationsmittelwerten ergab sich für HexCer d18:1-24:0: Mit einer mittleren Konzentration von  $0,00672 \pm 0,001661$  nmol/mg Protein für Gruppe KHK+DM2 und einer mittleren Konzentration von  $0,01110 \pm 0,004405$  nmol/mg Protein für Gruppe KHK-DM2 lag die Differenz bei  $0,00438 \pm 0,00132$  nmol/mg Protein ( $p=0,003$ ). Bei diesem

Hexosylceramid handelt es sich um das Sphingolipid mit der in der vorliegenden Studie am höchsten gemessenen Konzentration.

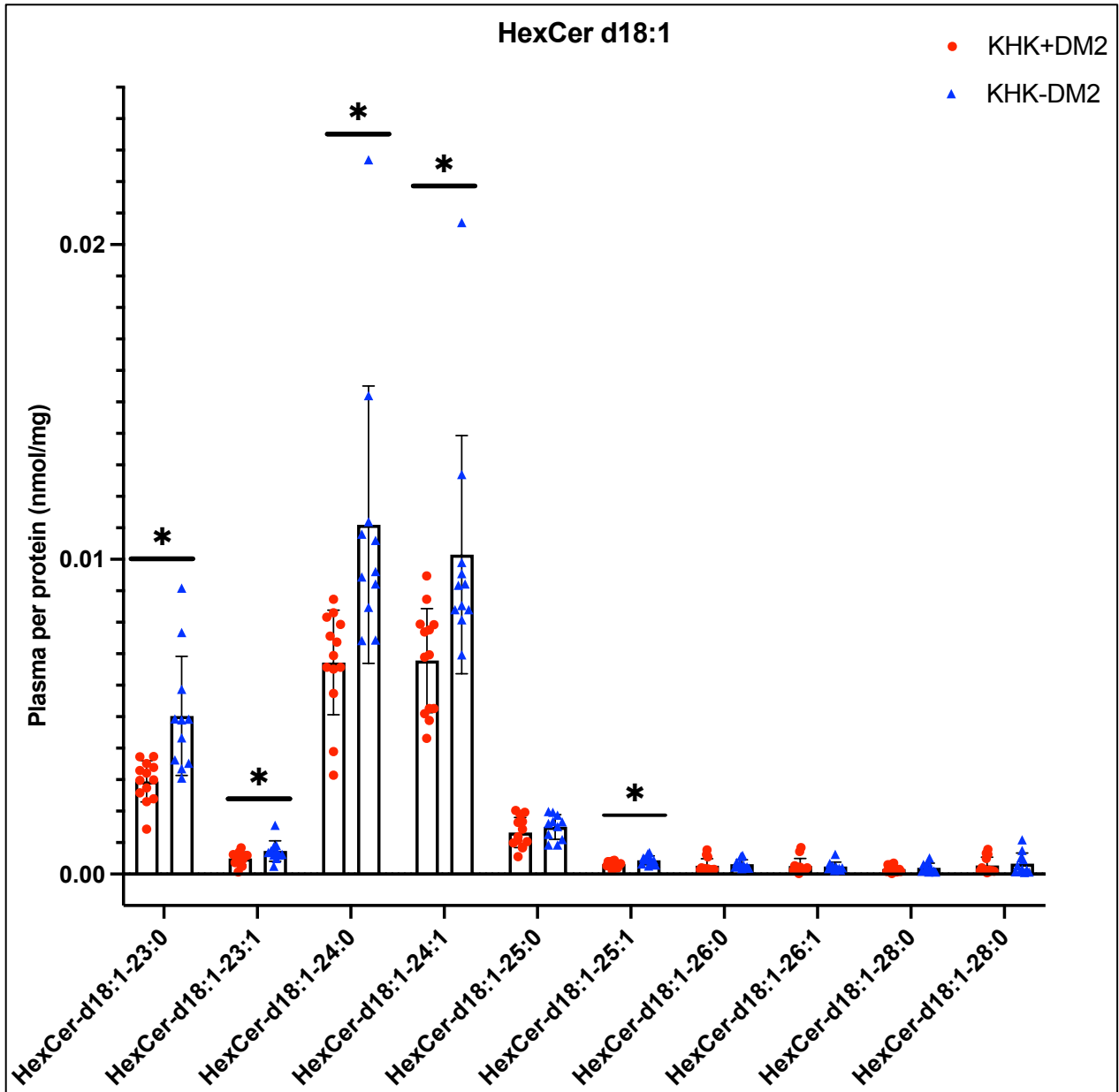
In der Klasse der Hexosylceramide mit der Sphingoidstruktur d18:1 wurden zwischen den folgenden neun Hexosylceramiden signifikante Unterschiede in den jeweiligen mittleren Ceramidkonzentrationen der KHK-Patienten mit und ohne DM2 gemessen: HexCer-d18:1-18:1 ( $p=0,049$ ), HexCer-d18:1-20:0 ( $p=0,004$ ), HexCer-d18:1-22:0 ( $p=0,018$ ), HexCer-d18:1-22:1 ( $p=0,028$ ), HexCer-d18:1-23:0 ( $p=0,001$ ) HexCer-d18:1-23:1 ( $p=0,043$ ), HexCer-d18:1-24:0 ( $p=0,003$ ), HexCer-d18:1-24:1 ( $p=0,008$ ) und HexCer-d18:1-25:1 ( $p=0,017$ ).

Die Abbildungen 6 und 7 stellen die quantitative Sphingolipidanalyse der Hexosylceramide d18:1 dar. Ceramide mit einem signifikanten Konzentrationsunterschied zwischen den Gruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 sind entsprechend gekennzeichnet.



**Abb. 6:** Grafische Darstellung der Hexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die

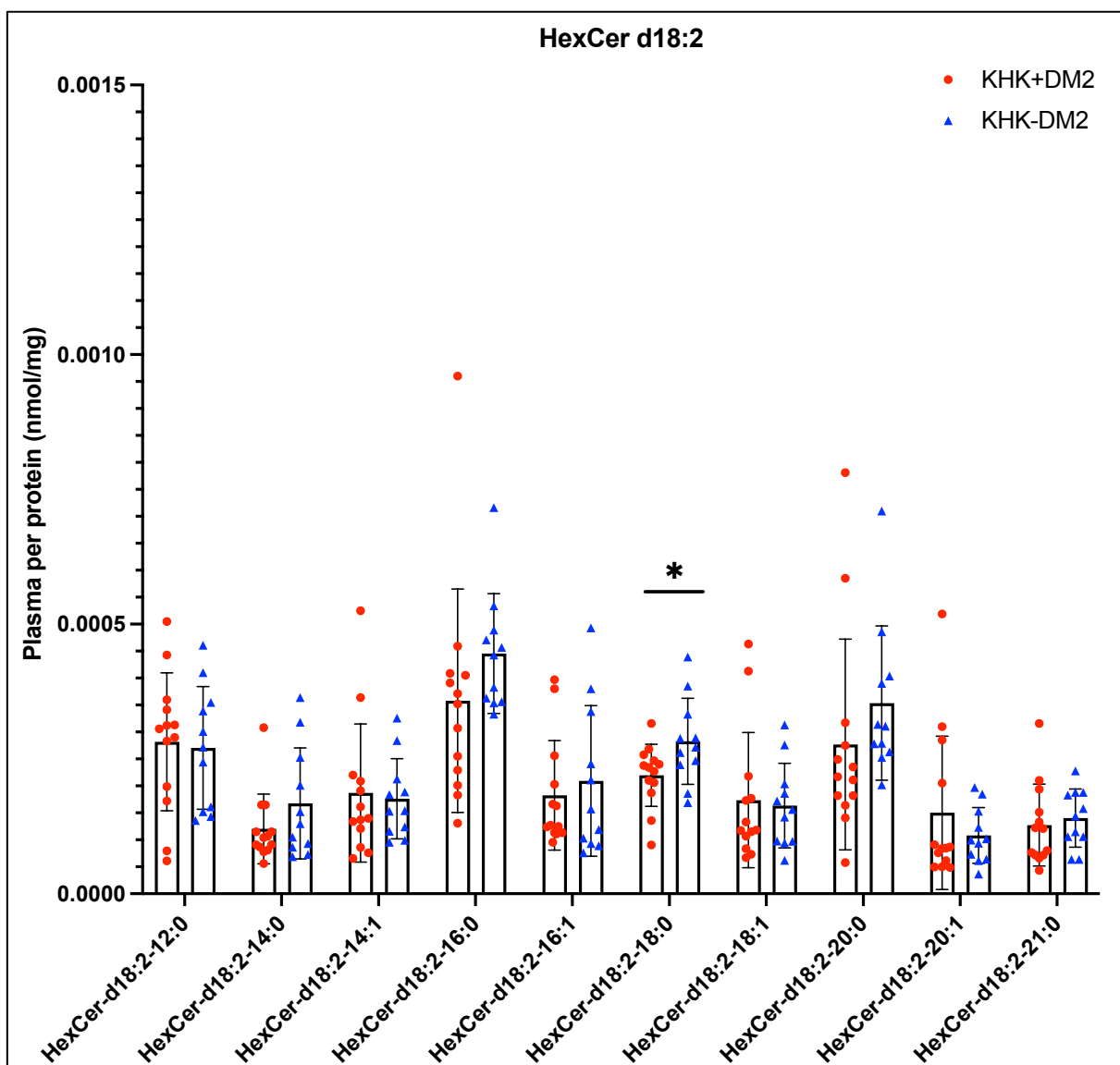
individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* = p-Wert <0,05, ausgewertet nach dem ungepaartem t-Test.



**Abb. 7:** Grafische Darstellung der Hexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* = p-Wert <0,05, ausgewertet nach dem ungepaartem t-Test.

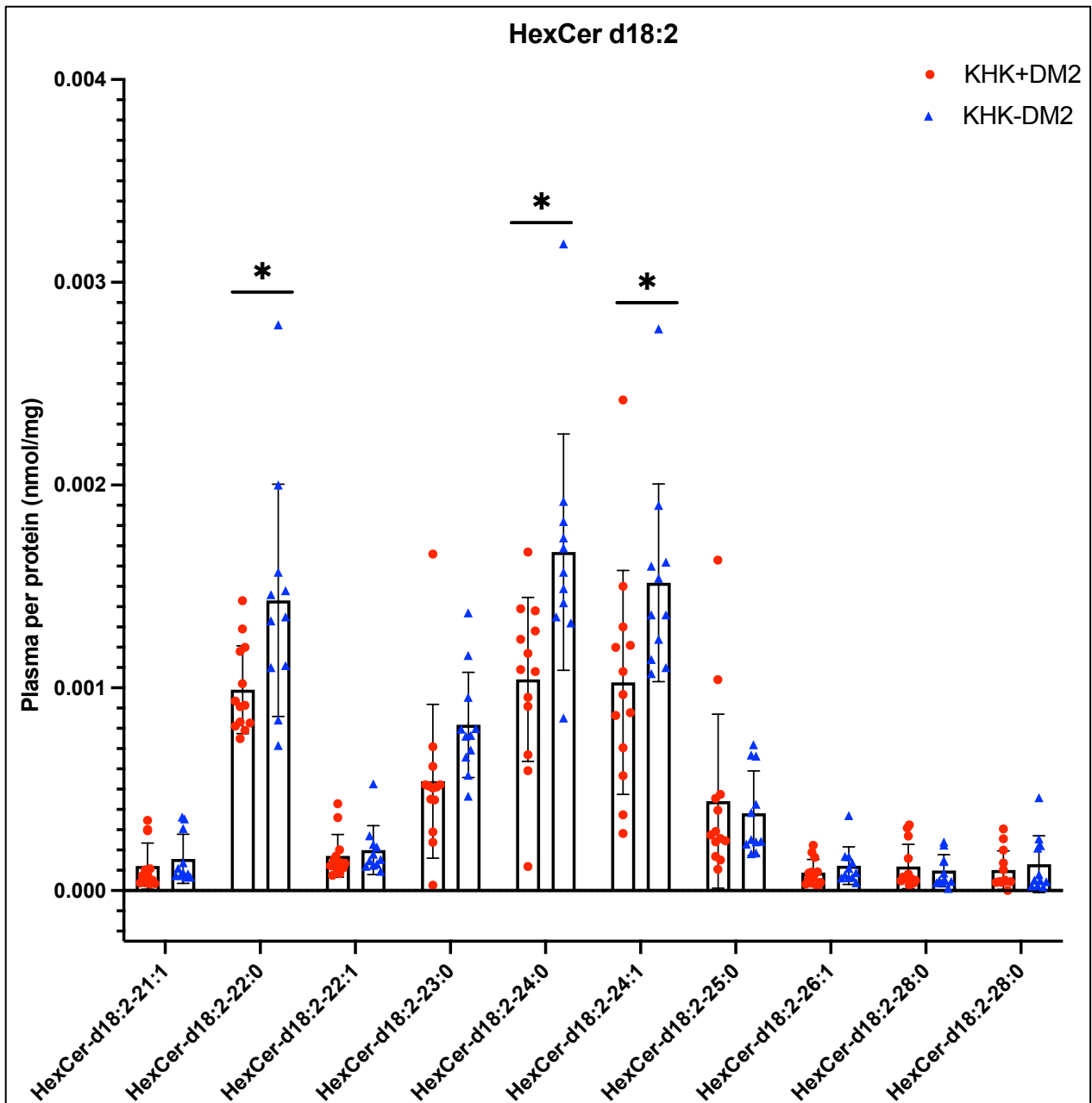


Bei den Hexosylceramiden mit der Sphingoidstruktur d18:2 zeigten sich zwischen vier der folgenden Hexosylceramide signifikante Unterschiede bei den mittleren Ceramidkonzentrationen der Gruppen KHK+DM2 und KHK-DM2: HexCer-d18:2-18:0 ( $p=0,036$ ), HexCer-d18:2-22:0 ( $p=0,017$ ), HexCer-d18:2-24:0 ( $p=0,005$ ) und HexCer-d18:2-24:1 ( $p=0,032$ ). In den folgenden Abbildungen sind die quantitativen Sphingolipidanalysen der oben genannten Hexosylceramide dargestellt. Ceramide, dessen mittlere Konzentration einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 aufweist, sind markiert.



**Abb. 8:** Grafische Darstellung der Hexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:2 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die

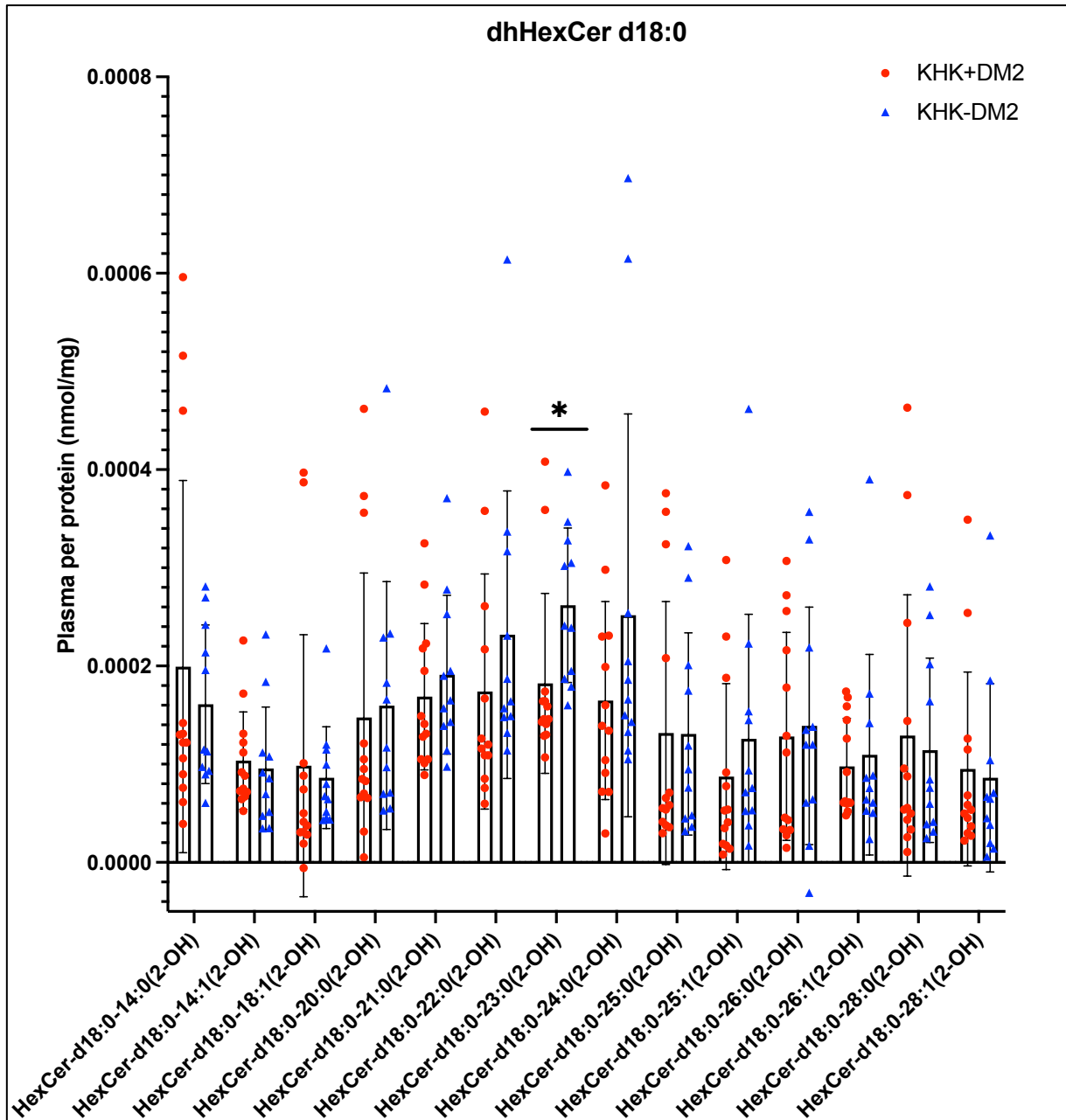
individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* = p-Wert <0,05, ausgewertet nach dem ungepaartem t-Test.



**Abb. 9:** Grafische Darstellung der Hexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:2 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* = p-Wert <0,05, ausgewertet nach dem ungepaartem t-Test.

Bei den Dihydrohexosylceramiden mit der Sphingoidstruktur d18:0 zeigten sich zwischen den Gruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 die mittleren Ceramidkonzentrationen des Dihydrohexosylceramids HexCer-d18:0-23:0(2-OH) ( $p=0,034$ ) signifikant unterschiedlich.

Nachfolgend ist die quantitative Sphingolipidanalyse der Dihydrohexosylceramide d18:0 grafisch dargestellt. Signifikanzen werden entsprechend gekennzeichnet.

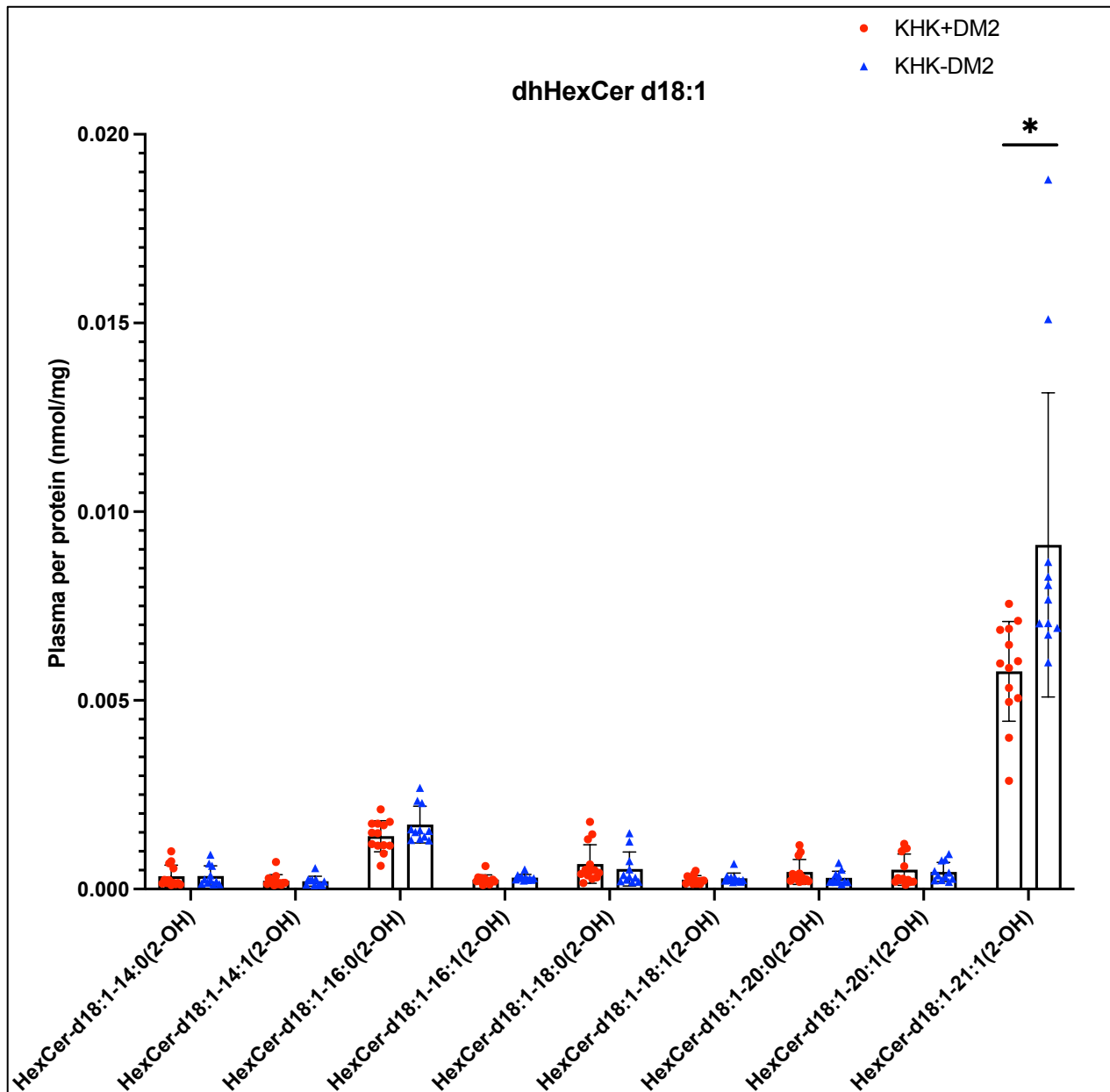


**Abb. 10:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:0 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und

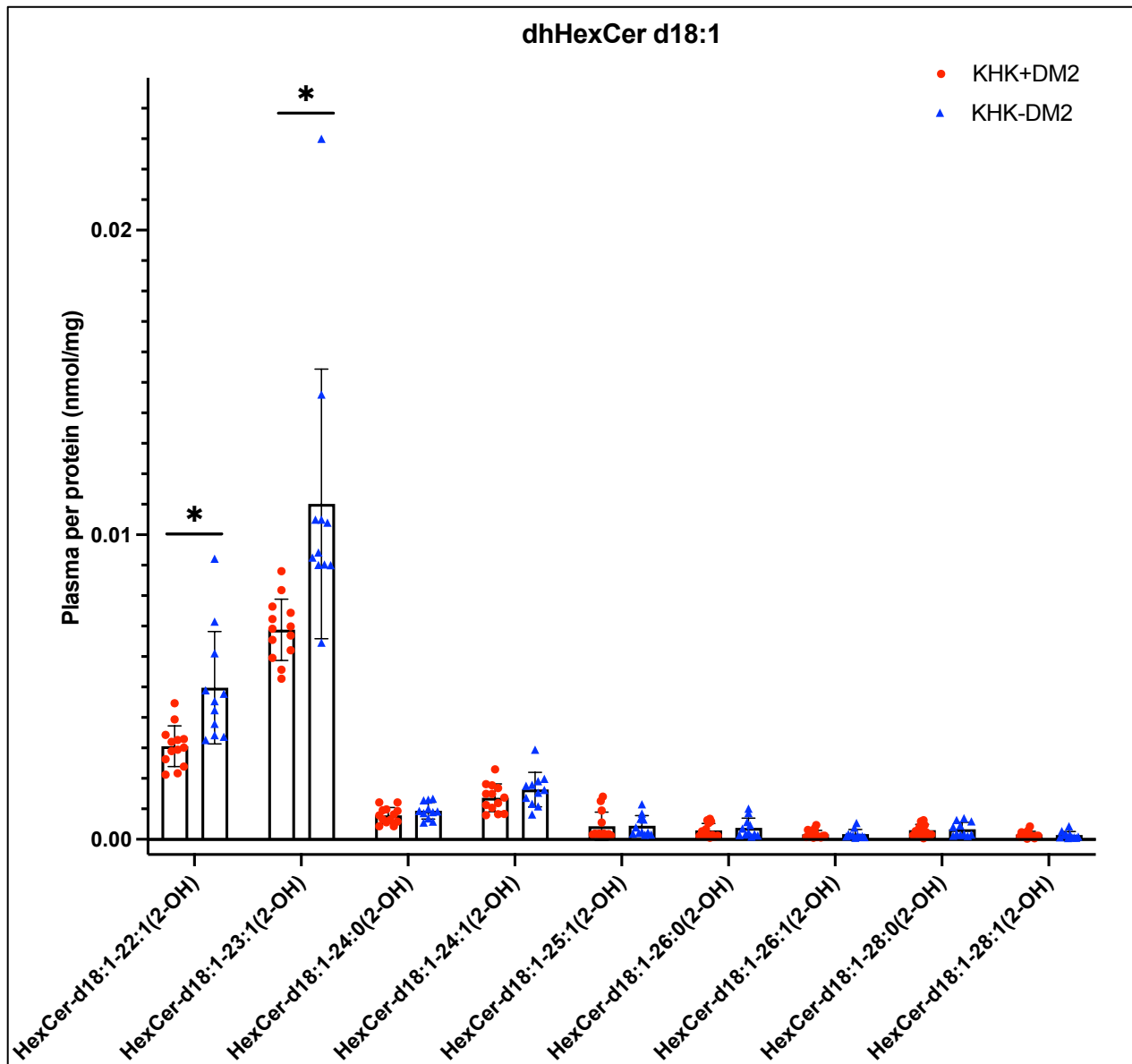
Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* = p-Wert <0,05, ausgewertet nach dem ungepaartem t-Test.

Für die Gruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 konnten bei den Dihydrohexosylceramide mit der Sphingoidstruktur d18:1 für folgende drei Dihydrohexosylceramide ein signifikanter Konzentrationsunterschied nachgewiesen werden: HexCer-d18:1-21:1(2-OH) (p=0,010), HexCer-d18:1-22:1(2-OH) (p=0,002) und HexCer-d18:1-23:1(2-OH) (p=0,003).

Die Abbildungen 11 und 12 stellen die quantitative Sphingolipidanalyse der Hexosylceramide d18:1 dar. Ceramide mit einem signifikanten Konzentrationsunterschied zwischen den Gruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 sind entsprechend markiert.



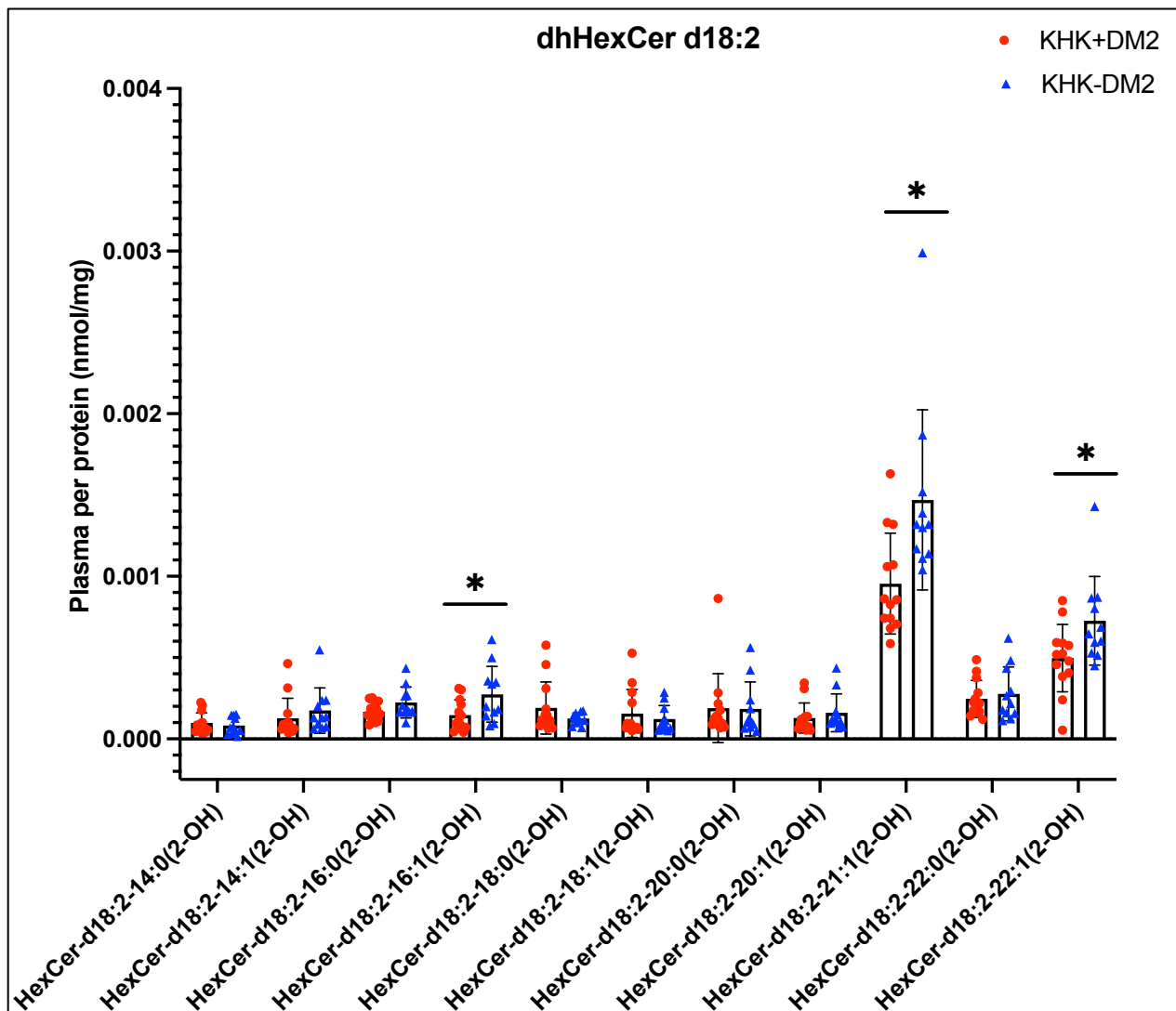
**Abb. 11:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* = p-Wert <0,05, ausgewertet nach dem ungepaartem t-Test.



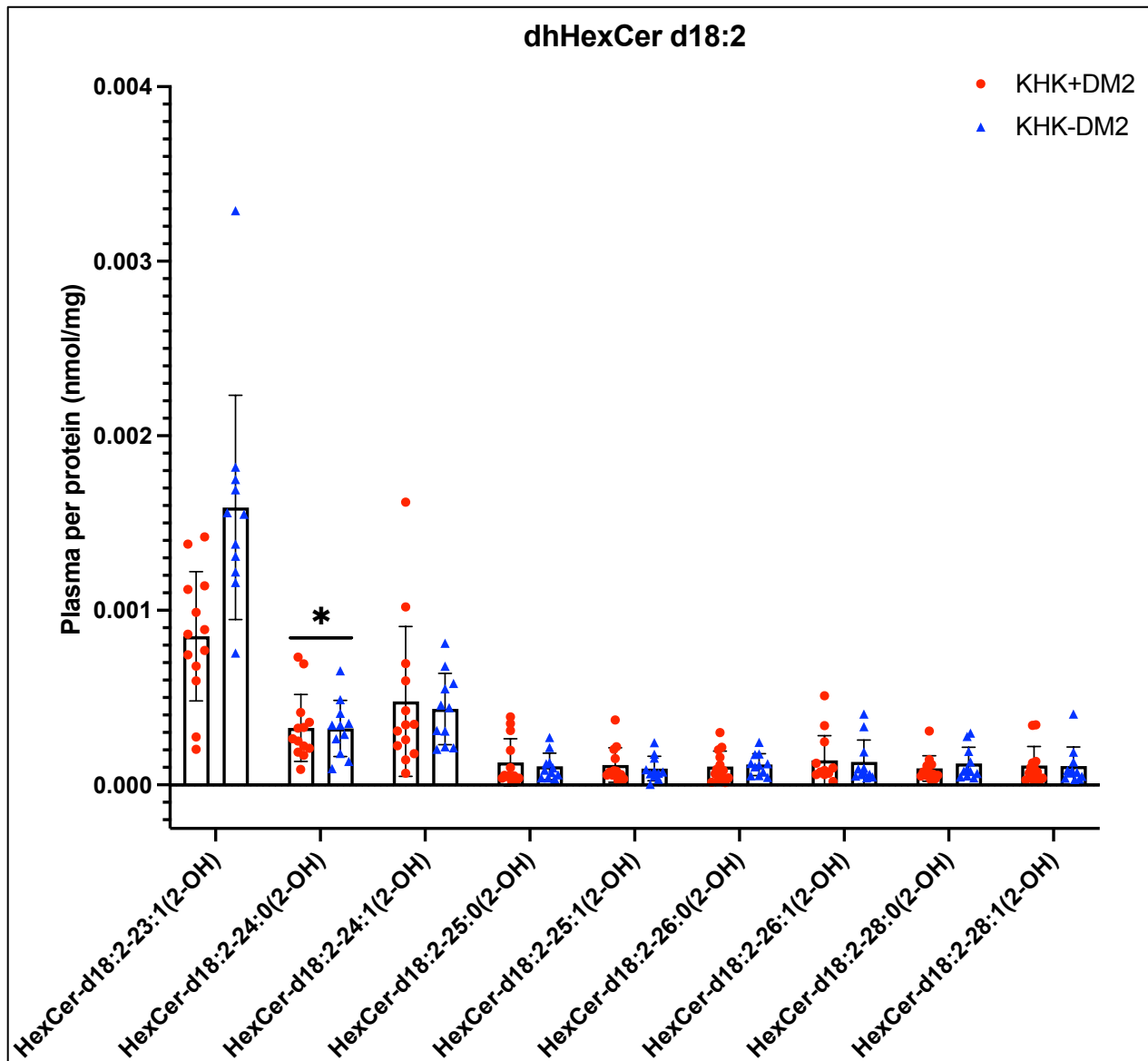
**Abb. 12:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* = p-Wert < 0,05, ausgewertet nach dem ungepaartem t-Test.

In der Klasse der Dihydrohexosylceramide d18:2 zeigten sich die Konzentrationen der vier folgenden Dihydrohexosylceramide signifikant unterschiedlich: HexCer-d18:2-16:1(2-OH) ( $p=0,030$ ), HexCer-d18:2-21:1(2-OH) ( $p=0,009$ ), HexCer-d18:2-22:1(2-OH) ( $p=0,030$ ) und HexCer-d18:2-23:1(2-OH) ( $p=0,002$ ).

Folgende Abbildungen dienen zur grafischen Darstellung der quantitativen Sphingolipidanalyse sowie der signifikanten Konzentrationsunterschiede der Hexosylceramide der Gruppe d18:2.



**Abb. 13:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:2 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* =  $p$ -Wert  $< 0,05$ , ausgewertet nach dem ungepaartem  $t$ -Test.



**Abb. 14:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:2 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). Es werden die individuellen Messwerte als Symbole sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen als Balken dargestellt. \* = p-Wert <0,05, ausgewertet nach dem ungepaartem t-Test.

Zusammenfassend zeigten sich in den untersuchten Patientengruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 zwischen 13 Hexosylceramiden und 8 Dihydrohexosylceramiden signifikante Konzentrationsunterschiede. Hierzu gehörten die Ceramide mit den folgenden Strukturen: HexCer-d18:1-18:1, HexCer-d18:1-20:0, HexCer-d18:1-22:0, HexCer-d18:1-22:1, HexCer-d18:1-23:0, HexCer-d18:1-23:1, HexCer-d18:1-24:0, HexCer-d18:1-24:1, HexCer-d18:1-25:1, HexCer-d18:2-18:0, HexCer-d18:2-22:0, HexCer-d18:2-24:0 und



HexCer-d18:2-24:1 sowie HexCer-d18:0-23:0(2-OH), HexCer-d18:1-21:1(2-OH), HexCer-d18:1-22:1(2-OH) und HexCer-d18:1-23:1(2-OH), HexCer-d18:2-16:1(2-OH), HexCer-d18:2-21:1(2-OH), HexCer-d18:2-22:1(2-OH) und HexCer-d18:2-23:1(2-OH). Für die 21 signifikanten Ceramide wurden jeweils in der Gruppe KHK-DM2 die höhere Plasmakonzentration gemessen.

## 4. Diskussion

Die KHK und der DM2 haben einen bedeutenden Einfluss auf die globale Gesundheit (Vos et al., 2020). Ihre Folgen verursachen erhebliche Kosten im Gesundheitssystem und sind häufige Ursachen für eine vorzeitige Sterblichkeit (Alabas et al., 2017; Einarson et al., 2018; Tönnies et al., 2019). Aus diesem Grunde sind beide Erkrankungen, ihre Pathogenese und Therapie in der aktuellen Forschung Themengebiete von zentraler Bedeutung. In den letzten Jahren rückte der Einfluss von Ceramiden als vielfältige Biomarker vermehrt in den Fokus. In wissenschaftlichen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass Ceramide einer bestimmten Länge sowohl an der Pathogenese der KHK als auch an der des DM2 beteiligt sind (Bismuth et al., 2008; Stratford et al., 2004; Summers et al., 1998). Zudem zeigten sich bei Patienten, die bereits an einem DM2 erkrankt waren oder im Rahmen der Studie erkrankten, erhöhte Ceramidkonzentrationen im Plasma (Bergman et al., 2015; Haus et al., 2009; Wigger et al., 2017). Darüber hinaus stellte man in weiteren Studien eine Assoziation zwischen der Erhöhung bestimmter Ceramidspiegel und einem schlechteren kardiovaskulären Outcome bei diesen Patienten fest (Hilvo et al., 2020; Laaksonen et al., 2016; Tarasov et al., 2014). Ceramide erweisen sich demnach als potentielle prognostische Biomarker sowie als möglicher Angriffspunkt für eine Therapie. Es ist bisher nicht bekannt, ob eine Erkrankung mit einem DM2 Einfluss auf die Ceramidkonzentrationen bei Patienten mit einer bestehenden KHK nimmt. Ziel der Studie war es daher, die Konzentrationsverhältnisse bei KHK-Patienten mit und ohne einem DM2 zu untersuchen. Dafür wurden die Konzentration von 266 verschiedenen Ceramiden im Plasma bei diesen Patientengruppen quantifiziert und miteinander verglichen. Die Studie begrenzte sich dabei auf die Analyse von Ceramiden, Dihydroceramiden und Hexosylceramiden mit Fettsäuren der Kohlenstofflänge C14-C28.

Die Erkenntnisse der Studien der letzten Jahre lassen die Vermutung zu, dass es zwischen den Konzentrationen von Ceramiden bestimmter Längen bei Patienten mit einem DM2 und einer KHK und bei Patienten mit einer alleinigen KHK signifikante Unterschiede geben könnte (Bergman et al., 2015; Haus et al., 2009; Hilvo et al., 2020; Laaksonen et al., 2016; Tarasov et al., 2014; Wigger et al., 2017). Für die Gesamtmenge aller gemessener Ceramide konnte in der vorliegenden Arbeit kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen von KHK-Patienten mit und ohne einen DM2 nachgewiesen werden.

Darüber hinaus ergab die Sphingolipidquantifizierung, dass Patienten, die alleinig an einer KHK litten, für den mehrheitlichen Anteil der analysierten Ceramidspezies eine höhere Konzentration aufwiesen als Patienten, die zusätzlich an einem DM2 erkrankt waren. Hier konnten wir bei 21 verschiedenen Ceramiden signifikante Unterschiede in den mittleren Plasmakonzentrationen zwischen den ausgewählten Patientengruppen nachweisen (siehe Abb. 5, Kapitel 3.3). Keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zeigten sich hingegen bei den mittleren Ceramidkonzentrationen, die bei den KHK-Patienten mit einem DM2 höher waren (siehe Abb. 5, Kapitel 3.3). Darunter fielen beispielsweise einfache Ceramide mit der Struktur Cer-d18:1-16:0, Cer-d18:1-18:0, Cer-d18:1-20:0 oder Cer-d18:1-22:0 und Dihydroceramide mit der Struktur Cer-d18:0-16:0(2-OH), Cer-d18:0-18:0(2-OH) oder Cer-d18:0-22:0(2-OH). Andere Autoren wiederum konnten in ihren Arbeiten einen Zusammenhang zwischen einer signifikanten Konzentrationserhöhung von Ceramiden dieser Strukturen (Cer-d18:1-18:0, Cer-d18:1-20:0 und Cer-d18:1-22:0) sowie Dihydroceramiden (Cer-d18:0) und Patienten, die im Laufe ihrer Studien einen DM2 entwickelten, belegen (Fretts et al., 2020; Hilvo et al., 2018; Meikle et al., 2013; Wigger et al., 2017). Bei einer weiteren Studie mit jungen, übergewichtigen Patientinnen, die bereits an einem DM2 litten und mit gesunden Probandinnen verglichen wurden, zeigten sich ebenfalls die Ceramide Cer-d18:1 der Kettenlänge C18:0, C20:0 sowie C22:0 und das Dihydroceramid mit der Fettsäure C24:1 im Plasma ebenfalls signifikant erhöht (Lopez et al., 2013). Es ist allerdings zu beachten, dass die anderen Autoren die Ceramidkonzentrationen im Plasma von Diabeteserkrankten mit gesunden Probanden verglichen. In der vorliegenden Arbeit litten hingegen beide Patientengruppen an einer KHK und es fehlte eine dritte gesunde Vergleichsgruppe. Zudem wurden 12 der 13 Patienten aus der Gruppe KHK+DM2 mit einem bereits bestehenden DM2 in die Studie aufgenommen. Lediglich bei einem Patienten wurde im Rahmen seines stationären Aufenthaltes zum Zeitpunkt der durchgeführten Studie ein DM2 erstmalig festgestellt. Bei den Arbeiten der Autoren Fretts et al. (2020), Hilvo et al. (2018), Meikle et al. (2013) und Wigger et al. (2017) handelte es sich jedoch um langjährige Studien, bei denen die Patienten erst im Verlauf an einem DM2 erkrankten. Hinzu kommt, dass 11 der 13 Patienten, die an einem DM2 erkrankt waren, bei der vorliegenden Arbeit zum Zeitpunkt der Studie bereits eine antidiabetische Therapie in Form oraler Medikamente, Insulintherapie oder einer Kombination aus beiden erhielten (siehe Tab. 4). Zum Einfluss von Antidiabetika auf intrazelluläre

Ceramidkonzentrationen wurden in der Vergangenheit bereits Studien durchgeführt. Die Autoren Zabielski et al. (2017) konnten für Metformin eine senkende Wirkung auf den intrazellulären Ceramidgehalt in Muskelzellen von Ratten nachweisen. Ishibashi und Hirabayashi (2015) konnten ebenfalls eine senkende Wirkung von Metformin auf den intrazellulären Glucosylceramidgehalt nachweisen. Zudem reduzierte Metformin in ihren Untersuchungen die intrazelluläre zur Synthese von Hexosylceramiden erforderliche UDP-Glucose (Ishibashi und Hirabayashi, 2015). Es ist also möglich, dass Metformin nicht nur eine senkende Wirkung auf die intrazelluläre Ceramid- und Glucosylceramidkonzentrationen besitzt, sondern auch die Konzentrationen im Plasma beeinflussen kann. Dies wäre ein potentieller Grund für die niedrigen Ceramidkonzentrationen im Plasma bei den KHK-Patienten mit DM2 und einer antidiabetischen Therapie verglichen mit den KHK-Patienten ohne einen DM2 und ohne antidiabetische Therapie. Um zu einer validen Schlussfolgerung zu gelangen, sind dennoch weitere Studien zu diesem Thema notwendig. Für die Antidiabetikakombination aus Glucagon-like Peptide-1-Rezeptor (GLP-1-R) Agonisten und Metformin konnte bereits eine senkende Wirkung auf den Ceramidgehalt im Plasma bei Menschen nachgewiesen werden (Jendle et al., 2021). Darüber hinaus zeigte sich in der Studie von Zabielski et al. (2017) nach Metformingabe eine gesteigerte Insulinsensitivität der Muskelzellen durch vermehrte Akt/PKB Phosphorylierung. Demzufolge besitzt Metformin auch einen antagonistischen Effekt gegenüber der dephosphorylierenden Wirkung von Ceramiden und senkt die Insulinresistenz steigernde Wirkung von Ceramiden (Stratford et al., 2004; Summers et al., 1998). Zietzer et al. (2021) belegten in einer Studie ähnlich positive Effekte beim Einsatz eines pharmakologischen Sphingomyelinasehemmers. Die Inhibition des Salvage Pathways der Ceramidsynthese führte sowohl zu einer Senkung des Ceramidgehaltes in EZV als auch zur Verminderung der durch Hyperglycämie vermittelten Apoptose von Endothelzellen. Anhand dieser Erkenntnisse eröffnen sich neue vielversprechende Therapiemöglichkeiten von Antidiabetika und Ceramidsynthesehemmern im Hinblick auf ihre konzentrationsenkende Wirkung und die daraus resultierende Risikoreduktion für die Entwicklung eines DM2 sowie für ein schlechteres kardiovaskuläres Outcome.

Im Blut werden Ceramide überwiegend mithilfe von Lipoproteinen, wie LDL-Cholesterin, transportiert. Bei DM2-Patienten ist der Anteil dieser zirkulierenden LDL-Ceramiden im Plasma erhöht (Boon et al., 2013). Für Cholesterinsenker, wie beispielsweise Simvastatin,

Rosuvastatin oder Proproteinase Subtilisin/Kexin Typ 9 (PCSK9)-Inhibitoren, konnte in der Vergangenheit bereits ein zusätzlich senkender Einfluss auf die Ceramidkonzentration im Plasma nachgewiesen werden (Jänis et al., 2013; Ng et al., 2014; Tarasov et al., 2014). In der vorliegenden Arbeit nahmen bis auf zwei Patienten alle Teilnehmer ein cholesterinsenkendes Medikament ein. Die Ceramidkonzentrationen der Patienten unserer Studie wurden demzufolge möglicherweise durch die Einnahme einer cholesterinsenkenden Therapie beeinflusst und waren zum Studienzeitpunkt niedriger als sie ohne den Einfluss von Medikamenten gewesen wären. Die Patienten der Gruppe KHK+DM2 nahmen bis auf einen Probanden zudem Antidiabetika ein, die wie bereits beschrieben, den Ceramidspiegel ebenfalls senken können. Diese Gegebenheiten wären eine mögliche Ursache für eine umso stärkere erniedrigte Ceramidkonzentration bei den Patienten der Gruppe KHK+DM2.

Überdies ist es möglich, dass die unterschiedlichen Lebensstile der Patienten einen Effekt auf die Ceramid- und Dihydroceramidkonzentration im Plasma haben könnten. Vergangene Studien wiesen für bestimmte Ernährungsweisen und ein gewisses Ausmaß an körperlicher Aktivität einen passageren Einfluss auf die Konzentrationen nach (Bruce et al., 2006; Dubé et al., 2008, , 2011; Lankinen et al., 2016; Wang et al., 2017). Die Ernährungsgewohnheiten und das Ausmaß an körperlicher Aktivität sind in der vorliegenden Studie für die teilnehmenden Patienten nicht bekannt. Ein potentieller Einfluss dieser Faktoren ist dennoch nicht auszuschließen. Zur weiteren Untersuchung und Erkenntnis sind nähere Befragungen zu den Lebensgewohnheiten notwendig.

In der Studienkohorte litten vier Patienten an einer chronischen Niereninsuffizienz. Die Patienten gehörten jeweils in die Gruppe der Diabeteserkrankten. Kürzlich veröffentlichte Studien wiesen für Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz erhöhte Werte für zirkulierende langkettige und überlangkettige Ceramide nach (Liu et al., 2017; Mantovani et al., 2021). Dennoch waren in der vorliegenden Arbeit die mittleren Konzentrationen der meisten Ceramide bei den Patienten der Gruppe KHK-DM2, dessen Nierenfunktion erhalten waren, höher als bei den Patienten der Gruppe KHK+DM2. Des Weiteren war in der Gruppe KHK+DM2 der Mittelwert für das C-reaktive Protein (CRP) höher als in der Gruppe KHK-DM2. Mantovani et al. (2020) konnten in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen erhöhten CRP-Werten und erhöhten Ceramidkonzentrationen nachweisen. Es bestehen jedoch Unterschiede zwischen der vorliegenden Arbeit und den Studien, die einen

Zusammenhang zwischen erhöhten Ceramidspiegeln im Plasma und einer chronischen Niereninsuffizienz sowie erhöhten CRP-Werten sahen: In den vergangenen Studien wurden die Ceramidplasmawerte und Laborwerte von Patienten über einen längeren Zeitraum gemessen (Liu et al., 2017; Mantovani et al., 2020 Mantovani et al., 2021). Bei den Laborwerten in unserer Studie handelt es sich jedoch um Momentaufnahmen zum Zeitpunkt der erfolgten Koronarangiografien.

Wie bereits erwähnt, konnten wir für insgesamt 21 Ceramide signifikante Unterschiede in den Plasmakonzentrationen zwischen den ausgewählten Patientengruppen nachweisen. Dies traf ausschließlich auf die Gruppen der folgenden Hexosylceramide und Dihydrohexosylceramide zu: HexCer-d18:1-18:1, HexCer-d18:1-20:0, HexCer-d18:1-22:0, HexCer-d18:1-22:1, HexCer-d18:1-23:0, HexCer-d18:1-23:1, HexCer-d18:1-24:0, HexCer-d18:1-24:1, HexCer-d18:1-25:1, HexCer-d18:2-18:0, HexCer-d18:2-22:0, HexCer-d18:2-24:0 und HexCer-d18:2-24:1 sowie HexCer-d18:0-23:0(2-OH), HexCer-d18:1-21:1(2-OH), HexCer-d18:1-22:1(2-OH) und HexCer-d18:1-23:1(2-OH), HexCer-d18:2-16:1(2-OH), HexCer-d18:2-21:1(2-OH), HexCer-d18:2-22:1(2-OH) und HexCer-d18:2-23:1(2-OH). Die Plasmakonzentrationen der signifikanten Ceramide waren bei den Patienten mit einer alleinigen KHK stets höher als bei den Patienten, die zusätzlich einen DM2 hatten. In den Gruppen der einfachen Ceramide und der Dihydroceramide zeigten sich zwischen den Gruppen KHK+DM2 und KHK-DM2 keine signifikanten Konzentrationsunterschiede. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Lopez et al (2013): Das Glucosylceramid (Cer-d18:1) der Länge C24:1 war bei den Diabetespatientinnen im Vergleich zu den Ceramiden und Dihydroceramiden zu einer gesunden Kontrollgruppe ebenfalls erniedrigt. Auch die Studie von Fretts et al. (2020) konnte keinen Zusammenhang zwischen erhöhten Glucosylceramiden und der Manifestation eines DM2 sehen. In der australischen Studie von Meikle et al. (2013) wurde zudem ein negativer Zusammenhang zwischen Di- und Trihexosylceramiden und DM2 nachgewiesen. Demzufolge stehen erhöhte Glucosylceramidkonzentrationen im Plasma und eine DM2-Erkrankung möglicherweise in einem inversen Zusammenhang. Diese und unsere Erkenntnisse stehen jedoch im Gegensatz zu den Ergebnissen der Autoren Aerts et al. (2007), die zwischen Glucosylceramiden und einem DM2 einen Zusammenhang sahen. Sie wiesen wiederum in ihrer Arbeit nach, dass neben der intrazellulären Ceramidkonzentration auch die Glucosylceramidkonzentration in den Leberzellen von DM2-Modellnagetieren erhöht waren. Darüber hinaus führte die Inhibition

der Glucosylceramidsynthese zu einer intrazellulären Reduktion der jeweiligen Ceramidkonzentrationen, einem erniedrigten HbA1c-Wert, einer verbesserten Insulinsensitivität der Muskel- und Leberzellen sowie zu einem verbesserten Erhalt funktionsfähiger pankreatischer Betazellen (Aerts et al., 2007). Die aktuelle Forschung scheint sich zum Thema Hexosylceramide und ihr Einfluss auf DM2 nicht einig zu sein, weshalb weitere Studien zu dem Kontext notwendig sind, um deren Rolle in der Genese und dem Progress von DM2 endgültig identifizieren zu können.

Ein essenzieller Bestandteil der Ceramide sind die Fettsäuren (Fahy et al., 2005). Betrachtet man die Struktur der signifikanten Hexosyl- und Dihydrohexosylceramide der vorliegenden Studie genauer, fällt auf, dass ihre Fettsäuren hauptsächlich der Gruppe überlangkettiger Fettsäuren (>C20) angehören. Assoziiert mit einer erhöhten DM2-Inzidenz sind vor allem erhöhte Plasmalevel langkettiger Fettsäuren mit einer geraden Kohlenstoffatomanzahl, wie beispielsweise C14:0, C16:0 und C18:0 (Forouhi et al., 2014). Des Weiteren lieferten mehrere Studien den Hinweis darauf, dass eine erhöhte Konzentration überlangkettiger Fettsäuren wie C20:0, C22:0-C24:0 oder Fettsäuren ungerader Längen wie C15:0 und C17:0 negativ mit der Inzidenz eines DM2 verknüpft sind (Ardisson Korat et al., 2020; Forouhi et al., 2014; Lemaitre et al., 2015). Dies bedeutet, dass eine Plasmaerhöhung der Fettsäuren dieser Länge das DM2-Risiko senkt. In der Arbeit von Lemaitre et al. (2015) ergab sich zudem ein Zusammenhang zwischen der Erhöhung dieser Fettsäuren und einem erhöhten LDL-Cholesterin. Da Fettsäuren Hauptbestandteil der Ceramidstrukturen im Allgemeinen sind, lässt dies die These zu, dass auch Ceramide mit überlangkettigen Fettsäuren negativ mit einer DM2-Erkrankung assoziiert sein könnten. Zur näheren Überprüfung sind jedoch weitere Studien und Untersuchungen mit einer höheren Teilnehmerzahl notwendig.

Insgesamt konnten wir mit der Studie den Nachweis erbringen, dass sich die Plasmakonzentrationen bestimmter Ceramidgruppen bei Patienten mit einer KHK und einem DM2 und Patienten mit einer alleinigen KHK signifikant voneinander unterscheiden.

#### Limitationen der Studie

Die vorliegende Arbeit hat Limitationen. Zunächst war die Anzahl der in die Studie letztendlich eingeschlossenen Patienten auf 24 recht gering. Für eine Erhöhung der Validität wäre es demnach notwendig, die Studie mit einer größeren Patientenzahl zu wiederholen.

Zusätzlich wäre der Vergleich der Ceramidkonzentrationen mit einer dritten, vollständig gesunden Patientengruppe erforderlich, um eine verbesserte Aussagekraft hinsichtlich des Verhaltens der Ceramidkonzentrationen unter DM2- und KHK-Erkrankten treffen zu können. Es ist nicht auszuschließen, dass Tagesschwankungen die Ceramidkonzentration im Plasma beeinflussen. Für eine erneute Studie wären daher Blutentnahmen zur selben Tageszeit vorzuziehen. Für die vorliegende Arbeit wurde kein Follow-Up zum Outcome der Patienten durchgeführt. Es ist demnach unbekannt, ob die eingeschlossenen Patienten nach der Studie ein fatales kardiovaskuläres Ereignis wie ein Myokardinfarkt oder Schlaganfall erlitten haben. Es lässt sich demnach keine Aussage bezüglich der Ceramidverhältnisse und einem erhöhten Risiko für das Vorkommen kardiovaskulärer Events treffen. Hierfür wäre ein langjähriges Follow-Up der Patienten mit Patientenbefragungen bezüglich des Vorkommens kardiovaskulärer Events notwendig. Bei der Studie wurden die Proben entweder vor oder nach der Koronarangiografie entnommen. Es ist möglich, dass die während der Koronarangiografie injizierten Mittel wie Kontrastmittel oder Heparin die Messung des Ceramidgehalts im Plasma beeinflussen. Zudem ist eine Infektion oder Entzündung bei den Probanden nicht vollständig auszuschließen. Wie in der Diskussion bereits erörtert, könnten die verschiedenen medikamentösen Therapien der Patienten einen Einfluss auf die Ceramidspiegel haben. Die Geräte zur Quantifizierung von Sphingolipiden im Blutplasma sind aufgrund des hohen finanziellen Aufwandes aktuell kein etablierter Bestandteil im klinischen Alltag. Zudem sind sie für herkömmliche klinische Laborverfahren derzeit in Deutschland noch nicht von Bedeutung. Dies reduziert die Möglichkeit für den alltäglichen klinischen Einsatz.

#### Ausblick

Unsere Studie konnte bestätigen, dass sich die Plasmakonzentrationen bestimmter Ceramidgruppen zwischen KHK-Patienten mit einem DM2 und KHK-Patienten ohne einem DM2 voneinander unterscheiden. Sie erbringt zudem Hinweise für einen ceramidsenkenden Effekt der Antidiabetika.

Erweitert man die vorliegende Studie um ein Follow-up der Patienten, lassen sich möglicherweise Zusammenhänge zwischen dem Auftreten fataler kardiovaskulärer Ereignisse und den Ceramidprofilen der Patienten erkennen. Stellt man diese Ergebnisse in den klinischen Kontext, ergibt sich ein potentieller Nutzen für die Ceramidmessung als hilfreiche



Risikoparameter für KHK-Patienten mit einem DM2. Als Konsequenz könnte eine darauf folgende gezielte Therapie, zum Beispiel mithilfe von Antidiabetika, zu einer frühzeitigen Risikominderung führen. In den USA wird die Ceramidmessung mittels Massenspektrometrie für die Risikoermittlung eines Patienten für das Auftreten von fatalen kardiovaskulären Events innerhalb von fünf Jahren bereits in der Mayo Clinic (Rochester, Minnesota, USA) klinisch durchgeführt (Mayo Clinic, 2018; Mayo Clinic Laboratories, 2022). Möglicherweise wird dies in Deutschland nach dem Beweis signifikanter Risikominderung zukünftig ebenfalls möglich sein.

## 5. Zusammenfassung

Ceramide sind Sphingolipide, die unter anderem eine essenzielle Rolle als Mediatoren auf zellulärer Ebene in inflammatorischen Prozessen spielen. Hierzu gehören beispielsweise die KHK und DM2. Studien der letzten Jahre konnten zudem nachweisen, dass es einen Zusammenhang zwischen der Plasmaerhöhung von Ceramiden bestimmter Länge und einem erhöhten kardiovaskulären Risiko sowie einem erhöhten Risiko für die Manifestation eines DM2 bei Patienten gibt. Ceramide sind somit neue potentielle Biomarker zur Diagnostik und Risikostratifizierung für die KHK sowie einen DM2 und bieten Potential für neue Therapieansätze.

Das Ziel dieser Studie war es zu zeigen, ob sich die Plasmakonzentrationen von Ceramiden bestimmter Länge signifikant zwischen Patienten mit einer KHK (KHK+DM2) und einem DM2 und Patienten mit einer KHK und ohne einen DM2 (KHK-DM2) unterscheiden. Des Weiteren könnten die Ceramidprofile möglicherweise als zukünftige Risikomarker für die Progression der Atherosklerose bei KHK-Patienten mit einem DM2 genutzt werden. In die Studie wurden insgesamt 24 KHK-Patienten eingeschlossen. 13 Patienten litten zusätzlich an einem DM2. Für die Lipidanalyse wurden den Patienten vor oder nach der Durchführung einer Koronarangiografie arterielles EDTA-Blut abgenommen. Über Massenspektrometrie wurden die Konzentrationen von 266 verschiedenen Ceramide, Dihydroceramide, Hexosylceramide und Dihydrohexosylceramide quantifiziert und miteinander verglichen.

Die Sphingolipidquantifizierung ergab, dass die Mehrheit (63,5 %) der gemessenen Ceramide höhere Plasmaspiegel in KHK-Patienten ohne eine DM2-Erkrankung vorwies als in KHK-Patienten mit einem DM2. Insgesamt ergaben sich 21 signifikante Unterschiede zwischen den Ceramidkonzentrationen im Plasma beider Patientengruppen. Signifikant zeigten sich 13 Hexosylceramide der Längen C18, C20 sowie C22-C25 und 8 Dihydrohexosylceramiden der Längen C16 und C21-C23. Hier ergaben sich für Patienten der Gruppe KHK-DM2 höhere Plasmaspiegel als für die Patienten der Gruppe KHK+DM2. Innerhalb der Konzentrationen der einfachen Ceramide und Dihydroceramide wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientengruppen gemessen. Wir konnten in dieser Studie nachweisen, dass sich die Ceramidprofile im Plasma zwischen KHK-Patienten mit und ohne einen DM2 voneinander unterscheiden.

## 6. Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Oben: Beispielhafte Strukturdarstellung des Glucosylceramids. Die Angabe 16-24 steht für die variable Fettsäurenkettenlänge. Unten: Unterschiedliche Verteilung der Glucosylceramide verschiedener Kettenlängen in den jeweiligen Organen bei Mäusen (entnommen aus Ishibashi et al., 2013). Publikationserlaubnis über RightsLink/Elsevier, Lizenznummer 5586501301208 S. 18

**Abbildung 2:** Die Zusammenhänge der verschiedenen Sphingolipidstoffwechselwege (entnommen aus Hannun und Obeid, 2008). Publikationserlaubnis über RightsLink/Elsevier Lizenznummer 5586491466678 S. 19

**Abbildung 3:** Studienaufbau. S. 24

**Abbildung 4:** Darstellung der mittleren Gesamtkonzentration aller gemessenen Ceramide der Gruppen KHK+DM2 (rot) und KHK-DM2 (blau). S.36

**Abbildung 5:** Volcanoplot: Auswertungsgrafik für die Vergleiche der Sphingolipidkonzentrationen. S.38

**Abbildung 6:** Grafische Darstellung der Hexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). S. 39

**Abbildung 7:** Grafische Darstellung der Hexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). S. 40

**Abbildung 8:** Grafische Darstellung der Hexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:2 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). S. 41

**Abbildung 9:** Grafische Darstellung der Hexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:2 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). S. 42

**Abbildung 10:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:0 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). S. 43

**Abbildung 11:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). S. 45

**Abbildung 12:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck). S. 46

**Abbildung 13:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck).  
S. 47

**Abbildung 14:** Grafische Darstellung der Dihydrohexosylceramidkonzentrationen HexCer d18:1 bei den Gruppen KHK+DM2 (roter Kreis) und KHK-DM2 (blaues Dreieck).  
S. 48

## 7. Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1:** Darstellung der in der Massenspektrometrie quantifizierten Sphingolipide. S. 28

**Tabelle 2:** Basischarakteristika, klinische Informationen aus der Koronarangiografie, kardiovaskuläre Risikofaktoren sowie relevante Vorerkrankungen aller Patienten. S.33

**Tabelle 3:** Relevante Dauermedikation aller Patienten zum Zeitpunkt der Studie. S.33

**Tabelle 4:** Antidiabetische Therapie der Patienten mit DM2 (KHK+DM2). S.34

**Tabelle 5:** Ausgewählte Laborparameter aller Patienten. S.34

## 8. Literaturverzeichnis

Adams JM II, Pratipanawatr T, Berria R, Wang E, DeFronzo RA, Sullards MC, Mandarino LJ. Ceramide Content Is Increased in Skeletal Muscle From Obese Insulin-Resistant Humans. *Diabetes* 2004; 53: 25–31

Aerts JM, Ottenhoff R, Powlson AS, Grefhorst A, van Eijk M, Dubbelhuis PF, Aten J, Kuipers F, Serlie MJ, Wennekes T, Sethi JK, O’Rahilly S, Overkleeft HS. Pharmacological Inhibition of Glucosylceramide Synthase Enhances Insulin Sensitivity. *Diabetes* 2007; 56: 1341–1349

Alabas OA, Hall M, Dondo TB, Rutherford MJ, Timmis AD, Batin PD, Deanfield JE, Hemingway H, Gale CP. Long-term excess mortality associated with diabetes following acute myocardial infarction: a population-based cohort study. *J Epidemiol Community Health* 2017; 71: 25

Alexopoulos N, Raggi P. Calcification in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol* 2009; 6: 681–688

Al-Rashed F, Ahmad Z, Thomas R, Melhem M, Snider AJ, Obeid LM, Al-Mulla F, Hannun YA, Ahmad R. Neutral sphingomyelinase 2 regulates inflammatory responses in monocytes/macrophages induced by TNF- $\alpha$ . *Sci Rep* 2020; 10: 16802

American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care* 2020; 44: S15–S33

Ardisson Korat AV, Malik VS, Furtado JD, Sacks F, Rosner B, Rexrode KM, Willett WC, Mozaffarian D, Hu FB, Sun Q. Circulating Very-Long-Chain SFA Concentrations Are Inversely Associated with Incident Type 2 Diabetes in US Men and Women. *J Nutr* 2020; 150: 340–349

Arenja N, Mueller C, Ehl NF, Brinkert M, Roost K, Reichlin T, Sou SM, Hochgruber T,

Osswald S, Zellweger MJ. Prevalence, Extent, and Independent Predictors of Silent Myocardial Infarction. *Am J Med* 2013; 126: 515–522

Astudillo L, Therville N, Colacios C, Ségui B, Andrieu-Abadie N, Levade T. Glucosylceramidases and malignancies in mammals. *Biochimie* 2016; 125: 267–280

Aune D, Norat T, Leitzmann M, Tonstad S, Vatten LJ. Physical activity and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose–response meta-analysis. *Eur J Epidemiol* 2015; 30: 529–542

Beier UH, Görögh T. Implications of galactocerebrosidase and galactosylcerebroside metabolism in cancer cells. *Int J Cancer* 2005; 115: 6–10

Bergman BC, Brozinick JT, Strauss A, Bacon S, Kerege A, Bui HH, Sanders P, Siddall P, Kuo MS, Perreault L. Serum sphingolipids: relationships to insulin sensitivity and changes with exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015; 309: E398–E408

Bismuth J, Lin P, Yao Q, Chen C. Ceramide: A common pathway for atherosclerosis? *Atherosclerosis* 2008; 196: 497–504

Boon J, Hoy AJ, Stark R, Brown RD, Meex RC, Henstridge DC, Schenk S, Meikle PJ, Horowitz JF, Kingwell BA, Bruce CR, Watt MJ. Ceramides Contained in LDL Are Elevated in Type 2 Diabetes and Promote Inflammation and Skeletal Muscle Insulin Resistance. *Diabetes* 2013; 62: 401–410

Borodzicz S, Czarzasta K, Kuch M, Cudnoch-Jedrzejewska A. Sphingolipids in cardiovascular diseases and metabolic disorders. *Lipids Health Dis* 2015; 14: 55

Bruce CR, Thrush AB, Mertz VA, Bezaire V, Chabowski A, Heigenhauser GJF, Dyck DJ. Endurance training in obese humans improves glucose tolerance and mitochondrial fatty acid oxidation and alters muscle lipid content. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291: E99–E107

Brügger B, Erben G, Sandhoff R, Wieland FT, Lehmann WD. Quantitative analysis of biological membrane lipids at the low picomole level by nano-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *PNAS* 1997; 94: 2339–2344

Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische KHK 2022; Version 6.0

Bundesärztekammer. Änderungen der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen - Rili-BÄK. *Dtsch Arztebl* 2022; 119 (47): A-2107/B-1743

Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber DK, Malcom GT, Smialek J, Virmani R. Healed Plaque Ruptures and Sudden Coronary Death. *Circulation* 2001; 103: 934–940

Burke AP, Kolodgie FD, Zieske A, Fowler DR, Weber DK, Varghese PJ, Farb A, Virmani R. Morphologic Findings of Coronary Atherosclerotic Plaques in Diabetics. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1266–1271

Carey VJ, Walters EE, Colditz GA, Solomon CG, Willett WC, Rosner BA, Speizer FE, Manson JE. Body Fat Distribution and Risk of Non-Insulin-dependent Diabetes Mellitus in Women: The Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 614–619

Castelli WP, Anderson K. A population at risk: Prevalence of high cholesterol levels in hypertensive patients in the framingham study. Selection of Initial Antihypertensive Therapy: New Perspectives on Coronary Heart Disease Risk Factors Provide New Insights. *Am J Med* 1986; 80: 23–32

Chan JM, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Obesity, Fat Distribution, and Weight Gain as Risk Factors for Clinical Diabetes in Men. *Diabetes Care* 1994; 17: 961–969



Chang Y, Yun KE, Jung H-S, Kim C-W, Kwon M-J, Sung E, Ryu S. A1C and Coronary Artery Calcification in Nondiabetic Men and Women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33: 2026–2031

Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *Lancet* 2017; 389: 2239–2251

Chaurasia B, Summers SA. Ceramides – Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders. *Trends Endocrinol Metabol* 2015; 26: 538–550

Chaurasia Bhagirath, Tippetts Trevor S., Mayoral Monibas Rafael, Liu Jinqi, Li Ying, Wang Liping, Wilkerson Joseph L., Sweeney C. Rufus, Pereira Renato Felipe, Sumida Doris Hissako, Maschek J. Alan, Cox James E., Kaddai Vincent, Lancaster Graeme Iain, Siddique Monowarul Mobin, Poss Annelise, Pearson Mackenzie, Satapati Santhosh, Zhou Heather, McLaren David G., Previs Stephen F., Chen Ying, Qian Ying, Petrov Aleksandr, Wu Margaret, Shen Xiaolan, Yao Jun, Nunes Christian N., Howard Andrew D., Wang Liangsu, Erion Mark D., Rutter Jared, Holland William L., Kelley David E., Summers Scott A.. Targeting a ceramide double bond improves insulin resistance and hepatic steatosis. *Science* 2019; 365: 386–392

Cho YS, Chen C-H, Hu C, Long J, Hee Ong RT, Sim X, Takeuchi F, Wu Y, Go MJ, Yamachi T, Chang Y-C, Kwak SH, Ma RCW, Yamamoto K, Adair LS, Aung T, Cai Q, Chang L-C, Chen Y-T, Gao Y, Hu FB, Kim H-L, Kim S, Kim YJ, Lee JJ-M, Lee NR, Li Y, Liu JJ, Lu W, Nakamura J, Nakashima E, Ng DP-K, Tay WT, Tsai F-J, Wong TY, Yokota M, Zheng W, Zhang R, Wang C, So WY, Ohnaka K, Ikegami H, Hara K, Cho YM, Cho NH, Chang T-J, Bao Y, Hedman ÅK, Morris AP, McCarthy MI, Takayanagi R, Park KS, Jia W, Chuang L-M, Chan JCN, Maeda S, Kadowaki T, Lee J-Y, Wu J-Y, Teo YY, Tai ES, Shu XO, Mohlke KL, Kato N, Han B-G, Seielstad M, DIAGRAM Consortium, MuTHER Consortium. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies eight new loci for type 2 diabetes in east Asians. *Nat Genet* 2012; 44: 67–72

Collet J-P, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, Dendale P, Dorobantu M, Edvardsen T, Folliguet T, Gale CP, Gilard M, Jobs A, Jüni P, Lambrinou E,

Lewis BS, Mehilli J, Meliga E, Merkely B, Mueller C, Roffi M, Rutten FH, Sibbing D, Siontis GCM, Chettibi M, Hayrapetyan HG, Metzler B, Najafov R, Stelmashok VI, Claeys M, Kušljugić Z, Gatzov PM, Skoric B, Panayi G, Mates M, Sorensen R, Shokry K, Marandi T, Kajander OA, Commeau P, Aladashvili A, Massberg S, Nikas D, Becker D, Guðmundsdóttir IJ, Peace AJ, Beigel R, Indolfi C, Aidargaliyeva N, Elezi S, Beishenkulov M, Maca A, Gustiene O, Degrell P, Cassar Maempel A, Ivanov V, Damman P, Kedev S, Steigen TK, Legutko J, Morais J, Vinereanu D, Duplyakov D, Zavatta M, Pavlović M, Orban M, Bunc M, Ibañez B, Hofmann R, Gaemperli O, Marjeh YB, Addad F, Tutar E, Parkhomenko A, Karia N, ESC Scientific Document Group. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2021; 42: 1289–1367

Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, Bailey CJ, Ceriello A, Delgado V, Federici M, Filippatos G, Grobbee DE, Hansen TB, Huikuri HV, Johansson I, Jüni P, Lettino M, Marx N, Mellbin LG, Östgren CJ, Rocca B, Roffi M, Sattar N, Seferović PM, Sousa-Uva M, Valensi P, Wheeler DC, ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: The Task Force for diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J* 2020; 41: 255–323

D'Angelo G, Polishchuk E, Tullio GD, Santoro M, Campi AD, Godi A, West G, Bielawski J, Chuang C-C, van der Spoel AC, Platt FM, Hannun YA, Polishchuk R, Mattjus P, De Matteis MA. Glycosphingolipid synthesis requires FAPP2 transfer of glucosylceramide. *Nature* 2007; 449: 62–67

DeFronzo RA. The Triumvirate:  $\beta$ -Cell, Muscle, Liver: A Collusion Responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988; 37: 667–687

DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC. Fasting hyperglycemia in non-insulin-

dependent diabetes mellitus: Contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism* 1989; 38: 387–395

Dubé JJ, Amati F, Stefanovic-Racic M, Toledo FGS, Sauers SE, Goodpaster BH. Exercise-induced alterations in intramyocellular lipids and insulin resistance: the athlete's paradox revisited. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 294: E882–E888

Dubé JJ, Amati F, Toledo FGS, Stefanovic-Racic M, Rossi A, Coen P, Goodpaster BH. Effects of weight loss and exercise on insulin resistance, and intramyocellular triacylglycerol, diacylglycerol and ceramide. *Diabetologia* 2011; 54: 1147–1156

Edsfeldt A, Dunér P, Ståhlman M, Mollet IG, Ascitutto G, Grufman H, Nitulescu M, Persson AF, Fisher RM, Melander O, Orho-Melander M, Borén J, Nilsson J, Gonçalves I. Sphingolipids Contribute to Human Atherosclerotic Plaque Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016; 36: 1132–1140

Einarson TR, Acs A, Ludwig C, Panton UH. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007–2017. *Cardiovasc Diabetol* 2018; 17: 83

Fahy E, Subramaniam S, Brown HA, Glass CK, Merrill AH Jr, Murphy RC, Raetz CRH, Russell DW, Seyama Y, Shaw W, Shimizu T, Spener F, van Meer G, VanNieuwenhze MS, White SH, Witztum JL, Dennis EA. A comprehensive classification system for lipids<sup>1</sup>. *J Lipid Res* 2005; 46: 839–861

Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary Plaque Disruption. *Circulation* 1995; 92: 657–671

Fleck E, Heinemann M, Meinertz T, Bestehorn K, Pott A, Rohjans M. *Deutscher Herzbericht* 2020 2021; 32: 62

Forouhi NG, Koulman A, Sharp SJ, Imamura F, Kröger J, Schulze MB, Crowe FL, Huerta JM, Guevara M, Beulens JW, van Woudenberg GJ, Wang L, Summerhill K, Griffin JL,

Feskens EJ, Amiano P, Boeing H, Clavel-Chapelon F, Dartois L, Fagherazzi G, Franks PW, Gonzalez C, Jakobsen MU, Kaaks R, Key TJ, Khaw K-T, Kühn T, Mattiello A, Nilsson PM, Overvad K, Pala V, Palli D, Quirós JR, Rolandsson O, Roswall N, Sacerdote C, Sánchez M-J, Slimani N, Spijkerman AM, Tjønneland A, Tormo M-J, Tumino R, van der A DL, van der Schouw YT, Langenberg C, Riboli E, Wareham NJ. Differences in the prospective association between individual plasma phospholipid saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: the EPIC-InterAct case-cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2: 810–818

Fox CS, Sullivan L, D'Agostino RB Sr, Wilson PWF. The Significant Effect of Diabetes Duration on Coronary Heart Disease Mortality: The Framingham Heart Study. *Diabetes Care* 2004; 27: 704–708

Fretts AM, Jensen PN, Hoofnagle A, McKnight B, Howard BV, Umans J, Yu C, Sitlani C, Siscovick DS, King IB, Sotoodehnia N, Lemaitre RN. Plasma Ceramide Species Are Associated with Diabetes Risk in Participants of the Strong Heart Study. *J Nutr* 2020; 150: 1214–1222

Gault CR, Obeid LM, Hannun YA. An Overview of Sphingolipid Metabolism: From Synthesis to Breakdown. *Adv Exp Med Biol* 2010; 688: 1–23

Gößwald A, Schienkiwitz A, Nowossadeck E, Busch M.A. Prävalenz von Herzinfarkt und koronarer Herzkrankheit bei Erwachsenen im Alter von 40 bis 79 Jahren in Deutschland. in: *Bundesgesundheitsbl*, Hrsg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013; 56: 560-565

Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S, Ratheiser K, Zyck K, Ferrannini E, DeFronzo RA. Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest* 1989; 84: 205–213

Hannun YA, Obeid LM. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 139–150

Haus JM, Kashyap SR, Kasumov T, Zhang R, Kelly KR, DeFronzo RA, Kirwan JP. Plasma Ceramides Are Elevated in Obese Subjects With Type 2 Diabetes and Correlate With the Severity of Insulin Resistance. *Diabetes* 2009; 58: 337–343

Heidemann C, Scheidt-Nave C. Prävalenz, Inzidenz und Mortalität von Diabetes mellitus bei Erwachsenen in Deutschland – Bestandsaufnahme zur Diabetes-Surveillance; *J Health Monit* 2017; 2: 105–129

Hilvo M, Meikle PJ, Pedersen ER, Tell GS, Dhar I, Brenner H, Schöttker B, Lääperi M, Kauhanen D, Koistinen KM, Jylhä A, Huynh K, Mellett NA, Tonkin AM, Sullivan DR, Simes J, Nestel P, Koenig W, Rothenbacher D, Nygård O, Laaksonen R. Development and validation of a ceramide- and phospholipid-based cardiovascular risk estimation score for coronary artery disease patients. *Eur Heart J* 2020; 41: 371–380

Hilvo M, Salonurmi T, Havulinna AS, Kauhanen D, Pedersen ER, Tell GS, Meyer K, Teeriniemi A-M, Laatikainen T, Jousilahti P, Savolainen MJ, Nygård O, Salomaa V, Laaksonen R. Ceramide stearic to palmitic acid ratio predicts incident diabetes. *Diabetologia* 2018; 61: 1424–1434

Hla T. Physiological and pathological actions of sphingosine 1-phosphate. *Semin Cell Dev Biol* 2004; 15(5): 513–520

Hoff JA, Quinn L, Sevrukov A, Lipton RB, Daviglius M, Garside DB, Ajmere NK, Gandhi S, Kondos GT. The prevalence of coronary artery calcium among diabetic individuals without known coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1008–1012

Hotamisligil Gökhan S., Shargill Narinder S., Spiegelman Bruce M.. Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ : Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance. *Science* 1993; 259: 87–91

Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444: 860–867

Hu FB, van Dam RM, Liu S. Diet and risk of Type II diabetes: the role of types of fat and carbohydrate. *Diabetologia* 2001; 44: 805–817

Imgrund S, Hartmann D, Farwanah H, Eckhardt M, Sandhoff R, Degen J, Gieselmann V, Sandhoff K, Willecke K. Adult Ceramide Synthase 2 (CERS2)-deficient Mice Exhibit Myelin Sheath Defects, Cerebellar Degeneration, and Hepatocarcinomas \*. *J Biol Chem* 2009; 284: 33549–33560

Ishibashi Y, Hirabayashi Y. AMP-activated Protein Kinase Suppresses Biosynthesis of Glucosylceramide by Reducing Intracellular Sugar Nucleotides. *J Biol Chem* 2015; 290: 18245–18260

Ishibashi Y, Kohyama-Koganeya A, Hirabayashi Y. New insights on glucosylated lipids: Metabolism and functions. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831: 1475–1485

Jänis MT, Tarasov K, Ta HX, Suoniemi M, Ekroos K, Hurme R, Lehtimäki T, Päivä H, Kleber ME, März W, Prat A, Seidah NG, Laaksonen R. Beyond LDL-C lowering: Distinct molecular sphingolipids are good indicators of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) deficiency. *Atherosclerosis* 2013; 228: 380–385

Jendle J, Hyötyläinen T, Orešič M, Nyström T. Pharmacometabolomic profiles in type 2 diabetic subjects treated with liraglutide or glimepiride. *Cardiovasc Diabetol* 2021; 20: 237

Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986; 6: 131–138

Jung C-H, Rhee E-J, Kim K-J, Kim B-Y, Park SE, Chang Y, Ryu S, Park C-Y, Mok J-O, Oh K-W, Kim C-H, Park S-W, Kang S-K, Lee W-Y. Relationship of Glycated Hemoglobin A1c, Coronary Artery Calcification and Insulin Resistance in Males Without Diabetes. *Arch Med Res* 2015; 46: 71–77

Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia* 2003; 46: 3–19

Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2006; 444: 840–846

Kalyani RR. Glucose-Lowering Drugs to Reduce Cardiovascular Risk in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2021; 384: 1248–1260

Kannel WB, McGee DL. Diabetes and Cardiovascular Disease: The Framingham Study. *JAMA* 1979; 241: 2035–2038

Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, Agewall S, Dickstein K, Edvardsen T, Escaned J, Gersh BJ, Svitil P, Gilard M, Hasdai D, Hatala R, Mahfoud F, Masip J, Muneretto C, Valgimigli M, Achenbach S, Bax JJ, ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes: The Task Force for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2020; 41: 407–477

Koch J, Gärtner S, Li C-M, Quintern LE, Bernardo K, Levrán O, Schnabel D, Desnick RJ, Schuchman EH, Sandhoff K. Molecular Cloning and Characterization of a Full-length Complementary DNA Encoding Human Acid Ceramidase: Identification Of the first molecular lesion causing Farber disease. *J Biol Chem* 1996; 271: 33110–33115

Koka S, Xia M, Chen Y, Bhat OM, Yuan X, Boini KM, Li P-L. Endothelial NLRP3 inflammasome activation and arterial neointima formation associated with acid sphingomyelinase during hypercholesterolemia. *Redox Biol* 2017; 13: 336–344

Kooner JS, Saleheen D, Sim X, Sehmi J, Zhang W, Frossard P, Been LF, Chia K-S, Dimas AS, Hassanali N, Jafar T, Jowett JBM, Li X, Radha V, Rees SD, Takeuchi F, Young R, Aung T, Basit A, Chidambaram M, Das D, Grundberg E, Hedman ÅK, Hydrie ZI, Islam M,

Khor C-C, Kowlessur S, Kristensen MM, Liju S, Lim W-Y, Matthews DR, Liu J, Morris AP, Nica AC, Pinidiyapathirage JM, Prokopenko I, Rasheed A, Samuel M, Shah N, Shera AS, Small KS, Suo C, Wickremasinghe AR, Wong TY, Yang M, Zhang F, Abecasis GR, Barnett AH, Caulfield M, Deloukas P, Frayling TM, Froguel P, Kato N, Katulanda P, Kelly MA, Liang J, Mohan V, Sanghera DK, Scott J, Seielstad M, Zimmet PZ, Elliott P, Teo YY, McCarthy MI, Danesh J, Tai ES, Chambers JC, DIAGRAM, MuTHER. Genome-wide association study in individuals of South Asian ancestry identifies six new type 2 diabetes susceptibility loci. *Nat Genet* 2011; 43: 984–989

Laaksonen DE, Lakka H-M, Niskanen LK, Kaplan GA, Salonen JT, Lakka TA. Metabolic Syndrome and Development of Diabetes Mellitus: Application and Validation of Recently Suggested Definitions of the Metabolic Syndrome in a Prospective Cohort Study. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 1070–1077

Laaksonen R, Ekroos K, Sysi-Aho M, Hilvo M, Vihervaara T, Kauhanen D, Suoniemi M, Hurme R, März W, Scharnagl H, Stojakovic T, Vlachopoulou E, Lokki M-L, Nieminen MS, Klingenberg R, Matter CM, Hornemann T, Jüni P, Rodondi N, Räber L, Windecker S, Gencer B, Pedersen ER, Tell GS, Nygård O, Mach F, Sinisalo J, Lüscher TF. Plasma ceramides predict cardiovascular death in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes beyond LDL-cholesterol. *Eur Heart J* 2016; 37: 1967–1976

Lankinen M, Schwab U, Kolehmainen M, Paananen J, Nygren H, Seppänen-Laakso T, Poutanen K, Hyötyläinen T, Risérus U, Savolainen MJ, Hukkanen J, Brader L, Marklund M, Rosqvist F, Hermansen K, Cloetens L, Önning G, Thorsdottir I, Gunnarsdottir I, Åkesson B, Dragsted LO, Uusitupa M, Orešič M. A Healthy Nordic Diet Alters the Plasma Lipidomic Profile in Adults with Features of Metabolic Syndrome in a Multicenter Randomized Dietary Intervention. *J Nutr* 2016; 146: 662–672

Leahy JL. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Arch Med Res* 2005; 36: 197–209

Lemaitre RN, Fretts AM, Sitlani CM, Biggs ML, Mukamal K, King IB, Song X, Djoussé L, Siscovick DS, McKnight B, Sotoodehnia N, Kizer JR, Mozaffarian D. Plasma phospholipid



very-long-chain saturated fatty acids and incident diabetes in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Am J Clin Nutr* 2015; 101: 1047–1054

Li H, Junk P, Huwiler A, Burkhardt C, Wallerath T, Pfeilschifter J, Förstermann U. Dual Effect of Ceramide on Human Endothelial Cells. *Circulation* 2002; 106: 2250–2256

Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135–1143

Liu J-J, Ghosh S, Kovalik J-P, Ching J, Choi HW, Tavintharan S, Ong CN, Sum CF, Summers SA, Tai ES, Lim SC. Profiling of Plasma Metabolites Suggests Altered Mitochondrial Fuel Usage and Remodeling of Sphingolipid Metabolism in Individuals With Type 2 Diabetes and Kidney Disease. *Kidney Int Rep* 2017; 2: 470–480

Lopez X, Goldfine AB, Holland WL, Gordillo R, Scherer PE. Plasma ceramides are elevated in female children and adolescents with type 2 diabetes. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2013; 26: 995–998

Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. The Metabolic Syndrome as Predictor of Type 2 Diabetes: The San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 2003; 26: 3153–3159

Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233–241

Mahajan A, Go MJ, Zhang W, Below JE, Gaulton KJ, Ferreira T, Horikoshi M, Johnson AD, Ng MCY, Prokopenko I, Saleheen D, Wang X, Zeggini E, Abecasis GR, Adair LS, Almgren P, Atalay M, Aung T, Baldassarre D, Balkau B, Bao Y, Barnett AH, Barroso I, Basit A, Been LF, Beilby J, Bell GI, Benediktsson R, Bergman RN, Boehm BO, Boerwinkle E, Bonnycastle LL, Burt N, Cai Q, Campbell H, Carey J, Cauchi S, Caulfield M, Chan JCN, Chang L-C, Chang T-J, Chang Y-C, Charpentier G, Chen C-H, Chen H, Chen Y-T, Chia K-S, Chidambaram M, Chines PS, Cho NH, Cho YM, Chuang L-M, Collins FS, Cornelis MC, Couper DJ, Crenshaw AT, van Dam RM, Danesh J, Das D, de Faire U,

Dedoussis G, Deloukas P, Dimas AS, Dina C, Doney ASF, Donnelly PJ, Dorkhan M, van Duijn C, Dupuis J, Edkins S, Elliott P, Emilsson V, Erbel R, Eriksson JG, Escobedo J, Esko T, Eury E, Florez JC, Fontanillas P, Forouhi NG, Forsen T, Fox C, Fraser RM, Frayling TM, Froguel P, Frossard P, Gao Y, Gertow K, Gieger C, Gigante B, Grallert H, Grant GB, Groop LC, Groves CJ, Grundberg E, Guiducci C, Hamsten A, Han B-G, Hara K, Hassanali N, Hattersley AT, Hayward C, Hedman AK, Herder C, Hofman A, Holmen OL, Hovingh K, Hreidarsson AB, Hu C, Hu FB, Hui J, Humphries SE, Hunt SE, Hunter DJ, Hveem K, Hydrie ZI, Ikegami H, Illig T, Ingelsson E, Islam M, Isomaa B, Jackson AU, Jafar T, James A, Jia W, Jöckel K-H, Jonsson A, Jowett JBM, Kadowaki T, Kang HM, Kanoni S, Kao WHL, Kathiresan S, Kato N, Katulanda P, Keinanen-Kiukaanniemi SM, Kelly AM, Khan H, Khaw K-T, Khor C-C, Kim H-L, Kim S, Kim YJ, Kinnunen L, Klopp N, Kong A, Korpi-Hyövälti E, Kowlessur S, Kraft P, Kravic J, Kristensen MM, Krithika S, Kumar A, Kumate J, Kuusisto J, Kwak SH, Laakso M, Lagou V, Lakka TA, Langenberg C, Langford C, Lawrence R, Leander K, Lee J-M, Lee NR, Li M, Li X, Li Y, Liang J, Liju S, Lim W-Y, Lind L, Lindgren CM, Lindholm E, Liu C-T, Liu JJ, Lobbens S, Long J, Loos RJJ, Lu W, Luan J, Lyssenko V, Ma RCW, Maeda S, Mägi R, Männistö S, Matthews DR, Meigs JB, Melander O, Metspalu A, Meyer J, Mirza G, Mihailov E, Moebus S, Mohan V, Mohlke KL, Morris AD, Mühleisen TW, Müller-Nurasyid M, Musk B, Nakamura J, Nakashima E, Navarro P, Ng P-K, Nica AC, Nilsson PM, Njølstad I, Nöthen MM, Ohnaka K, Ong TH, Owen KR, Palmer CNA, Pankow JS, Park KS, Parkin M, Pechlivanis S, Pedersen NL, Peltonen L, Perry JRB, Peters A, Pinidiyapathirage JM, Platou CGP, Potter S, Price JF, Qi L, Radha V, Rallidis L, Rasheed A, Rathmann W, Rauramaa R, Raychaudhuri S, Rayner NW, Rees SD, Rehnberg E, Ripatti S, Robertson N, Roden M, Rossin EJ, Rudan I, Rybin D, Saaristo TE, Salomaa V, Saltevo J, Samuel M, Sanghera DK, Saramies J, Scott J, Scott LJ, Scott RA, Segrè AV, Sehmi J, Sennblad B, Shah N, Shah S, Shera AS, Shu XO, Shuldiner AR, Sigurðsson G, Sijbrands E, Silveira A, Sim X, Sivapalaratnam S, Small KS, So WY, Stančáková A, Stefansson K, Steinbach G, Steinthorsdóttir V, Stirrups K, Strawbridge RJ, Stringham HM, Sun Q, Suo C, Syvänen A-C, Takayanagi R, Takeuchi F, Tay WT, Teslovich TM, Thorand B, Thorleifsson G, Thorsteinsdóttir U, Tikkanen E, Trakalo J, Tremoli E, Trip MD, Tsai FJ, Tuomi T, Tuomilehto J, Uitterlinden AG, Valladares-Salgado A, Vedantam S, Veglia F, Voight BF, Wang C, Wareham NJ, DIAbetes Genetics Replication And Meta-analysis (DIAGRAM) Consortium, Asian Genetic Epidemiology Network Type 2

Diabetes (AGEN-T2D) Consortium, South Asian Type 2 Diabetes (SAT2D) Consortium, Mexican American Type 2 Diabetes (MAT2D) Consortium, Type 2 Diabetes Genetic Exploration by Next-generation sequencing in multi-Ethnic Samples (T2D-GENES) Consortium. Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility. *Nat Genet* 2014; 46: 234–244

Mantovani A, Altomari A, Lunardi G, Bonapace S, Lippi G, Bonnet F, Targher G. Association between specific plasma ceramides and high-sensitivity C-reactive protein levels in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2020; 46: 326–330

Mantovani A, Lunardi G, Bonapace S, Dugo C, Altomari A, Molon G, Conti A, Bovo C, Laaksonen R, Byrne CD, Bonnet F, Targher G. Association between increased plasma ceramides and chronic kidney disease in patients with and without ischemic heart disease. *Diabetes Metab* 2021; 47: 101152

Marchesini N, Hannun YA. Acid and neutral sphingomyelinases: roles and mechanisms of regulation. *Biochem Cell Biol* 2004; 82: 27–44

Meeusen JW, Donato LJ, Bryant SC, Baudhuin LM, Berger PB, Jaffe AS. Plasma Ceramides: A Novel Predictor of Major Adverse Cardiovascular Events After Coronary Angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2018; 38: 1933–1939

Meikle PJ, Wong G, Barlow CK, Weir JM, Greeve MA, MacIntosh GL, Almasy L, Comuzzie AG, Mahaney MC, Kowalczyk A, Haviv I, Grantham N, Magliano DJ, Jowett JBM, Zimmet P, Curran JE, Blangero J, Shaw J. Plasma Lipid Profiling Shows Similar Associations with Prediabetes and Type 2 Diabetes. *PLoS One* 2013; 8: e74341

Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, Bugiardini R, Crea F, Cuisset T, Di Mario C, Ferreira JR, Gersh BJ, Gitt AK, Hulot J-S, Marx N, Opie LH, Pfisterer M, Prescott E, Ruschitzka F, Sabaté M, Senior R, Taggart DP, van der Wall EE, Vrints CJM, ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), Zamorano JL, Achenbach S, Baumgartner H, Bax JJ, Bueno H, Dean V, Deaton C, Erol C, Fagard R, Ferrari R,

Hasdai D, Hoes AW, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, Lancellotti P, Linhart A, Nihoyannopoulos P, Piepoli MF, Ponikowski P, Sirnes PA, Tamargo JL, Tendera M, Torbicki A, Wijns W, Windecker S, Document Reviewers, Knuuti J, Valgimigli M, Bueno H, Claeys MJ, Donner-Banzhoff N, Erol C, Frank H, Funck-Brentano C, Gaemperli O, Gonzalez-Juanatey JR, Hamilos M, Hasdai D, Husted S, James SK, Kervinen K, Kolh P, Kristensen SD, Lancellotti P, Maggioni AP, Piepoli MF, Pries AR, Romeo F, Rydén L, Simoons ML, Sirnes PA, Steg PhG, Timmis A, Wijns W, Windecker S, Yildirim A, Zamorano JL. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2013; 34: 2949–3003

Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Cell* 2011; 145: 341–355

Moreno PR, Murcia AM, Palacios IF, Leon MN, Bernardi VH, Fuster V, Fallon JT. Coronary Composition and Macrophage Infiltration in Atherectomy Specimens From Patients With Diabetes Mellitus. *Circulation* 2000; 102: 2180–2184

Moriya J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis. *J Cardiol* 2019; 73: 22–27

Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, Ferreira T, Segrè AV, Steinthorsdottir V, Strawbridge RJ, Khan H, Grallert H, Mahajan A, Prokopenko I, Kang HM, Dina C, Esko T, Fraser RM, Kanoni S, Kumar A, Lagou V, Langenberg C, Luan J, Lindgren CM, Müller-Nurasyid M, Pechlivanis S, Rayner NW, Scott LJ, Wiltshire S, Yengo L, Kinnunen L, Rossin EJ, Raychaudhuri S, Johnson AD, Dimas AS, Loos RJF, Vedantam S, Chen H, Florez JC, Fox C, Liu C-T, Rybin D, Couper DJ, Kao WHL, Li M, Cornelis MC, Kraft P, Sun Q, van Dam RM, Stringham HM, Chines PS, Fischer K, Fontanillas P, Holmen OL, Hunt SE, Jackson AU, Kong A, Lawrence R, Meyer J, Perry JRB, Platou CGP, Potter S, Rehnberg E, Robertson N, Sivapalaratnam S, Stančáková A, Stirrups K, Thorleifsson G, Tikkanen E, Wood AR, Almgren P, Atalay M, Benediktsson R, Bonnycastle LL, Burt N, Carey J, Charpentier G, Crenshaw AT, Doney ASF, Dorkhan M, Edkins S, Emilsson V, Eury E, Forsen T, Gertow K, Gigante B, Grant GB, Groves CJ, Guiducci C, Herder C, Hreidarsson AB, Hui J, James

A, Jonsson A, Rathmann W, Klopp N, Kravic J, Krjutškov K, Langford C, Leander K, Lindholm E, Lobbens S, Männistö S, Mirza G, Mühleisen TW, Musk B, Parkin M, Rallidis L, Saramies J, Sennblad B, Shah S, Sigurðsson G, Silveira A, Steinbach G, Thorand B, Trakalo J, Veglia F, Wennauer R, Winckler W, Zabaneh D, Campbell H, van Duijn C, Uitterlinden AG, Hofman A, Sijbrands E, Abecasis GR, Owen KR, Zeggini E, Trip MD, Forouhi NG, Syvänen A-C, Eriksson JG, Peltonen L, Nöthen MM, Balkau B, Palmer CNA, Lyssenko V, Tuomi T, Isomaa B, Hunter DJ, Qi L, Shuldiner AR, Roden M, Barroso I, Wilsgaard T, Beilby J, Hovingh K, Price JF, Wilson JF, Rauramaa R, Lakka TA, Lind L, Dedoussis G, Njølstad I, Pedersen NL, Khaw K-T, Wareham NJ, Keinanen-Kiukaanniemi SM, Saaristo TE, Korpi-Hyövälti E, Saltevo J, Laakso M, Kuusisto J, Metspalu A, Collins FS, Mohlke KL, Bergman RN, Tuomilehto J, Boehm BO, Gieger C, Hveem K, Cauchi S, Froguel P, Baldassarre D, Tremoli E, Humphries SE, Saleheen D, Danesh J, Ingelsson E, Ripatti S, Salomaa V, Erbel R, Jöckel K-H, Moebus S, Peters A, Illig T, de Faire U, Hamsten A, Morris AD, Donnelly PJ, Frayling TM, Hattersley AT, Boerwinkle E, Melander O, Kathiresan S, Nilsson PM, Deloukas P, Thorsteinsdottir U, Groop LC, Stefansson K, Hu F, Pankow JS, Dupuis J, Meigs JB, Altshuler D, Boehnke M, McCarthy MI, the DIAbetes Genetics Replication And Meta-analysis (DIAGRAM) Consortium, Wellcome Trust Case Control Consortium, Meta-Analyses of Glucose and Insulin-related traits Consortium (MAGIC) Investigators, Genetic Investigation of ANthropometric Traits (GIANT) Consortium, Asian Genetic Epidemiology Network–Type 2 Diabetes (AGEN-T2D) Consortium, South Asian Type 2 Diabetes (SAT2D) Consortium. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet* 2012; 44: 981–990

Mullen TD, Obeid LM. Ceramide and Apoptosis: Exploring the Enigmatic Connections between Sphingolipid Metabolism and Programmed Cell Death. *Anticancer Agents Med Chem* 2012; 12: 340–363

Ng TWK, Ooi EMM, Watts GF, Chan DC, Weir JM, Meikle PJ, Barrett PHR. Dose-Dependent Effects of Rosuvastatin on the Plasma Sphingolipidome and Phospholipidome in the Metabolic Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: E2335–E2340

Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet* 2011; 378: 169–181

Nolan CJ, Prentki M. The islet  $\beta$ -cell: fuel responsive and vulnerable. *Trends Endocrinol Metabol* 2008; 19: 285–291

Pan A, Wang Y, Talaei M, Hu FB, Wu T. Relation of active, passive, and quitting smoking with incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015; 3: 958–967

Park T-S, Panek RL, Mueller SB, Hanselman JC, Rosebury WS, Robertson AW, Kindt EK, Homan R, Karathanasis SK, Rekhter MD. Inhibition of Sphingomyelin Synthesis Reduces Atherogenesis in Apolipoprotein E–Knockout Mice. *Circulation* 2004; 110: 3465–3471

Peters SAE, Huxley RR, Woodward M. Diabetes as risk factor for incident coronary heart disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of 64 cohorts including 858,507 individuals and 28,203 coronary events. *Diabetologia* 2014; 57: 1542–1551

Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, Cooney M-T, Corrà U, Cosyns B, Deaton C, Graham I, Hall MS, Hobbs FDR, Løchen M-L, Löllgen H, Marques-Vidal P, Perk J, Prescott E, Redon J, Richter DJ, Sattar N, Smulders Y, Tiberi M, van der Worp HB, van Dis I, Verschuren WMM, Binno S, ESC Scientific Document Group. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2016; 37: 2315–2381

Pierce M, Keen H, Bradley C. Risk of diabetes in offspring of parents with non-insulin-

dependent diabetes. *Diabet Med* 1995; 12: 6–13

Rabinowitz D, Zierler KL. Forearm metabolism in obesity and its response to intra-arterial insulin. Characterization of insulin resistance and evidence for adaptive hyperinsulinism. *J Clin Invest* 1962; 41: 2173–2181

Reza S, Ugorski M, Suchański J. Glucosylceramide and galactosylceramide, small glycosphingolipids with significant impact on health and disease. *Glycobiology* 2021; 31: 1416–1434

Ross R. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801–809

Schächinger V, Britten MB, Elsner M, Walter DH, Scharrer I, Zeiher AM. A Positive Family History of Premature Coronary Artery Disease Is Associated With Impaired Endothelium-Dependent Coronary Blood Flow Regulation. *Circulation* 1999; 100: 1502–1508

Schissel SL, Tweedie-Hardman J, Rapp JH, Graham G, Williams KJ, Tabas I. Rabbit aorta and human atherosclerotic lesions hydrolyze the sphingomyelin of retained low-density lipoprotein. Proposed role for arterial-wall sphingomyelinase in subendothelial retention and aggregation of atherogenic lipoproteins. *J Clin Invest* 1996; 98: 1455–1464

Schmidt C, Reitzle L, Paprott R, Bätzing J, Holstiege J. Diabetes mellitus und Begleiterkrankungen – Querschnittstudie mit Kontrollgruppe anhand vertragsärztlicher Abrechnungsdaten. *J Health Monit* 2021; 6: 20–37

Schonauer S, Körschen HG, Penno A, Rennhack A, Breiden B, Sandhoff K, Gutbrod K, Dörmann P, Raju DN, Haberkant P, Gerl MJ, Brügger B, Zigdon H, Vardi A, Futerman AH, Thiele C, Wachten D. Identification of a feedback loop involving  $\beta$ -glucosidase 2 and its product sphingosine sheds light on the molecular mechanisms in Gaucher disease. *J Biol*

Chem 2017; 292: 6177–6189

Schramm TK, Gislason GH, Køber L, Rasmussen S, Rasmussen JN, Abildstrøm SZ, Hansen ML, Folke F, Buch P, Madsen M, Vaag A, Torp-Pedersen C. Diabetes Patients Requiring Glucose-Lowering Therapy and Nondiabetics With a Prior Myocardial Infarction Carry the Same Cardiovascular Risk. *Circulation* 2008; 117: 1945–1954

Schweppe CH, Hoffmann P, Nofer J-R, Pohlentz G, Mormann M, Karch H, Friedrich AW, Müthing J. Neutral glycosphingolipids in human blood: a precise mass spectrometry analysis with special reference to lipoprotein-associated Shiga toxin receptors. *J Lipid Res* 2010; 51: 2282–2294

Snider JM, Snider AJ, Obeid LM, Luberto C, Hannun YA. Probing de novo sphingolipid metabolism in mammalian cells utilizing mass spectrometry. *J Lipid Res* 2018; 59: 1046–1057

Spencer EA, Pirie KL, Stevens RJ, Beral V, Brown A, Liu B, Green J, Reeves GK, Million Women Study Collaborators. Diabetes and modifiable risk factors for cardiovascular disease: the prospective Million Women Study. *Eur J of Epidemiol* 2008; 23: 793

Statistisches Bundesamt, 2017: Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursachen die höchsten Kosten. [https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2017/09/PD17\\_347\\_236.html;jsessionid=3D4EEBA665D30A26CAB48325B03A5E00.live712](https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2017/09/PD17_347_236.html;jsessionid=3D4EEBA665D30A26CAB48325B03A5E00.live712) (Zugriffsdatum 16.02.2022)

Statistisches Bundesamt, 2020: Todesursachenstatistik 2020: Zahl der Todesfälle im Jahre 2020 um 4,9% gestiegen. [https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2021/11/PD21\\_505\\_23211.html](https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2021/11/PD21_505_23211.html) (Zugriffsdatum: 16.02.2022)

Statistisches Bundesamt, 2020: Die 10 häufigsten Todesursachen durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen. <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/sterbefaelle-herz-kreislauf-erkrankungen-insgesamt.html>



(Zugriffsdatum 16.02.2022)

Steg PhG, James SK, Atar D, Badano LP, Lundqvist CB, Borger MA, Di Mario C, Dickstein K, Ducrocq G, Fernandez-Aviles F, Gershlick AH, Giannuzzi P, Halvorsen S, Huber K, Juni P, Kastrati A, Knuuti J, Lenzen MJ, Mahaffey KW, Valgimigli M, van't Hof A, Widimsky P, Zahger D, ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), Bax JJ, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Popescu BA, Reiner Ž, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S, Document Reviewers, Hasdai D, Astin F, Åström-Olsson K, Budaj A, Clemmensen P, Collet J-P, Fox KA, Fuat A, Gustiene O, Hamm CW, Kala P, Lancellotti P, Maggioni AP, Merkely B, Neumann F-J, Piepoli MF, Van de Werf F, Verheugt F, Wallentin L. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2012; 33: 2569–2619

Strackowski M, Kowalska I, Nikolajuk A, Dzienis-Strackowska S, Kinalska I, Baranowski M, Zenzian-Piotrowska M, Brzezinska Z, Gorski J. Relationship Between Insulin Sensitivity and Sphingomyelin Signaling Pathway in Human Skeletal Muscle. *Diabetes* 2004; 53: 1215–1221

Stratford S, Hoehn KL, Liu F, Summers SA. Regulation of Insulin Action by Ceramide: dual mechanisms linking ceramide accumulation to the inhibition of Akt/protein kinase B. *J Biol Chem* 2004; 279: 36608–36615

Summers SA, Garza LA, Zhou H, Birnbaum MJ. Regulation of Insulin-Stimulated Glucose Transporter GLUT4 Translocation and Akt Kinase Activity by Ceramide. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 5457–5464

Tabas I, Williams KJ, Borén J. Subendothelial Lipoprotein Retention as the Initiating Process in Atherosclerosis: Update and Therapeutic Implications. *Circulation* 2007; 116: 1832–1844

Tarasov K, Ekroos K, Suoniemi M, Kauhanen D, Sylvänne T, Hurme R, Gouni-Berthold I, Berthold HK, Kleber ME, Laaksonen R, März W. Molecular Lipids Identify Cardiovascular Risk and Are Efficiently Lowered by Simvastatin and PCSK9 Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: E45–E52

The Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet* 2010; 375: 2215–2222

Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD, ESC Scientific Document Group. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur Heart J* 2019; 40: 237–269

Tilg H, Moschen AR. Inflammatory Mechanisms in the Regulation of Insulin Resistance. *Mol Med* 2008; 14: 222–231

Tönnies T, Röckl S, Hoyer A, Heidemann C, Baumert J, Du Y, Scheidt-Nave C, Brinks R. Projected number of people with diagnosed Type 2 diabetes in Germany in 2040. *Diabet Med* 2019; 36: 1217–1225

Vos T, Lim SS, Abbafati C, Abbas KM, Abbasi M, Abbasifard M, Abbasi-Kangevari M, Abbastabar H, Abd-Allah F, Abdelalim A, Abdollahi M, Abdollahpour I, Abolhassani H, Aboyans V, Abrams EM, Abreu LG, Abrigo MRM, Abu-Raddad LJ, Abushouk AI, Acebedo A, Ackerman IN, Adabi M, Adamu AA, Adebayo OM, Adekanmbi V, Adelson JD, Adetokunboh OO, Adham D, Afshari M, Afshin A, Agardh EE, Agarwal G, Agesa KM, Aghaali M, Aghamir SMK, Agrawal A, Ahmad T, Ahmadi A, Ahmadi M, Ahmadi H, Ahmadpour E, Akalu TY, Akinyemi RO, Akinyemiju T, Akombi B, Al-Aly Z, Alam K, Alam N, Alam S, Alam T, Alanzi TM, Albertson SB, Alcalde-Rabanal JE, Alema NM, Ali M, Ali S, Alicandro G, Alijanzadeh M, Alinia C, Alipour V, Aljunid SM, Alla F, Allebeck P, Almasi-Hashiani A, Alonso J, Al-Raddadi RM, Altirkawi KA, Alvis-Guzman N, Alvis-Zakzuk NJ, Amini S, Amini-Rarani M, Aminorroaya A, Amiri F, Amit AML, Amugsi DA, Amul GGH, Anderlini D, Andrei

CL, Andrei T, Anjomshoa M, Ansari F, Ansari I, Ansari-Moghaddam A, Antonio CAT, Antony CM, Antriyandarti E, Anvari D, Anwer R, Arabloo J, Arab-Zozani M, Aravkin AY, Ariani F, Ärnlov J, Aryal KK, Arzani A, Asadi-Aliabadi M, Asadi-Pooya AA, Asghari B, Ashbaugh C, Atnafu DD, Atre SR, Ausloos F, Ausloos M, Ayala Quintanilla BP, Ayano G, Ayanore MA, Aynalem YA, Azari S, Azarian G, Azene ZN, Babae E, Badawi A, Bagherzadeh M, Bakhshaei MH, Bakhtiari A, Balakrishnan S, Balalla S, Balassyano S, Banach M, Banik PC, Bannick MS, Bante AB, Baraki AG, Barboza MA, Barker-Collo SL, Barthelemy CM, Barua L, Barzegar A, Basu S, Baune BT, Bayati M, Bazmandegan G, Bedi N, Beghi E, Béjot Y, Bello AK, Bender RG, Bennett DA, Bennitt FB, Bensor IM, Benziger CP, Berhe K, Bernabe E, Bertolacci GJ, Bhageerathy R, Bhala N, Bhandari D, Bhardwaj P, Bhattacharyya K, Bhutta ZA, Bibi S, Biehl MH, Bikbov B, Bin Sayeed MS, Biondi A, Biri-hane BM, Bisanzio D, Bisignano C, Biswas RK, Bohlouli S, Bohluli M, Bolla SRR, Bolor A, Boon-Dooley AS, Borges G, Borzi AM, Bourne R, Brady OJ, Brauer M, Brayne C, Breitborde NJK, Brenner H, Briant PS, Briggs AM, Briko NI, Britton GB, Bryazka D, Buchbinder R, Bumgarner BR, Busse R, Butt ZA, Caetano dos Santos FL, Cámara LLA, Campos-Nonato IR, Car J, Cárdenas R, Carreras G, Carrero JJ, Carvalho F, Castaldelli-Maia JM, Castañeda-Orjuela CA, Castelpietra G, Castle CD, Castro F, Catalá-López F, Causey K, Cederroth CR, Cercy KM, Cerin E, Chandan JS, Chang AR, Charlson FJ, Chattu VK, Chaturvedi S, Chimed-Ochir O, Chin KL, Cho DY, Christensen H, Chu D-T, Chung MT, Cicuttini FM, Ciobanu LG, Cirillo M, Collins EL, Compton K, Conti S, Cortesi PA, Costa VM, Cousin E, Cowden RG, Cowie BC, Cromwell EA, Cross DH, Crowe CS, Cruz JA, Cunningham M, Dahlawi SMA, Damiani G, Dandona L, Dandona R, Darwesh AM, Daryani A, Das JK, Das Gupta R, das Neves J, Dávila-Cervantes CA, Davletov K, De Leo D, Dean FE, DeCleene NK, Deen A, Degenhardt L, Dellavalle RP, Demeke FM, Demsie DG, Denova-Gutiérrez E, Dereje ND, Dervenis N, Desai R, Desalew A, Dessie GA, Dharmaratne SD, Dhungana GP, Dianatinasab M, Diaz D, Dibaji Forooshani ZS, Dingels ZV, Dirac MA, Djalalinia S, Do HT, Dokova K, Dorostkar F, Doshi CP, Doshmangir L, Douiri A, Doxey MC, Driscoll TR, Dunachie SJ, Duncan BB, Duraes AR, Eagan AW, Ebrahimi Kalan M, Edvardsson D, Ehrlich JR, El Nahas N, El Sayed I, El Tantawi M, Elbarazi I, Elgendy IY, Elhabashy HR, El-Jaafary SI, Elyazar IR, Emamian MH, Emmons-Bell S, Erskine HE, Eshrati B, Eskandarieh S, Esmailnejad S, Esmailzadeh F, Esteghamati A, Estep K, Etemadi A, Etilisso AE, Farahmand M, Faraj A, Fareed M, Faridnia R, Farinha CS e S,

Farioli A, Faro A, Faruque M, Farzadfar F, Fattahi N, Fazlzadeh M, Feigin VL, Feldman R, Fereshtehnejad S-M, Fernandes E, Ferrari AJ, Ferreira ML, Filip I, Fischer F, Fisher JL, Fitzgerald R, Flohr C, Flor LS, Foigt NA, Folayan MO, Force LM, Fornari C, Foroutan M, Fox JT, Freitas M, Fu W, Fukumoto T, Furtado JM, Gad MM, Gakidou E, Galles NC, Gallus S, Gamkrelidze A, Garcia-Basteiro AL, Gardner WM, Geberemariyam BS, Gebrehiwot AM, Gebremedhin KB, Gebreslassie AAAA, Gershberg Hayoon A, Gething PW, Ghadimi M, Ghadiri K, Ghafourifard M, Ghajar A, Ghamari F, Ghashghaee A, Ghasvand H, Ghith N, Gholamian A, Gilani SA, Gill PS, Gitimoghaddam M, Giussani G, Goli S, Gomez RS, Gopalani SV, Gorini G, Gorman TM, Gottlich HC, Goudarzi H, Goulart AC, Goulart BNG, Grada A, Grivna M, Grosso G, Gubari MIM, Gugnani HC, Guimaraes ALS, Guimarães RA, Guled RA, Guo G, Guo Y, Gupta R, Haagsma JA, Haddock B, Hafezi-Nejad N, Hafiz A, Hagins H, Haile LM, Hall BJ, Halvaei I, Hamadeh RR, Hamagharib Abdullah K, Hamilton EB, Han C, Han H, Hankey GJ, Haro JM, Harvey JD, Hasaballah AI, Hasanzadeh A, Hashemian M, Hassanipour S, Hassankhani H, Havmoeller RJ, Hay RJ, Hay SI, Hayat K, Heidari B, Heidari G, Heidari-Soureshjani R, Hendrie D, Henrikson HJ, Henry NJ, Herteliu C, Heydarpour F, Hird TR, Hoek HW, Hole MK, Holla R, Hoogar P, Hosgood HD, Hosseinzadeh M, Hostiuc M, Hostiuc S, Househ M, Hoy DG, Hsairi M, Hsieh VC, Hu G, Huda TM, Hugo FN, Huynh CK, Hwang B-F, Iannucci VC, Ibitoye SE, Ikuta KS, Ilesanmi OS, Ilic IM, Ilic MD, Inbaraj LR, Ippolito H, Irvani SSN, Islam MM, Islam M, Islam SMS, Islami F, Iso H, Ivers RQ, Iwu CCD, Iyamu IO, Jaafari J, Jacobsen KH, Jadidi-Niaragh F, Jafari H, Jafarinia M, Jahagirdar D, Jahani MA, Jahanmehr N, Jakovljevic M, Jalali A, Jalilian F, James SL, Janjani H, Janodia MD, Jayatilleke AU, Jeemon P, Jenabi E, Jha RP, Jha V, Ji JS, Jia P, John O, John-Akinola YO, Johnson CO, Johnson SC, Jonas JB, Joo T, Joshi A, Jozwiak JJ, Jürisson M, Kabir A, Kabir Z, Kalani H, Kalani R, Kalankesh LR, Kalhor R, Kamiab Z, Kanchan T, Karami Matin B, Karch A, Karim MA, Karimi SE, Kassa GM, Kassebaum NJ, Katikireddi SV, Kawakami N, Kayode GA, Keddie SH, Keller C, Kereselidze M, Khafaie MA, Khalid N, Khan M, Khatab K, Khater MM, Khatib MN, Khayamzadeh M, Khodayari MT, Khundkar R, Kianipour N, Kieling C, Kim D, Kim Y-E, Kim YJ, Kimokoti RW, Kisa A, Kisa S, Kissimova-Skarbek K, Kivimäki M, Kneib CJ, Knudsen AKS, Kocarnik JM, Kolola T, Kopec JA, Kosen S, Koul PA, Koyanagi A, Kravchenko MA, Krishan K, Krohn KJ, Kuate Defo B, Kucuk Bicer B, Kumar GA, Kumar M, Kumar P, Kumar V, Kumares G, Kurmi OP, Kusuma D, Kyu HH, La Vecchia C, Lacey

B, Lal DK, Laloo R, Lam JO, Lami FH, Landires I, Lang JJ, Lansingh VC, Larson SL, Larsson AO, Lasrado S, Lassi ZS, Lau KM-M, Lavados PM, Lazarus JV, Ledesma JR, Lee PH, Lee SWH, LeGrand KE, Leigh J, Leonardi M, Lescinsky H, Leung J, Levi M, Lewington S, Li S, Lim L-L, Lin C, Lin R-T, Linehan C, Linn S, Liu H-C, Liu S, Liu Z, Looker KJ, Lopez AD, Lopukhov PD, Lorkowski S, Lotufo PA, Lucas TCD, Lugo A, Lunevicius R, Lyons RA, Ma J, MacLachlan JH, Maddison ER, Maddison R, Madotto F, Mahasha PW, Mai HT, Majeed A, Maled V, Maleki S, Malekzadeh R, Malta DC, Mamun AA, Manafi A, Manafi N, Manguerra H, Mansouri B, Mansournia MA, Mantilla Herrera AM, Maravilla JC, Marks A, Martins-Melo FR, Martopullo I, Masoumi SZ, Massano J, Massenburg BB, Mathur MR, Maulik PK, McAlinden C, McGrath JJ, McKee M, Mehndiratta MM, Mehri F, Mehta KM, Meitei WB, Memiah PTN, Mendoza W, Menezes RG, Mengesha EW, Mengesha MB, Mereke A, Meretoja A, Meretoja TJ, Mestrovic T, Miazgowski B, Miazgowski T, Michalek IM, Mihretie KM, Miller TR, Mills EJ, Mirica A, Mirrakhimov EM, Mirzaei H, Mirzaei M, Mirzaei-Alavijeh M, Misganaw AT, Mithra P, Moazen B, Moghadaszadeh M, Mohamadi E, Mohammad DK, Mohammad Y, Mohammad Gholi Mezerji N, Mohammadian-Hafshejani A, Mohammadifard N, Mohammadpourhodki R, Mohammed S, Mokdad AH, Molokhia M, Momen NC, Monasta L, Mondello S, Mooney MD, Moosazadeh M, Moradi G, Moradi M, Moradi-Lakeh M, Moradzadeh R, Moraga P, Morales L, Morawska L, Moreno Velásquez I, Morgado-da-Costa J, Morrison SD, Mosser JF, Mouodi S, Mousavi SM, Mousavi Khaneghah A, Mueller UO, Munro SB, Muriithi MK, Musa KI, Muthupandian S, Naderi M, Nagarajan AJ, Nagel G, Naghshtabrizi B, Nair S, Nandi AK, Nangia V, Nansseu JR, Nayak VC, Nazari J, Negoï I, Negoï RI, Netsere HBN, Ngunjiri JW, Nguyen CT, Nguyen J, Nguyen Michele, Nguyen Minh, Nichols E, Nigatu D, Nigatu YT, Nikbakhsh R, Nixon MR, Nnaji CA, Nomura S, Norrving B, Noubiap JJ, Nowak C, Nunez-Samudio V, Oțoiu A, Oancea B, Odell CM, Ogbo FA, Oh I-H, Okunga EW, Oladnabi M, Olagunju AT, Olusanya BO, Olusanya JO, Oluwasanu MM, Omar Bali A, Omer MO, Ong KL, Onwuje-kwe OE, Orji AU, Orpana HM, Ortiz A, Ostroff SM, Otstavnov N, Otstavnov SS, Øverland S, Owolabi MO, P A M, Padubidri JR, Pakhare AP, Palladino R, Pana A, Panda-Jonas S, Pandey A, Park E-K, Parmar PGK, Pasupula DK, Patel SK, Paternina-Caicedo AJ, Pathak A, Pathak M, Patten SB, Patton GC, Paudel D, Pazoki Toroudi H, Peden AE, Pennini A, Pepito VCF, Peprah EK, Pereira A, Pereira DM, Perico N, Pham HQ, Phillips MR, Pigott DM, Pilgrim T, Pilz TM, Pirsahab M, Plana-Ripoll O, Plass D, Pokhrel KN, Polibin RV,

Polinder S, Polkinghorne KR, Postma MJ, Pourjafar H, Pourmalek F, Pourmirza Kalhori R, Pourshams A, Poznańska A, Prada SI, Prakash V, Pribadi DRA, Pupillo E, Quazi Syed Z, Rabiee M, Rabiee N, Radfar A, Rafiee A, Rafiei A, Raggi A, Rahimi-Movaghar A, Rahman MA, Rajabpour-Sanati A, Rajati F, Ramezanzadeh K, Ranabhat CL, Rao PC, Rao SJ, Rasella D, Rastogi P, Rathi P, Rawaf DL, Rawaf S, Rawal L, Razo C, Redford SB, Reiner RC Jr, Reinig N, Reitsma MB, Remuzzi G, Renjith V, Renzaho AMN, Resnikoff S, Rezaei N, Rezai M sadegh, Rezapour A, Rhinehart P-A, Riahi SM, Ribeiro ALP, Ribeiro DC, Ribeiro D, Rickard J, Roberts NLS, Roberts S, Robinson SR, Roever L, Rolfe S, Ronfani L, Roshandel G, Roth GA, Rubagotti E, Rumisha SF, Sabour S, Sachdev PS, Saddik B, Sadeghi E, Sadeghi M, Saeidi S, Safi S, Safiri S, Sagar R, Sahebkar A, Sahraian MA, Sajadi SM, Salahshoor MR, Salamati P, Salehi Zahabi S, Salem H, Salem MRR, Salimzadeh H, Salomon JA, Salz I, Samad Z, Samy AM, Sanabria J, Santomauro DF, Santos IS, Santos JV, Santric-Milicevic MM, Saraswathy SYI, Sarmiento-Suárez R, Sarrafzadegan N, Sartorius B, Sarveazad A, Sathian B, Sathish T, Sattin D, Sbarra AN, Schaeffer LE, Schiavolin S, Schmidt MI, Schutte AE, Schwebel DC, Schwendicke F, Senbeta AM, Senthilkumaran S, Sepanlou SG, Shackelford KA, Shadid J, Shahabi S, Shaheen AA, Shaikh MA, Shalash AS, Shams-Beyranvand M, Shamsizadeh M, Shannawaz M, Sharafi K, Sharara F, Sheena BS, Sheikhtaheri A, Shetty RS, Shibuya K, Shiferaw WS, Shigematsu M, Shin JI, Shiri R, Shirkoohi R, Shrimel MG, Shuval K, Siabani S, Sigfusdottir ID, Sigurvinsdottir R, Silva JP, Simpson KE, Singh A, Singh JA, Skiadaresi E, Skou STS, Skryabin VY, Sobngwi E, Sokhan A, Soltani S, Sorensen RJD, Soriano JB, Sorrie MB, Soyiri IN, Sreeramareddy CT, Stanaway JD, Stark BA, Ştefan SC, Stein C, Steiner C, Steiner TJ, Stokes MA, Stovner LJ, Stubbs JL, Sudaryanto A, Sufiyan MB, Sulo G, Sultan I, Sykes BL, Sylte DO, Szócska M, Tabarés-Seisdedos R, Tabb KM, Tadakamadla SK, Taherkhani A, Tajdini M, Takahashi K, Taveira N, Teagle WL, Teame H, Tehrani-Banihashemi A, Teklehaimanot BF, Terrason S, Tessema ZT, Thankappan KR, Thomson AM, Tohidinik HR, Tonelli M, Topor-Madry R, Torre AE, Touvier M, Tovani-Palone MRR, Tran BX, Travillian R, Troeger CE, Truelsen TC, Tsai AC, Tsatsakis A, Tudor Car L, Tyrovolas S, Uddin R, Ullah S, Undurraga EA, Unnikrishnan B, Vacante M, Vakilian A, Valdez PR, Varughese S, Vasankari TJ, Vasseghian Y, Venketasubramanian N, Violante FS, Vlassov V, Vollset SE, Vongpradith A, Vukovic A, Vukovic R, Waheed Y, Walters MK, Wang J, Wang Y, Wang Y-P, Ward JL, Watson A, Wei J, Weintraub RG,

Weiss DJ, Weiss J, Westerman R, Whisnant JL, Whiteford HA, Wiangkham T, Wiens KE, Wijeratne T, Wilner LB, Wilson S, Wojtyniak B, Wolfe CDA, Wool EE, Wu A-M, Wulf Hanson S, Wunrow HY, Xu G, Xu R, Yadgir S, Yahyazadeh Jabbari SH, Yamagishi K, Yamin-firooz M, Yano Y, Yaya S, Yazdi-Feyzabadi V, Yearwood JA, Yeheyis TY, Yeshitila YG, Yip P, Yonemoto N, Yoon S-J, Yoosefi Lebni J, Younis MZ, Younker TP, Yousefi Z, Yousefifard M, Yousefinezhadi T, Yousuf AY, Yu C, Yusefzadeh H, Zahirian Moghadam T, Zaki L, Zaman SB, Zamani M, Zamanian M, Zandian H, Zangeneh A, Zastrozhin MS, Zewdie KA, Zhang Y, Zhang Z-J, Zhao JT, Zhao Y, Zheng P, Zhou M, Ziapour A, Zimsen SRM, Naghavi M, Murray CJL. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* 2020; 396: 1204–1222

Wang DD, Toledo E, Hruby A, Rosner BA, Willett WC, Sun Q, Razquin C, Zheng Y, Ruiz-Canela M, Guasch-Ferré M, Corella D, Gómez-Gracia E, Fiol M, Estruch R, Ros E, Lapetra J, Fito M, Aros F, Serra-Majem L, Lee C-H, Clish CB, Liang L, Salas-Salvadó J, Martínez-González MA, Hu FB. Plasma Ceramides, Mediterranean Diet, and Incident Cardiovascular Disease in the PREDIMED Trial (Prevención con Dieta Mediterránea). *Circulation* 2017; 135: 2028–2040

Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med* 2011; 17: 1410-1422

Wegner M-S, Schiffmann S, Parnham MJ, Geisslinger G, Grösch S. The enigma of ceramide synthase regulation in mammalian cells. *Prog Lipid Res* 2016; 63: 93–119

Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005; 115: 1111–1119

Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1999; 104: 787–794

Wigger L, Cruciani-Guglielmacci C, Nicolas A, Denom J, Fernandez N, Fumeron F, Marques-Vidal P, Ktorza A, Kramer W, Schulte A, Le Stunff H, Liechti R, Xenarios I, Volenweider P, Waeber G, Uphues I, Roussel R, Magnan C, Ibberson M, Thorens B. Plasma Dihydroceramides Are Diabetes Susceptibility Biomarker Candidates in Mice and Humans. *Cell Rep* 2017; 18: 2269–2279

Woeste MA, Stern S, Raju DN, Grahn E, Dittmann D, Gutbrod K, Dörmann P, Hansen JN, Schonauer S, Marx CE, Hamzeh H, Körschen HG, Aerts JMFG, Bönigk W, Endepols H, Sandhoff R, Geyer M, Berger TK, Bradke F, Wachten D. Species-specific differences in nonlysosomal glucosylceramidase GBA2 function underlie locomotor dysfunction arising from loss-of-function mutations. *J Biol Chem* 2019; 294: 3853–3871

World Health Organization. Diagnosis and management of type 2 diabetes (HEARTS-D). World Health Organization; 2020: 20.1: 12-13.

Yahagi K, Kolodgie FD, Lutter C, Mori H, Romero ME, Finn AV, Virmani R. Pathology of Human Coronary and Carotid Artery Atherosclerosis and Vascular Calcification in Diabetes Mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017; 37: 191–204

Yusuf S, Hawken S, Ôunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937–952

Zabielski P, Chacinska M, Charkiewicz K, Baranowski M, Gorski J, Blachnio-Zabielska AU. Effect of metformin on bioactive lipid metabolism in insulin-resistant muscle. *J Endocrinol* 2017; 233: 329–340

Zaman AG, Helft G, Worthley SG, Badimon JJ. The role of plaque rupture and thrombosis in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000; 149: 251–266

Zelnik ID, Rozman B, Rosenfeld-Gur E, Ben-Dor S, Futerman AH. A Stroll Down the CerS



Lane. *Adv Exp Med Biol* 2019; 1159: 49–63

Zhang H, Desai NN, Olivera A, Seki T, Brooker G, Spiegel S. Sphingosine-1-phosphate, a novel lipid, involved in cellular proliferation. *J Cell Biol* 1991; 114: 155–167

Zhang Q-J, Holland WL, Wilson L, Tanner JM, Kearns D, Cahoon JM, Pettey D, Losee J, Duncan B, Gale D, Kowalski CA, Deeter N, Nichols A, Deesing M, Arrant C, Ruan T, Boehme C, McCamey DR, Rou J, Ambal K, Narra KK, Summers SA, Abel ED, Symons JD. Ceramide Mediates Vascular Dysfunction in Diet-Induced Obesity by PP2A-Mediated Dephosphorylation of the eNOS-Akt Complex. *Diabetes* 2012; 61: 1848–1859

Zietzer A, Jahnel AL, Bulic M, Gutbrod K, Düsing P, Hosen MR, Dörmann P, Werner N, Nickenig G, Jansen F. Activation of neutral sphingomyelinase 2 through hyperglycemia contributes to endothelial apoptosis via vesicle-bound intercellular transfer of ceramides. *Cell Mol Life Sci* 2021; 79: 48

## 9. Danksagung

Zunächst gebührt mein Dank meinem Doktorvater, Herrn Privatdozent Dr. Felix Jansen, für die Bereitstellung des Themas und großartigen Hilfe bei der Anfertigung der Dissertation. Desweiteren danke ich Herrn Dr. Andreas Zietzer für die Betreuung sowie die Heranführung an das wissenschaftliche Arbeiten.

Dem IMBIO, insbesondere Frau Dr. Katharina Gutbrod, und dem Institut für Klinische Chemie und Klinische Pharmakologie des Universitätsklinikums Bonn danke ich herzlich für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung.

Abschließend möchte ich meinen Eltern, Paul sowie meinen Freunden von ganzem Herzen danken. Dank eurer tatkräftigen Unterstützung, ewigen Geduld und Motivation konnte ich diese Arbeit fertigstellen.