



DIPLOMARBEIT

„Einfluss einer Ernährungsintervention auf das Auftreten von Mikrokernen in Mundschleimhautzellen von Typ II Diabetikern“

Verfasserin

Marlies Nitz

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Ernährungswissenschaften

Betreuerin / Betreuer:

A. o. Univ. Prof. Dr. Karl-Heinz WAGNER

Ein herzliches Dankeschön

an

....meine Eltern. Danke für eure selbstlose Unterstützung in jeder Hinsicht, ohne diese wäre das Studium so nicht möglich gewesen.

....meine Großeltern für die finanzielle Unterstützung.

....Alice. Danke für deine unkomplizierte Art!

....an meine Betreuerin Elisabeth Müllner und meinem Professor Dr. Karl-Heinz Wagner für die reibungslose Kommunikation.

....meine Studienkollegen und Freunde. Danke für eure kollegiale und moralische Unterstützung während des Studiums. Ihr habt der Zeit die nötige Würze gegeben!

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS (MARLIES NITZ, ALICE PETSCHNIG).....	VII
TABELLENVERZEICHNIS (MARLIES NITZ, ALICE PETSCHNIG)	X
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS (MARLIES NITZ, ALICE PETSCHNIG).....	XI
1. EINLEITUNG (MARLIES NITZ, ALICE PETSCHNIG).....	1
2. LITERATURÜBERSICHT	2
2.1. Diabetes mellitus (Marlies Nitz, Alice Petschnig)	2
2.1.1. Pathophysiologie des Diabetes mellitus (Marlies Nitz)	2
2.1.2. Risikofaktor Adipositas (Marlies Nitz)	3
2.1.3. Klassifikation des Diabetes mellitus (Alice Petschnig)	5
2.1.4. Prävalenz (Alice Petschnig)	6
2.1.5. Kosten der Erkrankung (Marlies Nitz)	9
2.1.6. Komplikationen (Alice Petschnig)	9
2.1.6.1. Makroangiopathie (Alice Petschnig)	11
2.1.6.2. Mikroangiopathie (Alice Petschnig)	11
2.1.7. Therapiemöglichkeiten (Marlies Nitz)	12
2.1.7.1. Medikamentöse Therapie (Marlies Nitz)	13
2.1.7.2. Insulintherapie (Marlies Nitz)	15
2.2. Diabetes mellitus und oxidativer Stress (Marlies Nitz, Alice Petschnig)	16
2.2.1. Definition (Marlies Nitz)	16
2.2.2. Oxidativer Stress (Alice Petschnig)	17
2.2.3. Oxidativer Stress in Zusammenhang mit Diabetes mellitus (Alice Petschnig)	19
2.3. Erhöhtes Krebsrisiko bei Diabetikern (Marlies Nitz)	21
2.4. Die Art der Therapie und das erhöhte Krebsrisiko (Alice Petschnig)	24
2.5. Buccal micronucleus cytome assay (BMCyt) (Marlies Nitz)	26
2.5.1. Die Entstehung von Mikrokernen (Marlies Nitz)	28
2.5.2. Die Anzahl der Mikrokerne (Alice Petschnig)	29
2.5.3. Diabetes mellitus und erhöhte Anzahl an MN (Marlies Nitz)	32
2.5.4. Krebserkrankungen und die erhöhte Anzahl an MN (Alice Petschnig)	34
2.5.5. Einfluss von Ernährungsinterventionen auf das Auftreten von MN (Alice Petschnig)	36
2.5.5.1. Folsäure, Vitamin B12 und Homocystein (Alice Petschnig)	38
2.5.5.2. Vitamin C und Vitamin E (Alice Petschnig)	39
2.5.5.3. Vitamin A und β -Carotin (Alice Petschnig)	40

3. MATERIAL UND METHODEN (MARLIES NITZ, ALICE PETSCHNIG)	42
3.1. Studiendesign (Marlies Nitz)	42
3.2. Buccal micronucleus cytome assay (Marlies Nitz, Alice Petschnig)	48
3.2.1. Verwendete Materialien (Marlies Nitz)	48
3.2.2. Verwendete Reagenzien (Marlies Nitz)	48
3.2.3. Probenaufbereitung (Marlies Nitz)	49
3.2.3.1. Schleimhautzellengewinnung (Marlies Nitz)	49
3.2.3.2. Waschung und Isolierung der Schleimhautzellen (Marlies Nitz)	49
3.2.3.3. Fixierung der Schleimhautzellen (Marlies Nitz)	50
3.2.3.4. Färbung (Marlies Nitz)	50
3.2.3.5. Eindeckeln (Marlies Nitz)	51
3.2.3.6. Kontrolle unter dem Mikroskop (Marlies Nitz)	52
3.2.4. Zählkriterien (Alice Petschnig)	53
3.2.4.1. Zelltypen (Alice Petschnig)	53
3.2.4.2. Bilder der verschiedenen Zelltypen (Alice Petschnig)	56
3.3. Statistische Auswertung (Alice Petschnig)	57
4. ERGEBNISSE (MARLIES NITZ, ALICE PETSCHNIG)	59
4.1. Ergebnisse vor der Intervention (Marlies Nitz)	59
4.2. Einfluss der Intervention (Alice Petschnig)	66
4.3. Ergebnisse vor der Intervention bei NIDDM-Patienten (Marlies Nitz)	69
4.4. Einfluss der Intervention bei NIDDM-Probanden (Marlies Nitz)	72
4.5. Ergebnisse vor der Intervention bei IDDM-Probanden (Alice Petschnig)	75
4.6. Einfluss der Intervention bei IDDM-Probanden (Alice Petschnig)	79
5. DISKUSSION (MARLIES NITZ, ALICE PETSCHNIG)	82
6. SCHLUSSBETRACHTUNG (ALICE PETSCHNIG)	89
7. ZUSAMMENFASSUNG (ALICE PETSCHNIG)	91
8. SUMMARY (ALICE PETSCHNIG)	93
9. LITERATURVERZEICHNIS (MARLIES NITZ, ALICE PETSCHNIG)	95

ABBILDUNGSVERZEICHNIS (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

Abb.1: Produktion und Wirkung von Insulin	2
Abb.2: Vorkommen von Diabetes in Industrie- und Entwicklungsländern.....	7
Abb.3: Diabetesassoziierte Komplikationen.....	10
Abb.4: Flussdiagramm zur antihyperglykämischen Therapie des Diabetes mellitus Typ II.....	13
Abb.5: Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies.....	18
Abb.6: Bildung von freien Radikalen	19
Abb.7: Entstehung verschiedener Anomalitäten	29
Abb.8: Zeitplan der Studie.....	43
Abb.9: Einteilung der Teilnehmer.....	43
Abb.10: Bilder der verschiedenen Zelltypen	56
Abb.11: Geschlechtsspezifische Unterschiede der PC-Häufigkeiten (* $p < 0,05$ vs. Männer)	59
Abb.12: Geschlechtsspezifische Unterschiede der BNC-Häufigkeiten (* $p < 0,05$ vs. Männer)	60
Abb.13: Unterschied der BE-Häufigkeiten in Bezug auf Personen, die in der Vergangenheit geraucht haben (* $p < 0,05$ vs Nichtraucher)	61
Abb.14: Unterschied der BE-Häufigkeit in Bezug auf das LDL-Level (* $p < 0,05$ vs $LDL \leq 4,14$).....	62
Abb.15: Unterschiede der BE-Häufigkeiten in Bezug auf das Vitamin B12 Level (* $p < 0,05$ vs Vit. B12 $\geq 540,23$)	62
Abb.16: Unterschied der KR & CC-Häufigkeiten in Bezug auf das CRP-Level (* $p < 0,05$ vs $CRP \leq 5,0$).....	63
Abb.17: Positive Korrelation zwischen CRP und KR & CC	64
Abb.18: Unterschied der MNC & MN-Häufigkeiten in Bezug auf eine Mg-Supplementation (* $p < 0,05$ vs Mg-Supplementation)	64
Abb.19: Unterschied der PC-Häufigkeit in Bezug auf den Gesundheitszustand (* $p < 0,05$ vs NIDDM)	65

Abb.20: Entwicklung der BNC-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes (*p<0,01 vs T0)	66
Abb.21: Entwicklung der PC-Häufigkeiten in der Interventionsgruppe (*p<0,05 vs T0)	67
Abb.22: Entwicklung der KR & CC-Häufigkeiten in der Interventionsgruppe (*p<0,05 vs T0).....	67
Abb.23: Geschlechtsspezifische Unterschiede der BE-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Interventionsgruppe	68
Abb.24: Unterschied der BNC-Häufigkeiten in Bezug auf den HbA1c-Wert (*p<0,05 vs HbA1c-Wert < 7)	69
Abb.25: Geschlechtsspezifische Unterschiede der PC-Häufigkeiten (*p<0,01 vs Männer)	70
Abb.26: Unterschiede der MNC & MN-Häufigkeiten in Bezug auf die Einnahme von Supplementen (*p<0,01 vs keine Einnahme von Supplementen)	71
Abb.27: Unterschiede der MNC & MN-Häufigkeiten in Bezug auf die Einnahme von Mg-Supplemente (*p<0,01 vs Mg-Supplementation)	71
Abb.28: Unterschiede der BE-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Informationsgruppe (*p<0,01 vs T0).....	72
Abb.29: Geschlechtsspezifische Unterschiede der BE-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Interventionsgruppe	73
Abb.30: Unterschiede der KR & CC-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Interventionsgruppe (*p<0,01 vs T0).....	73
Abb.31: Unterschiede der PC-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Interventionsgruppe (*p<0,01 vs T0).....	74
Abb.32: Unterschied der PC-Häufigkeiten in Bezug auf das HbA1c Level (*p<0,01 vs HbA1c ≤ 7)	75
Abb.33: Unterschied der MNC & MN- Häufigkeit in Bezug auf unterschiedliche NBZ Levels (*p<0,05 vs NBZ ≤ 6,11 MNC; ‡p<0,01 vs NBZ ≤ 6,11 MN)....	76
Abb.34: Unterschied der KR & CC-Häufigkeiten in Bezug auf die Krebserkrankung in der Vergangenheit (*p<0,01 vs keine Krebserkrankung in der Vergangenheit).....	76

Abb.35: Unterschied der KL-Häufigkeit in Bezug auf unterschiedliche NBZ Levels.....	77
Abb.36: Unterschiede der BE-Häufigkeiten in Bezug auf unterschiedliche Folsäure Levels (*p<0,01 vs Folsäure ≤ 30,59nmol/l).....	78
Abb.37: Unterschiede der PC-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Interventionsgruppe (*p=0,05 vs T0).....	79
Abb.38: Geschlechtsspezifische Unterschiede der BE-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Interventionsgruppe	80
Abb.39: Entwicklung der BNC-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes (*p=0,01 vs T0 der Interventionsgruppe)	80
Abb.40: Unterschiede der PC-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Interventionsgruppe (*p=0,05 vs T0).....	81

TABELLENVERZEICHNIS (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

Tab.1: Prävalenz von Diabetes in Österreich	8
Tab.2: Orale Antidiabetika welche zur Therapie von Diabetes mellitus Typ II verwendet werden	14
Tab.3: Kriterien des Metabolisches Syndrom	32
Tab.4: Verschiedene Ernährungsinterventionen auf die Häufigkeit von MN.....	36
Tab.5: Fettsäurezusammensetzung	44
Tab.6: Tocopherolgehalt.....	44
Tab.7: verwendete Materialien	48
Tab.8: verwendete Reagenzien.....	48
Tab.9: Beeinflussung der Ernährungsintervention.....	90

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

ADA	American Diabetes Association
IDDM	insulin-dependent Diabetes mellitus
NIDDM	non-insulin-dependent Diabetes mellitus
IFG	Impairedfastingglucose
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ATP	Adenosintriphosphat
$O^{\cdot -}$	Superoxidanion- Radikal
$OH^{\cdot}$	Hydroxyl Radikal
$NO^{\cdot}$	Stickstoff Radikal
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
CuZn-SOD	Kupfer-/Zink Superoxid-Dismutase
AGE	Advanced Glycolysation Endproducts
PKC	Proteinkinase C
IGF-1	insulinähnliche Wachstumsfaktoren (Insuline- like growth factor 1)
BMCyt	Buccal micronucleus cytome assay
MN	Mikrokerne
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dUMP	Deoxyuridinmonophosphate
BMI	Body Mass Index

WHR	Waist-to-Hip-ratio
FFQ	Food frequency Questionnaire
FPG	Fastingplasmaglucoose Protokoll
QLQ	Fragebogen zur Beurteilung der Lebensqualität, Quality of Life Questionnaire
ÖDV	Österreichische Diabetikervereinigung
WGKK	Wiener Gebietskrankenkasse
HbA1c	Hämoglobin A1c
HCL	Hydroxychlorid
BE	Broken egg
BNC	Binucleated cell
CC	Condensed Chromatin
KR	Karyorrhectic cell
PC	Pyknotic cell
KL	Karyolytic cell
LDL	Low density Lipoprotein
HDL	High density Lipoprotein
CRP	C- reaktives Protein
NADH/NAD ⁺	Nicotinamidadenindinucleodid Verhältnis
NADPH	Nicotinamidadenindinucleodidphosphat
GSH	Glutathion
GLUT-4	Glucosetransporter Typ 4

NF-kappaB	Transkriptionsfaktor kappaB
GPX	Glutathion Peroxidase
NBZ	Nüchternblutzucker

1. EINLEITUNG (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

Diabetes mellitus ist eine Stoffwechselerkrankung, die zu erhöhten Blutzuckerkonzentrationen führt. Der Diabetes mellitus Typ II, charakterisiert durch Insulinresistenz und eine relative Störung der Insulin Sekretion, ist dabei die am häufigsten auftretende Ausprägung von Diabetes [MARION et al., 2010]. 90% bis 95% aller Fälle von Diabetes mellitus erkranken an dieser Form [DANAEL et al., 2011]. Nach einer Erhebung der „American Diabetes Association“ (ADA) waren im Jahre 2010 285 Millionen Erkrankungen zu verzeichnen, die Inzidenz steigt jedoch rasant an [SHAW et al., 2010].

In einer Studie des Institutes für Ernährungswissenschaften der Universität Wien über den Einfluss einer Ernährungsintervention auf das Auftreten von Mikrokernen in Mundschleimhautzellen von Typ II Diabetikern, wurden mithilfe des Kleinkerntests Biomarker für Chromosomenschäden gemessen. Zu diesen Biomarkern zählt man Micronuclei, Broken Eggs, Binucleated Cells, Condensed Chromatin Cells, Karyoretic Cells, Pyknotic Cells und Karyolytic Cells. Beim Mikrokerntest in Mundschleimhautzellen handelt es sich um eine nicht invasive Methode zum Nachweis von Chromosomenschäden [BONASSI et al., 2009]. Diese Methode wird an Mundschleimhautzellen oder Lymphozyten durchgeführt und immer häufiger zur Ermittlung des Einflusses von Ernährung und Lebensstil auf Zelltod und Chromosomenschäden verwendet.

Die vorliegende Diplomarbeit, deren Ziel es ist den Einfluss einer Ernährungsintervention auf das Auftreten von Mikrokernen bei Diabetes-Patienten zu untersuchen, ist ein Teil der sogenannten „DIAPLANT Studie“ einem Projekt der Arbeitsgruppe ANTIOX (Emerging Field Oxidative Stress and DNA Stability). Diese Diplomarbeit wurde zusammen mit Alice Petschnig verfasst, die jeweilige Verfasserin der einzelnen Kapitel wird bei den Überschriften angeführt.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Diabetes mellitus (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

2.1.1. Pathophysiologie des Diabetes mellitus

(Marlies Nitz)

Bei Diabetes mellitus handelt es sich um eine Gruppe metabolischer Erkrankungen, die durch Hyperglykämie charakterisiert sind [MARION, 2010]. Die entscheidende Rolle bei dieser Krankheit spielt das Hormon Insulin, welches im Pankreas gebildet wird und dafür sorgt, dass die Glukose in die Zellen aufgenommen werden kann (Abb.1). Bei Diabetes-Patienten ist dieser Vorgang gestört, was chronisch erhöhte Blutzuckerspiegel zur Folge hat [INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF), 2009].

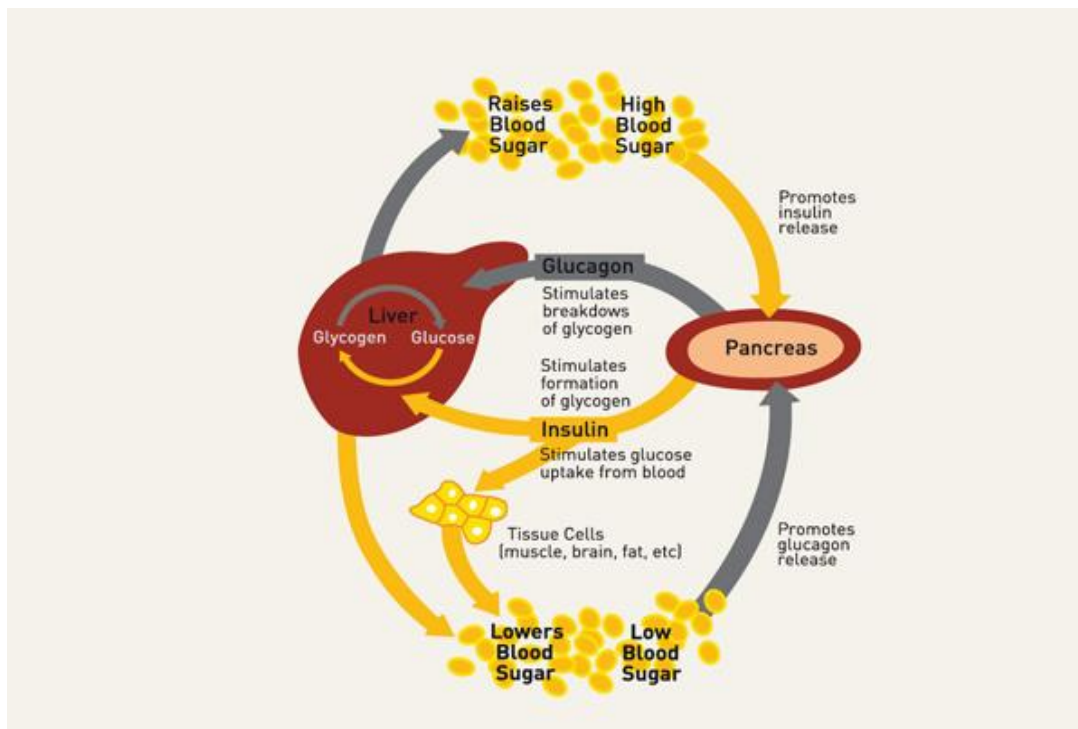


Abb.1: Produktion und Wirkung von Insulin [IDF, 2009]

Die fehlende Insulinwirkung kommt entweder durch Insulinmangel oder durch Insulinresistenz zustande. Beim Diabetes Typ II ist eine Insulinresistenz häufig mit einem relativen Insulinmangel kombiniert. Nach der Definition der ADA liegt ein Diabetes dann vor, wenn der Glukose-Spiegel im Plasma unabhängig von der Nahrungsaufnahme ≥ 200 mg/dl oder der Nüchtern-Plasma-Glukose-Spiegel ≥ 126 mg/dl ist. Aufgrund der chronischen Hyperglykämie kann es in Folge zu bleibenden Schäden an zahlreichen Organen, insbesondere an den Augen, den Nieren, den Nerven, am Herzen und an den Blutgefäßen kommen [MARION, 2010].

2.1.2. Risikofaktor Adipositas (Marlies Nitz)

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert Menschen mit einem Body Mass Index (BMI) über 25 als übergewichtig und Personen ab einem BMI über 30 als adipös [WHO, 2000].

Adipositas kann zu verschiedenen Stoffwechselstörungen wie Insulinresistenz, Hyperinsulinämie, Glucoseintoleranz oder Hyperurikämie, sowie zu verschiedenen Erkrankungen wie Diabetes Typ II, koronaren Herzerkrankungen, Hypertonie, Gicht oder verschiedenen Krebserkrankungen führen. Zum Beispiel sind knapp ein Fünftel aller Kolon- und ein Achtel der Brustkrebserkrankungen auf Übergewicht zurückzuführen [JAMES et al., 2004].

Das Fettgewebe übernimmt neben seiner Speicherfunktion, auch endokrine und sekretorische Aufgaben. In Adipozyten werden verschiedene Zytokine, wie der Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α), das Interleukin 1b und Interleukin 6 (IL 6), sowie auch parakrin und endokrin wirksame Metabolite wie Östrogene, Leptin, Angiotensinogene, Prostaglandine und Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) gebildet [DCMS-NEWS, 2003].

Risikofaktoren die mit Adipositas einhergehen:

- Erhöhte Produktion der proinflammatorischen Zytokine IL 6 und TNF- α
- Erhöhte Konzentrationen an TNF- α induzieren eine Insulinresistenz: die Tyrosinkinase-Aktivität des Insulin-Rezeptors und die Expression des Glukosetransporters Typ 4 (GLUT4-Transporter) wird vermindert. Durch eine Gewichtsreduktion wird die Bildung von TNF- α vermindert und führt zu einer verbesserten Insulinsensitivität.
- Proteine, Aminosäuren und Lipide werden in einem größeren Umfang oxidativ verändert, da Leukozyten übergewichtiger Personen vermehrt reaktive Sauerstoffspezies (ROS) bilden.
- Die Aktivität antioxidativer Enzyme ist vermindert (Kupfer-/Zink Superoxid-Dismutase (CuZn-SOD) und Glutathion Peroxidase (GPX))
- Übergewichtige weisen aufgrund eines Mehrbedarfs an bestimmten Mikronährstoffen und einer falschen Ernährungsweise häufig Störungen der Mikronährstoffversorgung auf [DCMS-NEWS, 2003].

2.1.3. Klassifikation des Diabetes mellitus

(Alice Petschnig)

Laut ADA unterscheidet man vier Haupttypen des Diabetes mellitus:

Der Typ I Diabetes ist gekennzeichnet durch eine progrediente Zerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen in den Langerhans'schen Inseln des Pankreas, wodurch ein Insulinmangel entsteht [MARION, 2010].

Der Typ I Diabetes ist immer ein „insulin-dependent diabetes mellitus“ (IDDM), bei dem die Patienten zu wenig oder gar kein Insulin mehr produzieren [SURMINSKI, 2003].

Der Typ II Diabetes betrifft ca. 90% aller Diabetiker, davon wiederum sind 90% der Patienten adipös und nur 10% sind normalgewichtig [SURMINSKI, 2003]. Diabetes mellitus Typ II ist durch relativen Insulinmangel oder Insulinresistenz charakterisiert [KERNER et al., 2004].

Typ II Diabetes kann mit oralen Antidiabetika, Insulin oder einer Kombination von beiden behandelt werden. Folglich unterscheidet man zwischen IDDM und „non-insulin-dependent diabetes mellitus“ (NIDDM) [SURMINSKI, 2003].

Der Gestationsdiabetes stellt ein genetisch heterogenes Krankheitsbild mit variierendem Schweregrad dar und ist die am häufigsten auftretende Stoffwechselerkrankung in der Schwangerschaft [KERNER et al., 2004]. Nach Angaben der Deutschen Diabetes-Gesellschaft tritt er bei 1% bis 5% aller Schwangeren auf.

Andere Diabetes Typen sind genetische Defekte der β -Zellfunktion, genetische Defekte der Insulinwirkung sowie Erkrankungen des endokrinen Pankreas [ADA, 2006].

2.1.4. Prävalenz (Alice Petschnig)

Allgemein

Die Prävalenz von Diabetes mellitus Typ II hat in den letzten Jahren aufgrund des steigenden Alters der Bevölkerung und durch den modernen Lebensstil immer mehr zugenommen, wodurch auch die gesundheitspolitische sowie die gesellschaftliche Bedeutung dieser Erkrankung immer wichtiger geworden ist [DUNSTAN et al., 2002].

Nach Angaben der „International Diabetes Federation“ waren 2001 177 Millionen Menschen im Alter von 20-79 Jahren an Diabetes mellitus erkrankt, was eine Prävalenz von 5,2% zur Folge hat [RIEDER et al., 2004]. Im Jahre 1998 ging die WHO von einem Anstieg auf insgesamt 300 Millionen Diabetikern für das Jahr 2025 aus [KING et al., 1998]. In einer Studie von SHAW aus dem Jahr 2010, wurde die Diabetesprävalenz von 216 Ländern für 2010 und 2030 berechnet. Man hat darin errechnet, dass die Prävalenz für Diabetes bis 2030 auf 7,7% weltweit ansteigen wird, was in Summe einer Zahl von 439 Millionen Diabetikern entspricht. SHAW's Angaben für das Jahr 2010 lagen bei 285 Millionen Diabetikern, was wiederum bedeutet, dass es zwischen 2010 und 2030 in den Industrieländern zu einer Erhöhung um 69% und in den Entwicklungsländern zu einer Steigerung um 20% kommen wird (Abb.2) [SHAW et al., 2010]. Die Ergebnisse aus der Studie von DANAEI aus dem Jahre 2011, ergaben 347 Millionen erwachsene Diabetiker im Jahr 2010. Die unterschiedliche Anzahl der Diabetiker im Jahr 2010 der zwei Studien könnten sich durch die unterschiedlichen Ein,- und Ausschlusskriterien oder durch den unterschiedlichen Umgang mit fehlenden Daten ergeben [DANAEI et al., 2011].

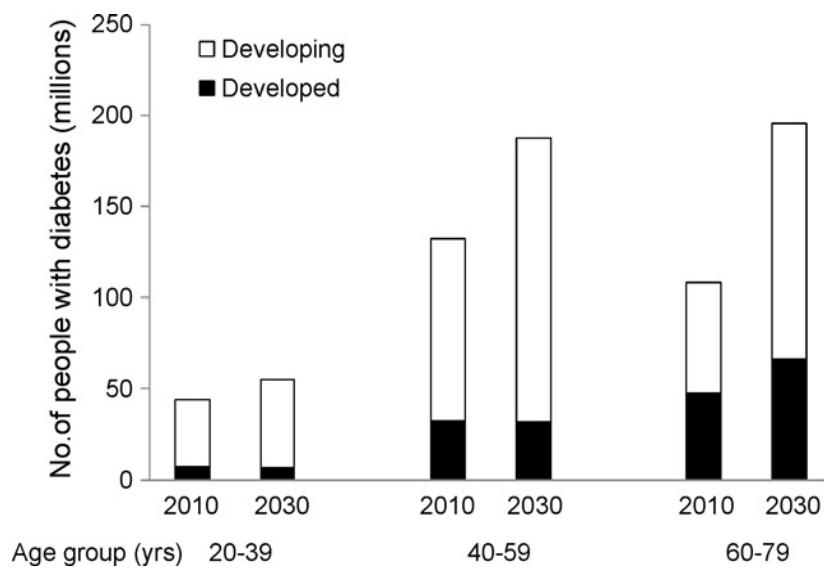


Abb.2: Vorkommen von Diabetes in Industrie- und Entwicklungsländern [SHAW et al., 2010]

Situation in Österreich

Nach Schätzungen der WHO lag die Prävalenz von Diabetes in Österreich im Jahre 2000 bei 2,1%, demnach waren ca. 130.000 Personen an Diabetes mellitus erkrankt (Tab.1) [RIEDER et al., 2004; KING et al., 1998]. Nach Angaben der österreichischen Diabetesgesellschaft sind derzeit 500.000 Menschen allein an dem Typ II Diabetes erkrankt [ÖSTERREICHISCHE DIABETES GESELLSCHAFT, 2011].

Tab.1: Prävalenz von Diabetes in Österreich [RIEDER et al., 2004]

Jahr	2000	
Prävalenz (%)	2,1	
Gesamt	130.000	
Männer	59.000	45%
Frauen	71.000	55%
20-44 Jahre	6.900	5%
45-64 Jahre	54.000	42%
>64 Jahre	69.000	53%

Im Rahmen einer Gesundheitsbefragung der Statistik Austria gaben insgesamt 6% der Bevölkerung an, dass sie an Diabetes leiden, wobei der Anteil der Betroffenen mit zunehmendem Alter anstieg. So haben 16% der über 60-Jährigen angegeben an Diabetes zu leiden. Die größten geschlechtsspezifischen Unterschiede treten in diesem Zusammenhang bei den über 75-Jährigen auf. Hier geben 19% der Männer und 23% der Frauen an, an Diabetes erkrankt zu sein [STATISTIK AUSTRIA, 2006/2007].

Aufgrund des chronischen Verlaufs von Diabetes mellitus und der signifikant erhöhten Morbidität und Mortalität, welche vor allem durch vaskuläre Komplikationen bedingt ist [ABDUL-GHANI et al., 2009], stellt die weltweite Überwachung und Kontrolle von Diabetes einen wichtigen Schritt in Richtung Sekundärprävention dieser Krankheit dar [DUNSTAN et al., 2002]. Diabetes ist allerdings nicht nur eine ernstzunehmende Gesundheitsbedrohung, sondern führt außerdem zu einer enormen finanziellen Belastung für das Gesundheitssystem des jeweilig betroffenen Staatshaushaltes [ABDUL-GHANI et al., 2009].

2.1.5.Kosten der Erkrankung (Marlies Nitz)

Wie schon eingangs erwähnt, handelt es sich bei Diabetes um eine Erkrankung deren Prävalenz in den nächsten Jahren ansteigen wird. Als Folge dessen kommt es ebenso zu einem Anstieg, an Kosten in den betroffenen Staaten. Die „CODE-2-Studie“ hat ergeben, dass die Kosten pro Patient und Jahr durchschnittlich 2834.- Euro ausmachen, wobei sich 50% dieser Kosten auf die stationäre Behandlung, 13% auf die ambulante Versorgung und 27% auf die medikamentöse Behandlung dieser Erkrankung belaufen. Das Resultat der Studie war, dass das Vorliegen von Komplikationen, verursacht durch Diabetes mellitus, den größten Einfluss auf die direkten Kosten im Zusammenhang mit Diabetes hat. Vergleicht man Patienten ohne Komplikationen mit Patienten mit mikrovaskulären Komplikationen, ergibt das einen Kostenanstieg von 70%. Bei makrovaskulären Komplikationen erhöhen sich die Kosten sogar um 100% [RIEDER et al., 2004]. Durch diesen Aspekt ergibt sich auch eine positive Korrelation zwischen Dauer eines Diabetes und der Kostensteigerung [HENRIKSSON et al., 2000]. Um eine Verringerung dieser Kosten zu erreichen, sollte insbesondere die Prävention von mikro,- und makrovaskulären Komplikationen im Vordergrund stehen [BROWN et al., 1999]. Bis heute existieren allerdings für Österreich bedauerlicherweise keine spezifischen Angaben über die Diabetes assoziierten Kosten [RIEDER et al., 2004].

2.1.6.Komplikationen (Alice Petschnig)

Da die Hyperglykämie einen Risikofaktor für Gefäßkomplikationen darstellt, muss vor allem auch den Spätfolgen von Diabetes mellitus besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden [GIANI et al., 2004]. Die chronischen Komplikationen im Zusammenhang mit Diabetes sind meist vaskulär. Man unterscheidet dabei mikrovaskuläre von makrovaskulären Komplikationen (Abb.3) [JENKINS et al., 2007].

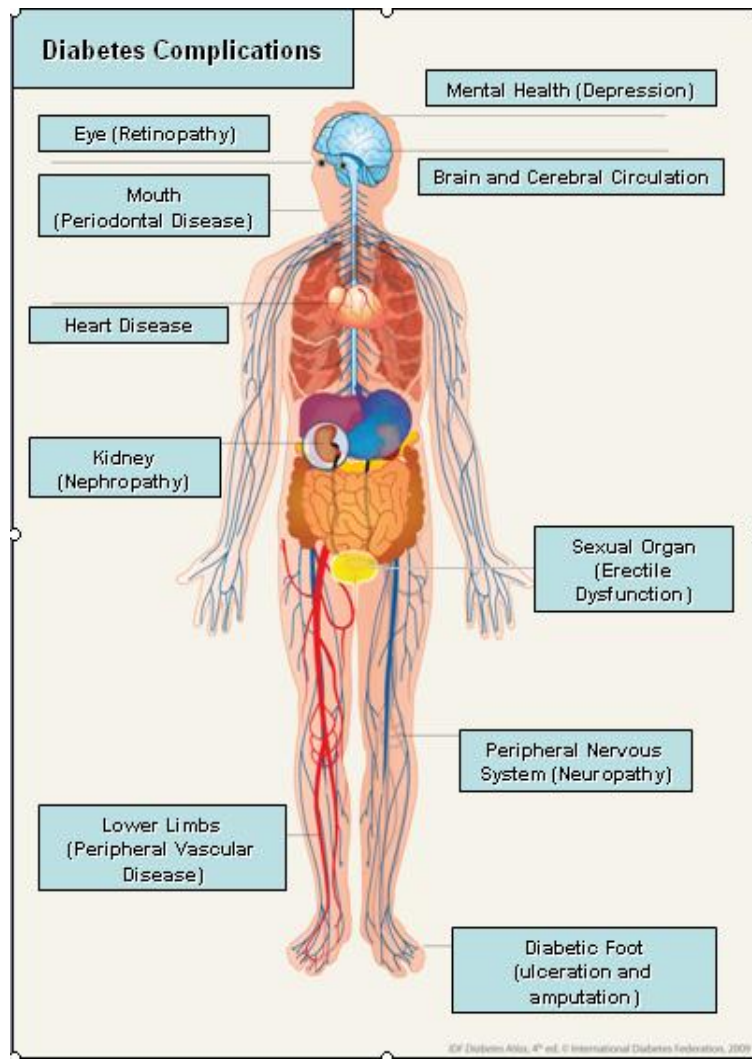


Abb.3: Diabetesassoziierte Komplikationen [INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2009]

Zu den makrovaskulären Folgen zählen koronare Erkrankungen und periphere vaskuläre Erkrankungen, zu den mikrovaskulären Folgen gehören die Neuropathie, die Retinopathie sowie die Nephropathie [ADREASSI et al., 2011].

2.1.6.1. Makroangiopathie (Alice Petschnig)

- **Kardiovaskuläre Erkrankungen** zählt man zu den häufigsten Folgeschäden und sind für die erhöhte Morbidität und Mortalität in diesem Kontext verantwortlich. In den modernen Industrieländern steht Diabetes an vierter Stelle der häufigsten Todesursachen [UKPDS, 1998].

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind bei Diabetikern für 75% der Gesamtmortalität verantwortlich [GEISS et al., 1995], das Risiko koronarer Herzerkrankungen nimmt bei den Betroffenen mit der Dauer eines Diabetes zu [KROLEWSKI et al., 1991].

- Die Inzidenz von **Schlaganfällen** ist nach den Ergebnissen der „Honolulu Heart Study“ zwei bis dreimal so hoch wie bei Nichtdiabetikern [RODRIGUEZ et al., 2002].

Zusammenfassend kann somit gesagt werden, dass Patienten mit Diabetes mellitus Typ II ein dreifach so hohes Risiko aufweisen an kardiovaskulären Erkrankungen, wie Herzinfarkt oder Schlaganfall, zu erkranken [ABDUL GHANI et al., 2009].

2.1.6.2. Mikroangiopathie (Alice Petschnig)

- Die Mikroalbuminurie stellt das erste klinische Zeichen einer **Nephropathie** dar.

Sie tritt bei ca. 30% bis 40% aller Patienten mit Diabetes Typ I auf und ist bei Männern häufiger anzutreffen als bei Frauen [HARVEY et al., 2001].

Bei Patienten mit Diabetes Typ II lässt sich eine Mikroalbuminurie meist schon bei der Diagnose nachweisen [ADLER et al., 2003].

- Die Inzidenz einer **Erblindung** aufgrund eines Diabetes steigt ab dem 60. Lebensjahr steil an. Bei den unter 40-jährigen Patienten beträgt die

Inzidenz 0,13 und bei den 60 bis 79-Jährigen schon 7,80 [TRAUTNER et al., 2003].

- Die diabetische **Neuropathie** ist eine Erkrankung der peripheren Nerven. In einer klinischen Querschnittstudie litten 17% der Typ I,- und 35% der Typ II Diabetiker an eine klinisch nachweisbaren peripheren Neuropathie [ZIEGLER et al., 1993].

In den letzten Jahren wurde immer wieder diskutiert, dass Patienten mit Diabetes, an erhöhten oxidativen Desoxyribonukleinsäure-Schäden (DNA-Schäden) leiden und dass diese Schädigungen einen wichtigen Marker darstellen könnten um Komplikationen, die mit Diabetes in Zusammenhang stehen, vorhersagen zu können [ADREASSI et al., 2011].

2.1.7. Therapiemöglichkeiten (Marlies Nitz)

Allgemein muss bei der Therapie zwischen den verschiedenen Typen des Diabetes unterschieden werden: Während bei Diabetes Typ I immer eine Insulintherapie nötig ist und diese auch ein Leben lang angewendet werden muss, gibt es bei Diabetes Typ II verschiedene Arten der Therapie, welche sich hinsichtlich der Dauer der Erkrankung und dem Ausmaß der Mitwirkung der Patienten unterscheiden.

Beim Diabetes Typ II wird zu Beginn der Behandlung immer eine Lebensstiländerung in Kombination mit einer medikamentösen Therapie angestrebt. Erst wenn diese Therapie nicht ausreicht um den Blutzucker zu senken, wird mit einer Insulintherapie begonnen (Abb.4) [ÖSTERREICHISCHE DIABETES GESELLSCHAFT, 2011].

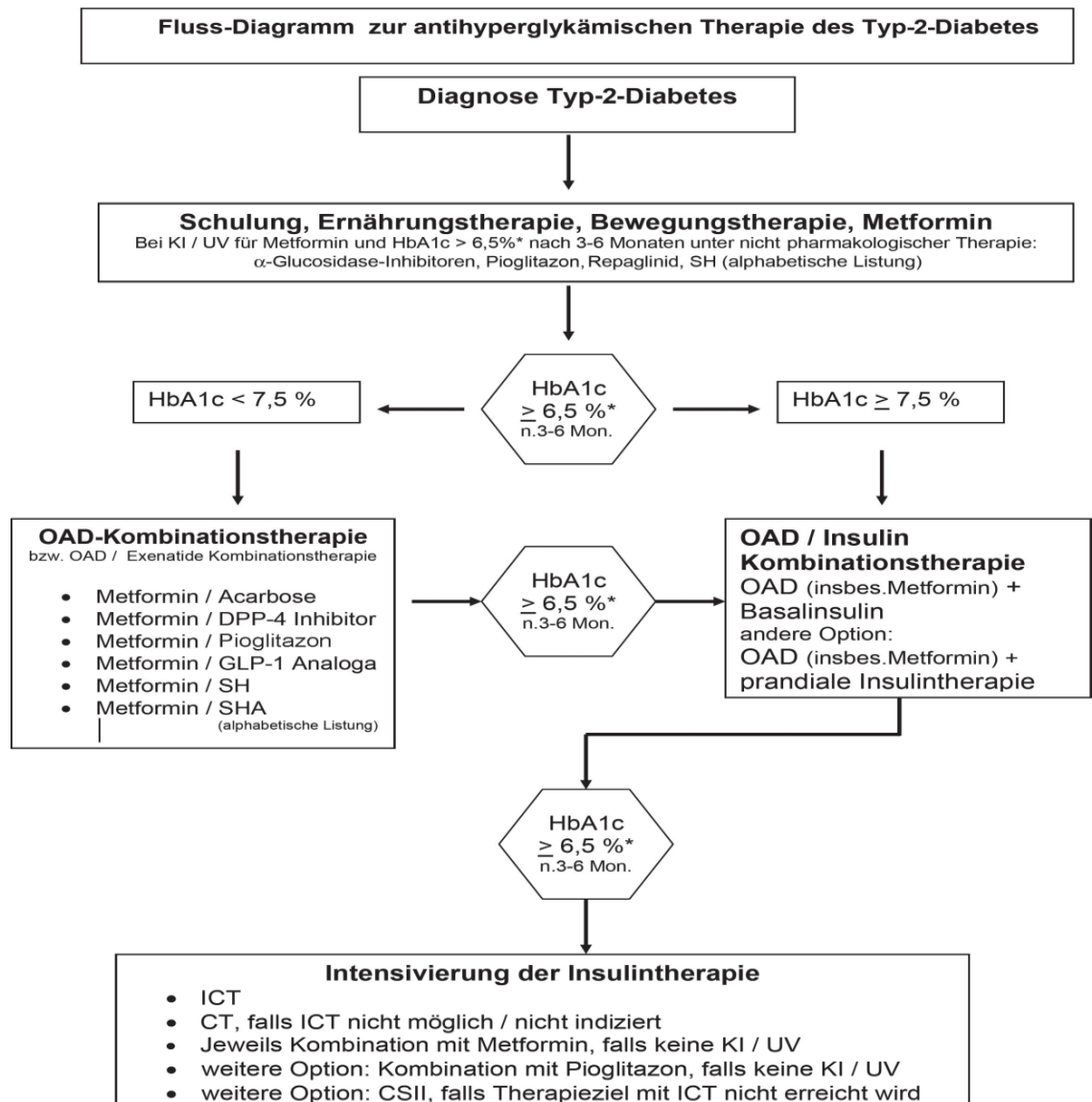


Abb.4: Flussdiagramm zur antihyperglykämischen Therapie des Diabetes mellitus Typ II
[MATTHAEI et al., 2009]

2.1.7.1. Medikamentöse Therapie (Marlies Nitz)

Eine medikamentöse Therapie kann bei Diabetes mellitus Typ II angewendet werden, da die Bauchspeicheldrüse, anders als bei Diabetes mellitus Typ I Patienten noch Insulin produziert. Bei Typ II Diabetikern ist lediglich die Wirkung des Insulins gestört.

Tab.2: Orale Antidiabetika welche zur Therapie von Diabetes mellitus Typ II verwendet werden
[VIGNERI et al., 2009]

Klasse	Komponenten	Wirkmechanismus
Biguanide	Metformin	Insulin-Sensitizer (reduzieren die Insulinresistenz)
Thiazolidindione	Rosiglitazone Pioglitazone	Insulin-Sensitizer (reduzieren die Insulinresistenz)
Sulfonylharnstoffe	Glipizide Gliclazide Glyburide Gliquidone Glycolypyramide Glimepiride	Sekretagoga (stimulieren Insulinsekretion)
Meglatinide	Repaglinide Nateglinide	Kurzfristige Sekretagoga (stimulieren Insulinsekretion)

Medikamente wie zum Beispiel **Metformin** regulieren den Blutzuckerspiegel indem sie die Glukose-Aufnahme aus dem Darm verzögern oder die Glukose-Aufnahme in die Zellen verbessern. **Sulfonylharnstoffe** senken im Gegensatz dazu den Blutzuckerspiegel indem sie die Insulinabgabe aus der Bauchspeicheldrüse ins Blut erhöhen [HÄRING et al., 2004].

Durch Metformin wird an der Leber sowie im Bereich der Muskulatur die Insulinresistenz vermindert. Sulfonylharnstoffe, Repaglinid und Nateglinid hingegen führen durch eine Hemmung der Adenosintriphosphat (ATP) empfindlichen Kaliumkanäle der β -Zellen zu einer Senkung des Blutglukose-Spiegels (Tab.2) [HÄRING et al., 2004].

Erst wenn der Blutzucker durch Medikamente nicht reguliert werden kann, wird bei Diabetes Typ II-Patienten mit einer Insulintherapie begonnen [HÄRING et al., 2004].

2.1.7.2. Insulintherapie (Marlies Nitz)

Diese Art der Therapie korrigiert nicht nur einen Insulinmangel, durch die Verminderung der Glukose-Toxizität wird auch die Insulinresistenz verbessert und die endogene Insulinsekretion gesteigert [HÄRING et al., 2004].

Effekte des Insulin:

- Supprimierung der Überproduktion von Glukose in der Leber
- Förderung der Glukoseaufnahme nach den Mahlzeiten in periphere Gewebe [HÄRING et al., 2004]

Des Weiteren korrigiert das Insulin auch andere Stoffwechselstörungen, wie zum Beispiel die erhöhte Lipolyse. Einen zusätzlichen positiven Effekt von Insulin stellt dessen günstige Auswirkungen auf Blutfette dar [EMANUELE et al., 1998].

Eine frühe glykämische Kontrolle kann die vaskulären Komplikationen reduzieren und die Funktion der β -Zellen länger aufrechterhalten [HARTGE et al., 2007; STEPPEL et al., 2004]. Es gibt immer größeres Interesse daran herauszufinden, ob Insulin in einer frühen Phase der Erkrankung protektiv auf die β -Zellfunktion wirkt [WENG et al., 2008].

In einer Studie aus dem Jahr 2008, waren 382 Personen, welche erst kürzlich an Diabetes Typ II erkrankt waren, beteiligt. Eine normale Glykämie wurde bei 95% der Personen, welche gleich anfangs mit Insulin behandelt wurden und bei 84% der Personen, welche mit Antidiabetikern behandelt wurden, erreicht [WENG et al., 2008].

Im Rahmen einer Behandlung mit Insulin können jedoch auch Nebenwirkungen auftreten. In der „UKPD-Studie“ traten Hypoglykämien im Rahmen einer Insulintherapie deutlich häufiger auf als bei einer Behandlung mit oralen Antidiabetikern. Eine höhere Gewichtszunahme und Allergien, welche durch das Insulin selbst oder durch andere Zusatzstoffe ausgelöst werden können,

sind weitere mögliche negative Auswirkungen einer Insulintherapie [UKPDS, 1998].

2.2. Diabetes mellitus und oxidativer Stress

(Marlies Nitz, Alice Petschnig)

2.2.1. Definition (Marlies Nitz)

Freie Radikale

Ein freies Radikal ist eine chemische Verbindung mit einem oder mehreren ungepaarten Elektronen welches unabhängig existieren kann. Freie Radikale können entweder exogen entstehen und dann in den Körper gelangen oder sie entstehen bei metabolischen Prozessen. Werden freie Radikale wie das Superoxidanion-Radikal ($O^{\cdot-}$), das Hydroxyl-Radikal ($OH^{\cdot}$) oder das Stickstoff-Radikal ($NO^{\cdot}$) nicht inaktiviert, kann es zur Schädigung von Makromolekülen (Proteinen, Kohlenhydraten, Lipiden) kommen [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Antioxidantien

Um freie Radikale inaktivieren zu können, werden Abwehrmechanismen benötigt. Hierbei differenziert man zwischen enzymatischen und nicht-enzymatischen Mechanismen [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Zu den enzymatischen Abwehrmechanismen gehören die SOD, die GPX, sowie die Katalase [BERGER et al., 2005].

Die nicht-enzymatische Abwehr besteht aus niedermolekularen Substanzen, wie Glutathion (GSH), Ubichinon und Harnsäure welche im Körper synthetisiert werden. Andere Antioxidantien wie etwa Vitamin C, Vitamin E und β -Carotin müssen mit der Nahrung aufgenommen werden [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung mit Antioxidantien in Zusammenhang mit der Entstehung von Spätschäden bei Diabetes mellitus eine wichtige präventive Rolle spielt. Auch im Rahmen der sogenannten „ALADIN Studie“, kam man zum Ergebnis, dass eine Supplementation mit der antioxidativ wirkenden α -Liponsäure die Symptome einer diabetischen Neuropathie verbessern kann [RÖSEN et al., 2001].

2.2.2.Oxidativer Stress (Alice Petschnig)

Gegenwertig gibt es ausreichend experimentelle Beweise dafür, dass die Bildung von ROS bei beiden Typen von Diabetes erhöht ist und dass die Entstehung von Diabetes mit oxidativem Stress zusammenhängt. Aus diesem Grund soll im Folgenden auf die Grundlagen des oxidativen Stresses eingegangen werden [RÖSEN et al., 2001].

Oxidativer Stress resultiert aus einer Überproduktion von Radikalen, wobei das natürliche oxidative Gleichgewicht gestört wird und es zu Zellschädigungen kommen kann. Das wiederum bedeutet, dass das Gleichgewicht zwischen der Produktion von ROS und dem antioxidativen Schutzsystem nicht mehr aufrechterhalten werden kann [HALLIWELL et al., 1996].

Dieses Ungleichgewicht spielt jedoch nicht nur bei der Entstehung der Krankheit an sich, sondern auch beim Krankheitsverlauf von Diabetes Typ II und dem Auftreten von Folgeerkrankungen eine entscheidende Rolle [RAINS et al., 2011]. Eine diabetische Stoffwechsellage im Körper trägt zur weiteren Progression der Erkrankung und dem Auftreten von Folgeschäden bei [CERIELLO und MOTZ, 2004].

Oxidativer Stress beschleunigt die Schädigungen der DNA. Daher sind DNA-Schäden in Zellen, welche oxidativem Stress ausgesetzt sind, häufiger zu verzeichnen als in gesunden Zellen. Oxidativer Stress hat aber nicht nur direkte Effekte auf die DNA, sondern beeinflusst auch die Signaltransduktion, die Zellproliferation und den Zelltod [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2004].

Aufgrund einer Überproduktion von ROS werden verschiedene metabolische Stoffwechselwege in der Zelle aktiviert, die vaskuläre Schäden verursachen, welche dann in weiterer Folge zu mikrovaskulären Komplikationen führen können (Abb.5) [ABDUL-GHANI et al., 2009].

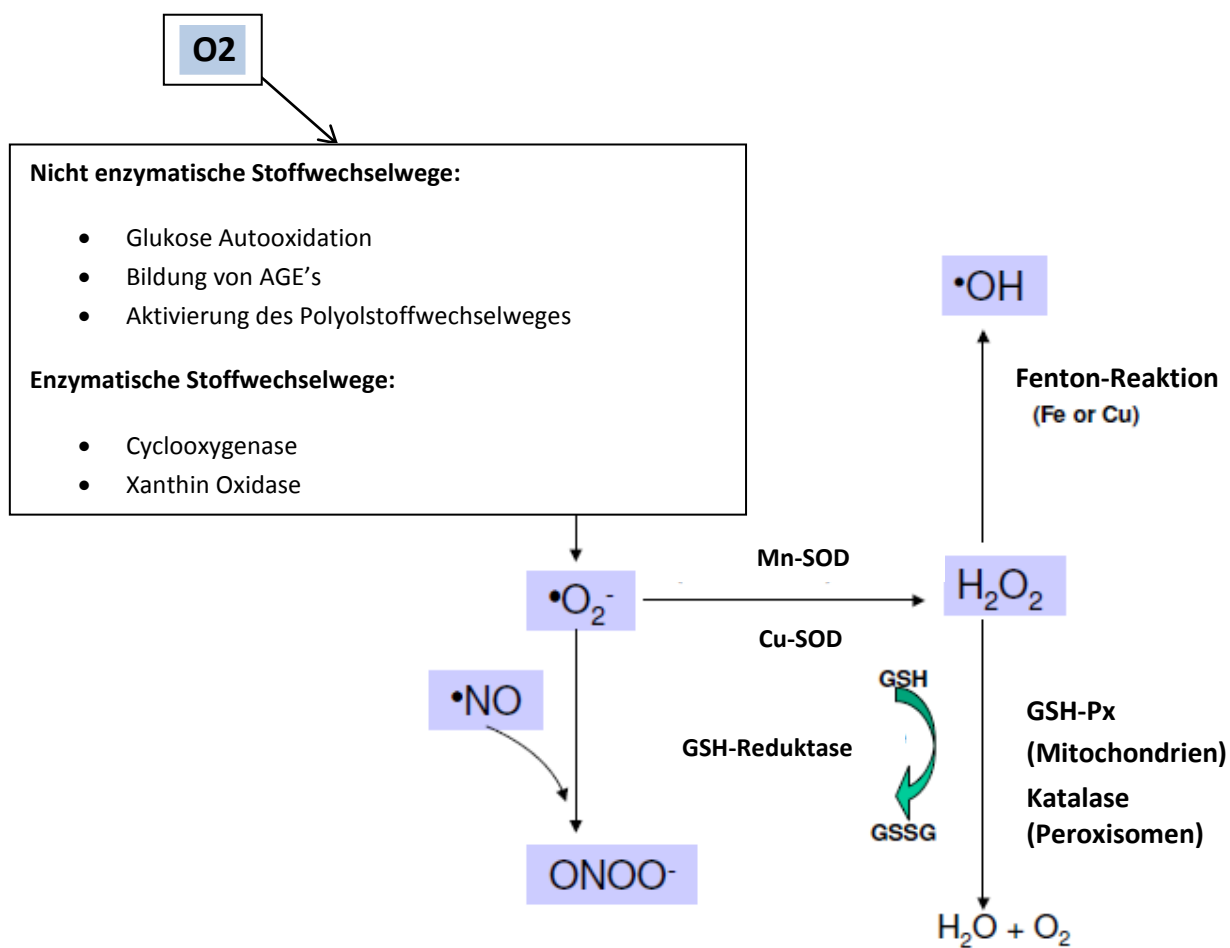


Abb.5: Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies [modifiziert nach JOHANSEN et al., 2005]

2.2.3.Oxidativer Stress in Zusammenhang mit Diabetes mellitus (Alice Petschnig)

Eine chronische Hyperglykämie kann über vier metabolische Stoffwechselwege zur Erhöhung des oxidativen Stress beitragen (Abb.6) [RAINS et al., 2011]:

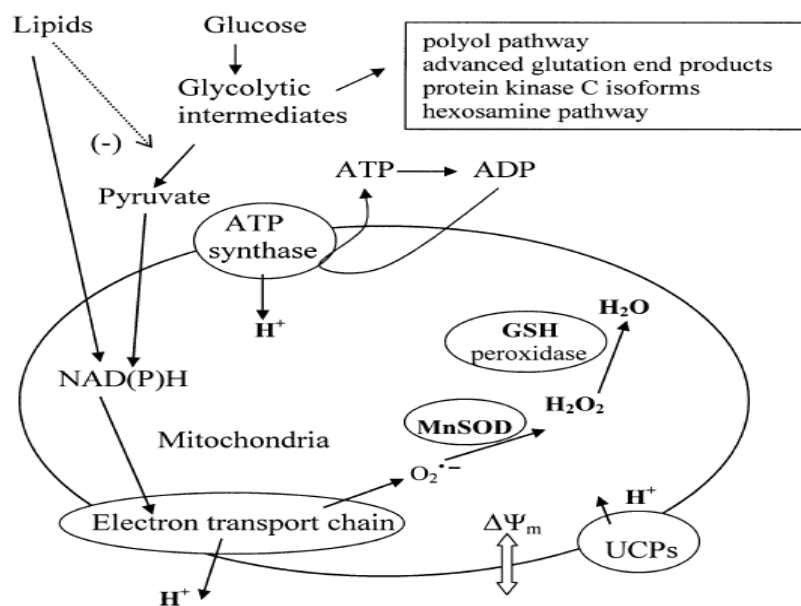


Abb.6: Bildung von freien Radikalen [FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005]

- **Polyolstoffwechselweg**

Die Hyperglykämie führt in verschiedenen Geweben zur Anhäufung von Sorbitol.

Durch die Hyperglykämie wird Glukose vermehrt über den Polyolweg abgebaut, es kommt zu erhöhten Konzentrationen an Sorbitol und Fruktose.



Es wird daher diskutiert, dass ein gesteigerter Polyolstoffwechsel zur Entstehung von Mikroangiopathien beiträgt. Ein erhöhter Polyolstoffwechsel führt aber ebenso zu einem Anstieg des zytosolischen Nicotinamidadenindinucleotid Verhältnisses (NADH/NAD⁺), zur Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) und einem Verbrauch von Nicotinamidadenindinucleodidphosphat (NADPH), welches zur Regeneration von GSH benötigt wird; dieses benötigt die Zelle zum Schutz vor oxidativem Stress [HÜRTER und DANNE, 2005].

- **Advanced Glycolysation Endproducts**

So genannte Advanced Glycolysation Endproducts (AGE's) entstehen durch nicht enzymatische Reaktionen zwischen extrazellulären Proteinen und reduzierenden Zuckern [ABDUL GHANI et al., 2009]. AGE's können auf drei verschiedenen Wegen zur Schädigung von Zellen führen:

1. Die Funktion von Proteinen wird durch die Bildung von AGE's gestört.
2. Durch die Produktion von AGE's kommt es zu irreversiblen Plasmaproteinablagerungen und zu einer Störung im Rahmen des Aufbaus der Basalmembran.
3. An der Zelloberfläche befinden sich spezifische Rezeptoren für AGE's, wodurch es zur Freisetzung von Wachstumsfaktoren kommt. Diese Wachstumsfaktoren spielen dann in weiterer Folge bei proliferativen Entstehungsprozessen der Mikroangiopathie eine gewichtige Rolle [HÜRTER und DANNE, 2005].

- **Proteinkinase C**

Bei Diabetes kommt es durch die Hyperglykämie zu einer gesteigerten Synthese von Diazylglycerol. Vor allem in den Geweben der Retina, des Herzens und der Aorta lässt sich dieser Vorgang nachweisen. Diazylglycerol führt zu einer vermehrten Bildung von ROS und ist Aktivator der PKC [RÖSEN et al., 2001]. Von der PKC sind zwölf verschiedene Isoformen bekannt. Eine zentrale Rolle hierbei spielen insbesondere die PKC β - und PKC δ -Isoformen. In Zellkulturen sowie in Tierstudien konnte nachgewiesen werden, dass durch eine Hemmung der PKC β -Isoformen jene Vorgänge, welche zu einer durch Diabetes bedingten Retinopathie, Neuropathie und Nephropathie führen, gehemmt werden können [HÜRTER und DANNE, 2005].

- **Hexosaminstoffwechsel**

Ein vermehrter Anfall von Fructose-6-Phosphat und seine Verstoffwechselung im Rahmen des Hexosaminstoffwechselweges wird ebenfalls als eine der möglichen Ursache für die Entstehung von Mikroangiopathien bei Diabetes mellitus angesehen [HÜRTER und DANNE, 2005].

2.3. Erhöhtes Krebsrisiko bei Diabetikern (Marlies Nitz)

Diabetes und Krebs sind zwei heterogene, multifaktorielle Erkrankungen mit einem chronischen Verlauf, welche aufgrund ihrer Häufigkeit und ihrer gegenseitigen Beeinflussung von großer Bedeutung sind [VIGNERI et al. 2009]. Es handelt sich dabei um Erkrankungen, deren Inzidenz weltweit dramatisch ansteigt. Allein 2008 wurden 12,4 Millionen neue Fälle von Krebs diagnostiziert

[GIOVANNUCCI et al., 2010]. Weltweit steht Krebs an zweiter und Diabetes an zwölfter Stelle der zum Tode führenden Erkrankungen [LOPEZ et al., 2006].

Diabetes mellitus und Krebs sind zwar zwei unterschiedliche Krankheiten, trotz alledem haben sie gemeinsame Risikofaktoren wie Geschlecht, Alter, Übergewicht, Adipositas sowie gemeinsame Lebensstilfaktoren wie Rauchen, Alkohol, und mangelnde Bewegung [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Es sollte aber an dieser Stelle erwähnt werden, dass Faktoren wie die Dauer eines Diabetes, unterschiedliche Therapien und ein mögliches Vorliegen einer chronischen Spätfolgeerkrankung eine richtige Bewertung des Krebsrisikos im Zusammenhang mit Diabetes mellitus erschweren. Es gibt Anzeichen, dass Hyperglykämie und der erhöhte oxidative Stress ebenso zu einem erhöhtem Krebsrisiko führen können. Meta-Analysen deuten darauf hin, dass zwar gewisse Krebsarten bei Diabetes mellitus vermehrt auftreten, andere jedoch wie zum Beispiel Prostatakrebs bei Männern, die an Diabetes mellitus leiden, seltener auftreten [VIGNERI et al. 2009].

Epidemiologische Studien bestätigen den Verdacht, dass Diabetes mellitus-Patienten ein erhöhtes Risiko aufweisen bestimmte Krebsarten zu entwickeln, wie zum Beispiel Pankreas,- Leber,- Brust,- und Kolorektalkrebs [VIGNERI et al. 2009]. Man muss jedoch in diesem Zusammenhang beachten, dass Diabetes mellitus eine Gruppe von metabolischen Funktionsstörungen darstellt, welche durch eine Hyperglykämie charakterisiert sind [VIGNERI et al. 2009].

Der Mechanismus wie Diabetes mellitus und Krebs in Zusammenhang stehen ist noch nicht vollständig geklärt, wahrscheinlich spielen hierbei Hyperglykämie und Hyperinsulinämie eine entscheidende Rolle [BAUR et al., 2010]. Beobachtungsstudien an Menschen haben gezeigt, dass Patienten, welche Insulin spritzen ein erhöhtes Risiko aufwiesen an Krebs zu erkranken [BROWKER et al., 2006; CURRIE et al., 2009; YANG et al., 2004]. Im Gegensatz dazu stellte sich heraus, dass Metformin das Krebsrisiko, beziehungsweise das Mortalitätsrisiko im Falle einer Krebserkrankung signifikant verringert [BAUR et al., 2010; LANDMANN et al., 2010].

Auch konnte durch mehrere Metaanalysen nachgewiesen werden, dass eine Assoziation zwischen Diabetes und Pankreaskrebs besteht. Auch ein Zusammenhang zwischen Diabetes und Leberkrebs wird diskutiert [VIGNERI et al. 2009], da Insulin in den β -Zellen des Pankreas erzeugt und dann zur Leber transportiert wird. Diese zwei Organe sind somit besonders hohen Konzentrationen von endogen erzeugtem Insulin ausgesetzt [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Die Studie von CHARI hat bestätigt, dass vor allem ältere Personen, welche erst spät in ihrem Leben an Diabetes mellitus erkrankten, ein achtfach so hohes Risiko aufweisen innerhalb der darauffolgenden drei Jahre einen Pankreaskrebs zu entwickeln als gesunde Personen des gleichen Geschlechts und Alters [CARI et al., 2005].

In epidemiologischen Studien wird der IGF-1 mit einem erhöhten Risiko für Kolonkrebs in Verbindung gebracht. IGF-1 wirkt in diesem Zusammenhang quasi als Promotor für das Zellwachstum von Kolonkrebszellen [COUGHLIN et al., 2004].

Im Gegensatz zum erhöhten Risiko für Pankreas,- Leber,- und Brustkrebs, gibt es zahlreiche Studien, die auf ein verringertes Prostatakrebsrisiko hinweisen [BONOVAS et al., 2004, KASPER und GIOVANNUCCI, 2006]. Gründe dafür könnten die verringerten Testosteronwerte bei Diabetikern sein [BETANCOURT-ALBRECHT und CUNNINGHAM, 2003], sowie die unterschiedlichen Werte an Insulin und Leptin und natürlich die verschiedenartige Behandlung dieser Erkrankung [KASPER & GIOVANNUCCI, 2006], wobei vor allem Metformin in diesem Zusammenhang eine positive Wirkung zugeschrieben wird [EVANS et al., 2005].

Ebenso weisen Studien daraufhin, dass hohe Insulin-Konzentrationen im Körper zu einem erhöhten Tumorwachstum beitragen können. Im Rahmen einer Studie von LIPSCOMBE et al. aus dem Jahre 2008 stellte sich heraus, dass Brustkrebspatienten mit Diabetes signifikant öfter an den Folgen der

Krebserkrankung starben als Patienten, welche nicht an Diabetes litten [LIPSCOMBE et al., 2008].

In einer Studie von BAUR et al. aus dem Jahre 2010 hatten Diabetes Typ II Patienten, welche mit Insulin behandelt wurden, zwar kein erhöhtes Risiko an Krebs zu erkranken, bei Diabetes mellitus Typ II Patienten, die jedoch schon an Krebs erkrankt waren, konnte ein erhöhtes Sterberisiko nachgewiesen werden. Das kann einerseits daran liegen, dass Insulin möglicherweise das Krebswachstum beschleunigt, andererseits darin begründet sein, dass eine Insulintherapie über andere Mechanismen zu einer erhöhten Mortalität im Falle einer Krebserkrankung führt [BAUR et al., 2010].

Zusammenfassend lässt sich somit sagen, dass Diabetes mellitus-Patienten ein zweifach so hohes Risiko aufweisen an Krebs zu sterben und bei Patienten, die mit Insulin behandelt werden, sogar ein vierfach so hohes Mortalitätsrisiko besteht. Die erhöhte Sterblichkeit im Falle einer Krebserkrankung steht möglicherweise mit der Hyperinsulinämie und den Effekten, welche Insulin auf die Zellproliferation hat, in Beziehung [BAUR et al., 2010].

2.4. Die Art der Therapie und das erhöhte Krebsrisiko

(Alice Petschnig)

Während Patienten mit Diabetes mellitus Typ I unter einer generellen Zerstörung der β -Zellen des Pankreas leiden und sofort und für ein Leben lang eine Insulintherapie benötigen, leiden Patienten mit Diabetes Typ II entweder unter einem Insulinmangel oder an einer Insulinrestistenz, wobei die β -Zellen jedoch noch funktionstüchtig sind. Somit ist bei Diabetes Typ II eine Insulintherapie gar nicht oder eben erst in einer späteren Phase dieser Erkrankung notwendig [GIOVANNUCCI et al. 2010].

Metformin wird in der Behandlung des Diabetes mellitus Typ II am häufigsten eingesetzt, da es die Glukosespiegel im Blut reduziert und die Insulinausschüttung bremst [NATHAN et al., 2009]. Studien konnten nachweisen, dass Patienten, welche mit Metformin behandelt worden waren, ein verringertes Risiko aufwiesen, an Krebs zu erkranken [GIOVANNUCCI et al. 2010]. Metformin hemmt einerseits die Zellproliferation, andererseits hat es eine insulinsenkende Wirkung. Diese zwei Eigenschaften des Medikamentes verringern das Krebsrisiko [GIOVANNUCCI et al., 2010], indem Metformin zu einer Reduktion der Insulinresistenz und der Hyperinsulinämie führt [BAUR et al., 2010].

Thiazolidindionen sind Insulinrezeptor-Sensitizer welche die Insulinwirkung verstärken. Durch die Induktion der Apoptose und Zelldifferenzierung können sie zu einer Verringerung des Krebsrisikos beitragen [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Die Verwendung von **Sulfonylharnstoffen** kann zu einer Verringerung des HbA1c-Wertes beitragen, als Nebenwirkungen kommt es aber häufig zu Hypoglykämien und zu einer Gewichtszunahme. Es gibt des Weiteren auch Studien, welche den Sulfonylharnstoffen eine Erhöhung des Krebsrisikos zuschreiben [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Auch Insulin und Insulinanaloga werden mit einem erhöhten Krebsrisiko in Verbindung gebracht. Eine Insulintherapie führt zu einer Hyperinsulinämie, was bedeutet, dass Insulin in höheren Konzentrationen im Körper zirkuliert. Es werden aber noch weitere Studien über den Einfluss von Insulin auf das Krebsrisiko notwendig sein, denn bis heute ist nicht vollständig geklärt, ob das Insulin an sich oder doch die Dauer der Erkrankung eine größere Rolle in diesem Zusammenhang spielt [GIOVANNUCCI et al., 2010].

2.5. Buccal micronucleus cytome assay (BMCyt)

(Marlies Nitz)

Beim Mikrokerntest handelt es sich um eine nicht invasive Methode [BONASSI et al. 2009] um DNA Schäden, chromosomale Instabilitäten, Zelltod und das regenerative Potential der menschlichen Schleimhaut zu untersuchen [THOMAS et al., 2009]. Er wird aufgrund der vielfältigen Möglichkeiten seiner Einsetzung und der geringen Kosten des Verfahrens weltweit für in vivo- und in vitro-Studien zur Ermittlung von Chromosomenschäden verwendet. [IARMACOVAI et al. 2008].

Erstmalig wurde der Mikrokerntest 1983 an Mundschleimhautzellen angewendet [STICH et al., 1984], mittlerweile wird dieser Test in mehr als 40 Laboratorien in den verschiedensten Ländern durchgeführt, wobei die Anzahl der publizierten Artikel zu dieser Methode von Jahr zu Jahr ansteigt [PROIA et al., 2006].

Anzumerken ist jedoch, dass es zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch keine Standardisierung des Untersuchungsprotokolls gibt, sodass die Ergebnisse der einzelnen Laboratorien nicht immer miteinander verglichen werden können [HOLLAND. et al. 2008].

Der BMCyt wird im Rahmen molekular epidemiologischen Studien verwendet um Auswirkungen von:

- Ernährung
- Lifestyle Faktoren
- Bestrahlung
- Genotoxin-Belastung
- Genotypisierung von DNA Schäden
- chromosomale Fehltrennung
- Zelltod

zu untersuchen.

Anhand der Mundschleimhautzellen können auch noch andere Parameter wie Veränderungen der Telomerlänge, Aneuploidie und Chromosomenstrangbrüche untersucht werden [HOLLAND et al., 2008].

Faktoren, die die Anzahl der Mikrokerne in Mundschleimhautzellen beeinflussen können sind:

- Alter
- Geschlecht
- Genotyp
- Jahreszeit
- Ernährung
- Mundhygiene
- Gesundheit der Zähne
- Lebensstil
- Rauchen
- Alkohol
- andere Suchtmittel
- Krebs
- neurodegenerativen Erkrankungen [THOMAS et al., 2009; HOLLAND et al., 2008]

Die Mundschleimhaut ist eine natürliche Barriere gegenüber potentiellen Karzinogenen, welche wiederum bei der Entstehung reaktiver Produkte beteiligt sind. Mit Hilfe des BMCyt-Assays lassen sich frühe genotoxische Veränderungen aufdecken, die durch Inhalation oder Nahrungsaufnahme von potentiellen Karzinogenen auftreten können [SPIVACK et al., 2004].

90% aller Krebsarten sind epitheliale Ursprungs. Aus diesem Grund stellt es eine einzigartige Gelegenheit dar anhand der Mundschleimhautzellen das regenerative Potential von epitheliale Gewebe zu untersuchen [HOLLAND et al., 2008].

2.5.1. Die Entstehung von Mikrokernen (Marlies Nitz)

Die menschliche Mundschleimhaut setzt sich aus mehreren Schichten zusammen:

- Oberflächenschicht
- Stratum Spinosum
- Basalschicht
- Lamina Propria (das verbindende Gewebe)

Sie erhält sich durch laufende Zellerneuerung, wobei die neu gebildeten Zellen durch Mitose in der Basalschicht und in weiterer Folge in die Oberflächenschicht aufsteigen. In der Basalschicht wiederum sind die Stammzellen enthalten, welche DNA Schäden wie Mikrokerne während der Zellteilung entwickeln können [TOLBERT et al., 1992].

Mikrokerne entstehen aus ganzen Chromosomen oder aus Chromosomenfragmenten, welche nach der Anaphase gebildet werden [FENECH et al., 1999]. In der Telophase bleiben diese zurückgebliebenen Teile außerhalb des Tochterkernes [FALCK et al., 2002]. So entstehen in weiterer Folge Tochterzellen, die Mikrokerne aufweisen können, welche eventuell in das Stratum Spinosum und anschließend in die Oberflächenschicht differenzieren [TOLBERT et al., 1992].

Diese Biomarker für Genom-Schäden und Zelltod, welche in Abbildung 7 dargestellt sind, können sowohl in Mundschleimhautzellen, als auch in Lymphozyten festgestellt werden [FENECH et al., 1999]. Grundsätzlich lässt sich in diesem Zusammenhang sagen, dass die Mikrokernhäufigkeit (MN-Häufigkeit) bei 0,05-11,5 MN/1000 Zellen liegt, wobei die Mehrheit der Werte 0,5-2,5 MN/1000 Zellen beträgt [MACHADO-SANTINELLI et al., 1994].

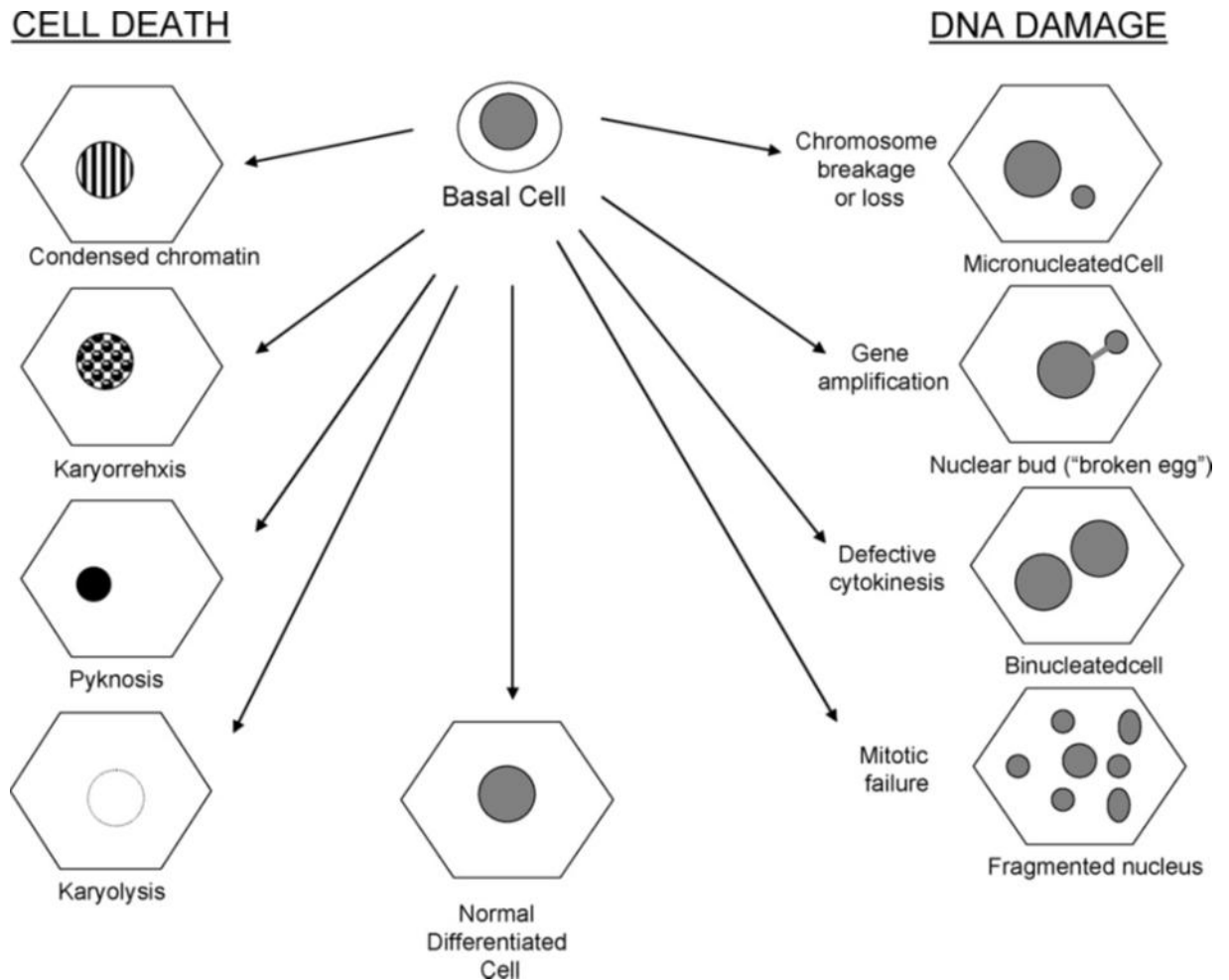


Abb.7: Entstehung verschiedener Anomalitäten [HOLLAND et al., 2008]

2.5.2. Die Anzahl der Mikrokerne (Alice Petschnig)

Effekte der Zellteilung in Bezug auf die Anzahl der MN:

Das Auftreten von MN lässt sich nur in Zellen nachweisen, welche die Zellteilung bereits vollzogen haben. Ein Zusammenhang zwischen der Anzahl an MN und der Anzahl an sich teilenden Basalzellen lässt sich noch nicht eindeutig belegen. Möglicherweise handelt es sich bei der Entstehung von MN um eine Reaktion auf Umwelteinflüsse oder auf genetische Defekte an

Kontrollpunkten im Zellzyklus (sogenannte „checkpoints“) [HOLLAND et al. 2008].

Viele Studien weisen darauf hin, dass das Alter sowie das Geschlecht wichtige Einflussfaktoren für die MN-Anzahl in Lymphozyten darstellen. Mittlerweile ist belegt, dass die Anzahl der MN in Lymphozyten bei Frauen höher ist, als bei Männern. Für beide Geschlechter gilt jedoch, dass sie mit dem Alter ansteigt [FENECH et al., 2005]. Studien, die an Schleimhautzellen durchgeführt wurden, konnten jedoch keinen Einfluss von Geschlecht und Alter auf die MN-Anzahl feststellen; diesbezüglich gibt es zum jetzigen Zeitpunkt noch widersprüchliche Aussagen [FENECH et al., 2005].

MOORE et al., 1996 zeigte anhand des BMCyt auf, dass Krebspatienten nach abgeschlossener Behandlung mit Photonen (Bestrahlung), eine 16-fach erhöhte MN-Anzahl aufwiesen.

Anhand der Mundschleimhaut kann auch das sogenannte Bloom Syndrom, eine seltene erbliche Krankheit, welche aus Chromosomeninstabilitäten resultiert, identifiziert werden [ROSIN et al., 1985].

Der BMCyt wird ebenso eingesetzt um eindeutige Unterschiede im sogenannten „cytomeprofile“ zwischen Personengruppen verschiedener Altersklassen im Zusammenhang mit Down Syndrom und Alzheimer zu detektieren [THOMAS et al., 2007a; THOMAS et al., 2007b]

Aussagekraft der MN-Anzahl in Mundschleimhautzellen in Bezug auf das Risiko von Krebs oder anderen chronischen Erkrankungen:

Mittlerweile ist durch Untersuchungen belegt, dass chromosomale Anomalien in menschlichen Lymphozyten in Zusammenhang mit dem gesamten Krebsrisiko stehen [HAGMAR et al., 2004]. Diese Annahmen wurden von BONASSI et al. (2006) bestätigt. Allerdings ist weiter unklar, ob dies auch für MN in Mundschleimhautzellen gilt. Des Weiteren ist nicht geklärt, ob das Krebsrisiko

nur für die Mundregion begrenzt ist oder ob dieses Risiko auf den gesamten Organismus ausweitbar ist [HOLLAND et al., 2008].

Zusammenhang der MN Anzahl in Mundschleimhautzellen mit der MN-Häufigkeit in anderen Zelltypen:

In Studien werden bereits mehrere Zelltypen von derselben Person verwendet um die MN-Anzahl zu bestimmen [SURRALLES et al., 1997], allerdings ist noch immer nicht geklärt, ob Ergebnisse von einem Zelltypen auf den anderen übertragen werden können. Vielmehr gilt es weiterhin zu erforschen, ob die MN-Häufigkeit in der Mundschleimhaut, ausschließlich durch den direkten Kontakt mit Karzinogenen in Zusammenhang steht oder ob diese auch durch den Blutkreislauf beeinflusst wird. Solange der betreffende Zusammenhang noch nicht ausreichend erforscht ist, müssen die einzelnen Zelltypen getrennt untersucht und bewertet werden [HOLLAND et al., 2008].

Weitere Untersuchungen die notwendig sind:

Um molekulare Abläufe zytogenetischer Veränderungen in Basalzellen und differenzierten Zellen, welche durch Umwelteinflüsse oder Ernährung ausgelöst werden, besser verstehen zu können, werden noch weitere Untersuchungen notwendig sein. Diese könnten dann Klarheit darüber bringen, ob auch andere Zellstrukturen, wie z.B. keratohyalinen Granula, zusammen mit den MN zunehmen [HOLLAND et al., 2008].

2.5.3. Diabetes mellitus und erhöhte Anzahl an MN (Marlies Nitz)

Übergewicht und das metabolische Syndrom führen zu einem erhöhten Risiko für Diabetes mellitus Typ II und für kardiovaskuläre Erkrankungen. Diese zwei Krankheiten zählt man zu den häufigsten Todesursachen in Industrieländern. Diabetes mellitus Typ II und kardiovaskuläre Erkrankungen lassen sich auf dieselben Risikofaktoren wie zum Beispiel Übergewicht, Insulinresistenz, Lipidoxidation und auf hohe Blutglukosewerte zurückführen [ADREASSI et al., 2011]. Beim sogenannten metabolischen Syndrom handelt es sich um eine Anhäufung von metabolischen Anomalitäten, welche in Tabelle 3 aufgelistet sind:

Tab.3: Kriterien des Metabolischen Syndroms [IDF, 2011]

	Männer	Frauen
abdominales Übergewicht (Taillenumfang)	>94 cm	>80 cm
Hypertriglyceridämie	≥150 mg/dl	
reduziertes HDL Cholesterin	<40 mg/dl	<50 mg/dl
Hypertonie	≥130/85 mmHg	
Hyperglycämie	≥100 mg/dl	

Komplikationen, welche auf Diabetes mellitus zurückzuführen sind, entstehen durch eine chronische Erhöhung der Blutglukose sowie durch eine erhöhte Produktion von ROS [ADREASSI et al., 2011].

In den letzten Jahren wurde oxidativer Stress immer häufiger mit der Erkrankung Diabetes in Zusammenhang gebracht. Aus diesem Grund wurde die Forschung nach Markern für oxidativen Stress intensiviert [BOTTO et al., 2002].

Es sind zwar schon mehrere Studien vorhanden, welche sich mit der Entstehung von MN in Lymphozyten und dem Zusammenhang mit Diabetes mellitus Typ II beschäftigen und auch eine signifikant erhöhte Anzahl an MN im Falle von Diabetes mellitus belegen, trotz alledem reicht die gegenwärtige Datenlage jedoch noch nicht aus, um konkrete Zusammenhänge festzulegen [MARTINEZ PEREZ et al., 2007].

In einer Studie von MARTINEZ-PEREZ et al. aus dem Jahre 2007 wurden 25 Personen, von welchen 15 an Diabetes mellitus erkrankt waren, auf die Anzahl der MN in Lymphozyten untersucht. Bei denjenigen Personen, die an Diabetes mellitus Typ II litten, konnten höhere Werte an MN als bei gesunde Probanden nachgewiesen werden [MARTINEZ-PEREZ et al., 2007].

Dass Diabetes wahrscheinlich zu einer erhöhten Anzahl an MN führt, lässt sich durch unterschiedliche Ursachen erklären:

- durch den erhöhten oxidativen Stress, welcher aufgrund einer Anreicherung von ROS entsteht
- durch die sogenannte „downregulation“ von Insulin
- durch Medikamente, welche in der Therapie von Diabetes mellitus Typ II eingesetzt werden [MARTINEZ-PEREZ et al., 2007]

Metformin kann zu einer verringerten Versorgung mit Vitamin B12 und dadurch zu einer Erhöhung von Homocystein führen [FENECH et al., 1999].

Wie anhand der Studie von ZUNIGA GONZALEZ et al., 2007 belegt wurde, führt eine geringe Versorgung von Vitamin B12 zu einer Erhöhung der Anzahl an MN. Verschiedene Studien haben wiederum bestätigt, dass sich bei Diabetes mellitus Typ II-Patienten höhere Werte an DNA-Schäden und eine verringerte Wirksamkeit der DNA-Reparatur nachweisen lassen und dass im Vergleich ein erhöhtes Krebsrisiko besteht [MARINEZ-PEREZ et al., 2007].

2.5.4. Krebserkrankungen und die erhöhte Anzahl an MN (Alice Petschnig)

MN sowie alle anderen Anomalitäten, welche beim Kleinkerntest ausgewertet werden, sind Biomarker zur Erkennung von Schädigungen an Chromosomen [BONASSI et al., 2011].

Bei mehreren Krankheiten, darunter fällt auch Krebs, sind Chromosomenschäden um ein Vielfaches erhöht. Aufgrund dessen haben sich schon mehrere Studien mit der Anzahl von MN und dem Zusammenhang mit der Entstehung von Krebs beschäftigt [BONASSI et al., 2011].

Die Krankheit Krebs stellt sich als ein mehrstufiger Prozess dar, der durch mehrere genetische Veränderungen hervorgerufen wird. Die Risikoabschätzung für diese Erkrankung reicht von der klassischen Epidemiologie bis hin zur individuellen Belastung durch Kanzerogene. Der Kleinkerntest wird in diesem Rahmen aufgrund seiner Vorteile immer öfter für die Abschätzung beziehungsweise für die Beurteilung eines Krebsrisikos verwendet [El-ZEIN et al., 2011].

MN sowie andere Anomalitäten wie Broken Eggs und Binucleated Cells treten vermehrt bei chromosomalen Instabilitäten, welche auch bei der Entstehung von Krebs zu beobachten sind, auf. Mehrere Studien ergaben, dass vor allem die Zahl an MN bei Krebspatienten erhöht ist [BONASSI et al., 2011]. Die Hypothese, dass es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl der MN und der Entstehung von Krebs gibt, stützt sich auf folgende Beobachtungen:

- 1.** Unbehandelte Krebspatienten weisen erhöhte Werte an MN auf [IARMACOVAI et al., 2008].
- 2.** Es gibt eine Korrelation zwischen der Anzahl der MN und der Aufnahme von gewissen Mikronährstoffen, welche mit einem verringerten Krebsrisiko in Zusammenhang stehen [IARMACOVAI et al., 2008].

- 3.** Es besteht ein Zusammenhang zwischen Stoffen, die zu einer Erhöhung der MN-Anzahl führen und einer erhöhten Kanzerogenität [BONASSI et al., 2007].

In einer Studie von IARMARCOVAI et al. aus dem Jahr 2008 wurde die Anzahl der MN in Lymphozyten von Krebspatienten mit denen von gesunden Probanden verglichen. Bei allen Krebspatienten war eine höhere Anzahl an MN zu verzeichnen, was eine größere Prädisposition in Bezug auf Schädigungen der Chromosomen widerspiegelt.

Um daraus einen kausalen Zusammenhang ableiten zu können werden allerdings, wie bereits erwähnt, noch weitere Studien benötigt, denn es könnte auch sein, dass ein erhöhtes Level an MN die Konsequenz des Erkrankungsstatus selbst darstellt [IARMACOVAI et al., 2008].

2.5.5. Einfluss von Ernährungsinterventionen auf das Auftreten von MN (Alice Petschnig)

Die Versorgung mit Mikronährstoffen spielt einerseits in der Entwicklung und andererseits in der Vorbeugung von Chromosomenschäden eine bedeutende Rolle.

Eine ausreichende Versorgung mit Mikronährstoffen ist wichtig in der Prävention von Krebs und anderer Krankheiten [FENECH et al., 2005]. Da MN als Biomarker für Chromosomenschäden verwendet werden und gewisse Mikronährstoffe eine positive Wirkung auf Chromosomenschäden ausüben, wird in Tabelle 4 auf die Ergebnisse mehrerer Studien eingegangen [THOMAS et al., 2011].

Tab.4: Einfluss verschiedener Ernährungsinterventionen und die Häufigkeit von MN [THOMAS et al., 2011]

Mikronährstoff	Supplementation	Art und Dauer der Intervention	Anzahl und Alter der Probanden	Effekt auf die Anzahl der MN
B Vitamine	Aufnahmen von Folat in verschiedenen Dosen (56,11, 286, 516 µg/d)	Intervention über 3 Wochen	N= 9, Frauen im Alter zwischen 49-63 Jahren	signifikante Reduktion um 57%
	5mg Folat 3 mal täglich	kontrollierte Intervention über 30 Tage	N= 159 (88 Frauen, 71 Männer) im Alter von 35,16 ± 12,8 Jahren	signifikante Reduktion um 73%
Einzelne Antioxidantien	alphaTocopherol (400 IU) 2 mal täglich	Intervention über 24 Wochen	N= 24 (11 Frauen, 13 Männer) im Alter zwischen 29-83 Jahren	signifikante Reduktion um 64%

	β-Carotin (180mg/Woche); Vitamin A (150000 IU/Woche)	Placebo- kontrollierte Intervention über 9 Wochen	N= 89	signifikante Reduktion um 61% für β-Carotin; signifikante Reduktion für Vitamin A um 58%
	β-Carotin (15mg/4 mal pro Tag)	Intervention über 3 Monate	N= 20 (19 Frauen, 1 Mann) im Alter zwischen 31-61 Jahren	signifikante Reduktion um 78%
	β-Carotin (180mg/Woche)	Placebo- kontrollierte Intervention über 10 Wochen	N= 23	signifikante Reduktion
Duale Antioxidantien	1. β-Carotin (180 mg/Woche); 2. β-Carotin (180mg/Woche) & Vitamin A (100000 IU/Woche)	Placebo- kontrollierte Intervention über 6 Monate	N= 130, in Alter von 48,8 ± 12,9 Jahren	signifikante Reduktion um 14,8 für β-Carotin; signifikante Reduktion für β- Carotin & Vitamin A um 27,5%
Multiple Antioxidantien	Retinol (15mg/Woche); Riboflavin (200mg/Woche); Zink (50mg/Woche)	randomisierte doppel-blinde Intervention über 1 Jahr	N= 170	keine signifikanten Unterschiede

2.5.5.1. Folsäure, Vitamin B12 und Homocystein

(Alice Petschnig)

Folat und Vitamin B12 spielen im DNA-Metabolismus und in dessen Erhaltung eine wichtige Rolle [FENECH et al., 2001].

Folat wird für die Synthese von Deoxyuridinmonophosphate (dUMP) benötigt. Ein Mangel an Folat würde in diesem Zusammenhang dazu führen, dass dUMP sich anreichert, wodurch in der Folge Uracil anstatt Thymin in die DNA eingebaut wird [ETO und KRUMDIECK, 1986]. Ein Mangel an Vitamin B12 hat ähnliche Effekte, wodurch sich die Wahrscheinlichkeit von Chromosomenbrüchen als Konsequenz einer Unterversorgung dieser beiden Mikronährstoffe erhöht [ZHANG et al., 2003].

- **Ergebnisse in Lymphozyten**

In einer Studie von FENECH et al. aus dem Jahr 1997, bei der Männer im Alter zwischen 50 und 70 Jahren teilnahmen, hatten diejenigen Personen, welche normale Folat- und Vitamin B12-Werte, jedoch erhöhte Homocystein-Werte ($>10\mu\text{mol/l}$) aufwiesen, eine höhere Anzahl an MN als Personen, bei denen das Homocystein ebenfalls im Normalbereich war.

Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass Homocystein einen wichtigen Faktor im Zusammenhang mit erhöhten Chromosomenschäden darstellt.

Die Studien von FENECH et al. aus den Jahren 1998 und 1999 bestätigen, dass die MN Anzahl in Lymphozyten positiv mit Homocystein korreliert.

- **Ergebnisse in Schleimhautzellen**

Eine Studie von TITENKO-HOLLAND et al. aus dem Jahr 1998 ergab, dass eine tägliche Supplementation mit 516 µg Folat, zu einer Verringerung der MN Anzahl in Schleimhautzellen bei neun postmenopausalen Frauen führt. Die Studie von ZUNIGA-GONZALEZ et al. aus 2007, welche sich ebenfalls mit der Supplementation von Folat und deren Auswirkung auf die Anzahl der MN beschäftigte, bestätigt die Ergebnisse von Titenko-Holland. In dieser Studie wurden zwischen drei verschiedenen Gruppen unterschieden:

- Gesunde Probanden (n= 81)
- Patienten mit Diabetes mellitus (n= 48)
- Patienten mit Diabetes mellitus, welchen drei Mal am Tag eine Supplementation von 5mg Folsäure verabreicht wurde (n= 30)

Die Ergebnisse zeigen, dass alle Diabetes-Patienten höhere Werte an MN aufweisen, wenn man diese mit gesunden Probanden vergleicht, und dass bei den 30 Diabetes-Patienten, welche Folsäure erhielten, nach 30 Tagen eine signifikante Reduktion der Anzahl von MN festzustellen war [ZUNIGA-GONZALEZ et al. 2007].

2.5.5.2. Vitamin C und Vitamin E

(Alice Petschnig)

- **Ergebnisse in Lymphozyten**

Vitamin C kann sowohl antioxidativ als auch prooxidativ wirken [SATO und SAKAGAMI, 1997]. Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt beschäftigten sich nur wenige Studien mit den Auswirkungen von Vitamin C auf das Vorkommen von MN.

CROTT untersuchte die Auswirkungen von Vitamin C auf die Entstehung von MN, kam aber zu keinem positiven Ergebnis [CROTT et al., 1999].

SCHNEIDER et al. befasste sich im Jahre 2001 im Rahmen einer Supplementation von Vitamin C (1000mg) und Vitamin E (335mg) mit den Unterschieden zwischen Rauchern und Nichtrauchern im Zusammenhang mit der Anzahl der MN. Die Anzahl an MN war bei beiden Gruppen nach der Supplementation signifikant geringer.

Auch FENECH et al. untersuchte 1997 die Auswirkungen von Vitamin E (10 mg pro Tag) auf das Auftreten von MN bei 60 männlichen freiwilligen Probanden. Es gab zwar eine signifikante Verringerung der MN Anzahl um 32%, nur könnte im Rahmen dieser Studie nicht genau beurteilt werden, ob das Sojaöl, welches als Fettträger verwendet worden war, ebenfalls Auswirkungen auf das Auftreten von MN hat.

- **Ergebnisse in Schleimhautzellen**

Auch in Schleimhautzellen wurde der Effekt von Vitamin E auf das Auftreten von MN untersucht. Durch eine Supplementation mit Vitamin E, zwei Mal pro Tag und jeweils 400 IU Vitamin E, kam es zu einer Verringerung der MN-Anzahl [BENNER et al., 1994], wobei diese Reduktion auch als Ergebnis einer Modulation des DNA-Reparatursystems gewertet werden kann, bei welcher durch die Supplementation von Vitamin E die Entfernung von geschädigter DNA effizienter vor sich geht [KONOPACKA et al., 1998].

2.5.5.3. Vitamin A und β -Carotin (Alice Petschnig)

STICH et al. 1984 und STICH et al., 1988 verwendete den Kleinkerntest um die potenziellen positiven Effekte von Vitamin A und β -Carotin zu untersuchen. Die Ergebnisse ergaben einen hemmenden Effekt beider Mikronährstoffe auf die Entstehung von MN in Mundschleimhautzellen.

Bei einer dieser beiden Studien wurden auch die Effekte von Vitamin A und β -Carotin in Lymphozyten untersucht. STICH et al., (1988) kamen zu dem Schluss, dass es keine großen Unterschiede bei der MN Anzahl in Lymphozyten in Vergleich zu den Mundschleimhautzellen gibt.

3.MATERIAL UND METHODEN (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

3.1. Studiendesign (Marlies Nitz)

Im Zuge dieser Diplomarbeit wird ein Teilbereich der DIAPLANT-Studie behandelt. In der DIAPLANT-Studie wurden zahlreiche Parameter untersucht, wobei nicht auf alle in dieser Arbeit näher eingegangen wird.

Diese Diplomarbeit beinhaltet die Auswertung von Chromosomen-Schäden in Mundschleimhautzellen anhand des Mikrokerntests (buccal micronucleus cytome assay).

Bei der DIAPLANT-Studie handelt es sich um eine prospektive, epidemiologische, randomisierte Interventionsstudie. Sie wurde durch die Ethikkommission der Stadt Wien genehmigt. Projektpartner sind unter anderem die Medizinische Universität in Bratislava und die Wiener Gebietskrankenkasse (WGKK).

Interessenten wurden zu Informationsveranstaltungen eingeladen, in denen der Studienablauf allgemein erklärt wurde. Weiters wurde allen Teilnehmern der Nutzen einer gesunden Ernährung näher gebracht.

Die teilnehmenden Probanden wurden in vier Gruppen, basierend auf ihrem Gesundheitsstatus (IDDM, NIDDM oder Gesund) eingeteilt. Während der Studie stellte sich heraus, dass nicht alle Probanden, die laut eigenen Angaben „gesund“ waren, auch normale Nüchternblutglukosespiegel hatten. So entstand die Gruppe der impairedfastingglucose (IFG)- Probanden.

Der gesamte Studienzeitraum für einen Probanden betrug 16 Wochen, 8 Wochen davon Intervention, in denen die Probanden täglich 25ml Interventionsöl und 300g Tiefkühlgemüse zu sich nahmen. Die letzten 8 Wochen erhielten sie keine Intervention mehr. Es gab vier Zeitpunkte, zu denen Blutproben, Mundschleimhautabstrich, anthropometrische Messungen (BMI,

Bauchumfang (WHR)), Blutdruckmessungen durchgeführt und Fragebögen (24-h-recall, Food Frequency Fragebogen (FFQ), Insulinprotokoll, Fasting Plasma Glucose Protokoll (FPG), Quality of Life Questionnaire (QLQ)) ausgefüllt und abgegeben wurden.

Die Probanden der Interventionsgruppe wurden darauf aufmerksam gemacht ein Ernährungstagebuch zu führen.

Die Diabetiker wurden gebeten ein Blutzuckerprofil und diejenigen, die Insulin spritzten, täglich ein Spritzschema und Insulinprotokoll auszufüllen.

Gesamte Zeitrahmen:

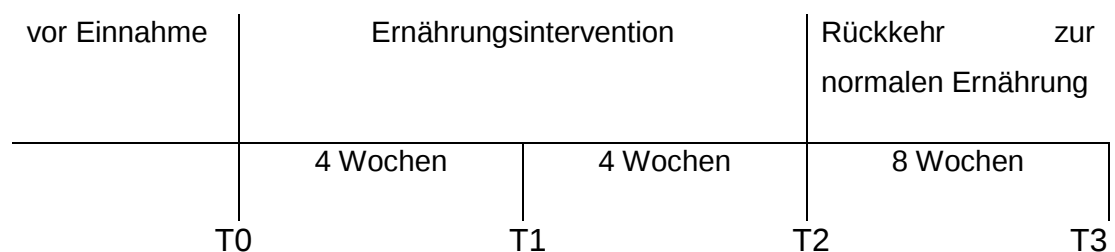


Abb.8: Zeitplan der Studie

Einteilung der Teilnehmer:

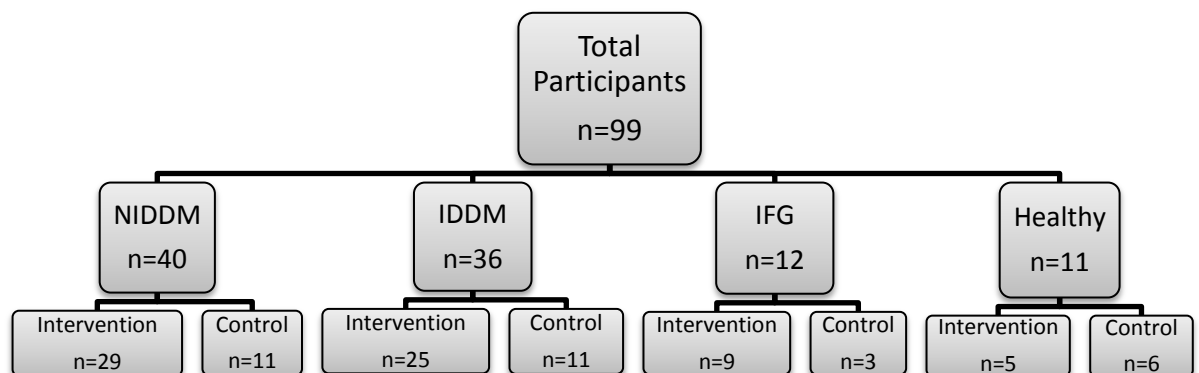


Abb.9: Einteilung der Teilnehmer

Auflistung des zur Verfügung gestellten Gemüses durch IgloAustria:

- Spinat passiert
- Karfiol Broccoli DUO
- Blattspinat Zwutschgerl
- Buntes Gemüse Trio
- Junge Fisolen
- Junges Sommergemüse
- Kochsalat mit Erbsen
- Cremespinat mit Mini-Rösti
- Junge Erbsen
- Zarte Mischung
- Broccoli
- Suppengemüse
- Kohlsprossen
- Röstgemüse Korsika
- Zarte Sojabohnen
- Röstgemüse Gärtnerin

Charakteristika des Interventionsöls:

In der Tabelle 5 ist die Fettsäurezusammensetzung und in Tabelle 6 der Tocopherolgehalt des Interventionsöls dargestellt:

Tab.5: Fettsäurezusammensetzung

% der Gesamtfettsäuren	C16:0	C18:0	C18:1n9c	c18:1n7c	c18:2n6c	c18:3n3
Mittelwert	7,3 ± 0,09	2,1 ± 0,07	16,4 ± 0,99	0,95 ± 0,03	61,8 ± 1,00	11,5 ± 0,43

Tab.6: Tocopherolgehalt

mg/100 g Öl	γ-Tocopherol	α-Tocopherol
Mittelwert	33,0±1,82	2,67±0,14

Probandenrekrutierung

Die Probandenrekrutierung erfolgte durch:

- Ärzte der Diabetesambulanz der WGKK
- Vortrag am „Diabetestag“
- Beilage in „Diabetes-Info“, einer Zeitschrift der Österreichischen Diabetikervereinigung (ÖDV)

Ärzte des Gesundheitszentrums Wien Süd luden interessierte Probanden, nach Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien zu einer Informationsveranstaltung ein.

Am „Diabetestag“ wurden Personen auf die Studie aufmerksam gemacht. Geeignete Personen, unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien, wurden in weiterer Folge zu Informationsveranstaltungen eingeladen. Dasselbe Verfahren geschah mit interessierten Personen, die durch die Beilage in der Zeitschrift „Diabetes-Info“ auf die Studie aufmerksam wurden.

Informationsveranstaltungen:

- 10 Veranstaltungen im Gesundheitszentrum Wien Süd
- 2 Veranstaltungen bei der ÖDV
- Insgesamt besuchten 130 Personen die Informationsveranstaltungen
- 21 Personen wurden zusätzlich telefonisch informiert

120 Personen unterschrieben die Einverständniserklärung zur Teilnahme, 111 Personen starteten in die Studie wovon 99 Personen die Studie auch beendeten.

Kriterien der Probandenauswahl

Einschlusskriterien:

- Männer und Frauen mit Typ II Diabetes
40 – 80 Jahre
Behandlung mit oralen Antidiabetika oder Insulin
- seit mind. 4 Wochen vor Studienbeginn:
 - Gleichbleibende Medikation betreffend Glucose-, Fett- und Harnsäure-STW
 - Gleichbleibende Essgewohnheiten und körperliche Betätigung
 - Konstantes Körpergewicht
- $HbA1c \leq 9,5\%$ (Schwankungen $< 10\%$)
- Gesamtcholesterin $< 300\text{mg/dl}$ (mit oder ohne Medikation)
- Serum-Triglyceride $< 500\text{mg/dl}$ (mit oder ohne Medikation)
- Kreatinin $< 2,5\text{mg/dl}$
- Medikation der Nicht-Insulin Gruppe: Metformin, DPP-IV-Hemmer, Sulfonylharnstoffe, GLP-1 Mimetika
- Medikation der Insulin Gruppe: Insulin oder Insulin + orale Antidiabetika

Ausschlusskriterien

- Typ-I-Diabetiker
- Patienten jünger als 40 und älter als 80 Jahre
- Raucher
- Schwangere und stillende Frauen
- Teilnahme an anderen klinischen Studien
- Neue Medikation oder Änderung der Medikation bzgl. Glukose-, Fett- und Harnsäure-STW 4 Wochen vor Studienbeginn
- Einnahme von Fischölkapseln und anderen Fettsäuren
- Während oder vor Beginn der Studie Absichten zur Änderung
 - der Ernährungsgewohnheiten,
 - der körperlichen Aktivität
 - des Körpergewichts
- Kardiovaskuläre Erkrankungen, definiert nach NYHA-Klassifikation $\geq$ III
- Lebererkrankungen (Transaminase-Grenzwert $\geq$ 2,5-fach erhöht)
- Chronische Niereninsuffizienz (Dialysepatient oder Kreatinin $> 2,5$ mg/dl)
- Organtransplantationen
- Gastrointestinale Malabsorption (Pankreasinsuffizienz, Steatorrhoe, Kurzdarmsyndrom)
- Systemische Steroide
- Drogen- und Alkoholmissbrauch (≥ 80 g/d); Methadoneinnahme während der letzten 2 Jahre
- Krebs, HIV
- Glitazon-Einnahme

In dieser Diplomarbeit wurden die Ergebnisse von 72 Proben der ersten (T0) und dritten (T2) Mundschleimhautabnahme herangezogen, bearbeitet und ausgewertet.

3.2. Buccal micronucleus cytome assay

(Marlies Nitz, Alice Petschnig)

3.2.1. Verwendete Materialien (Marlies Nitz)

Tab.7: verwendete Materialien

Name	Einheit	Hersteller
Zahnbürste		
Verschließbare Plastikröhrchen	50 ml	Sarstedt
Zentrifugenröhrchen	1,5 ml	
Sterile Pipette	10 ml	chase
Objektträger und Deckgläser		HD Schientific
Färbewanne		Biolab

3.2.2. Verwendete Reagenzien (Marlies Nitz)

Tab.8: verwendete Reagenzien

Name	Einheit	Hersteller
physiologische Kochsalzlösung		
Ethanol		Ajax Finechem
destilliertes Wasser		
Salzsäure	5 M	Merck
Ethanol	20%	
Ethanol	50%	
Schiff's Base		Sigma
Light Green	0,20%	Gurr's
DePex		Merck
Methanol	80%	

3.2.3. Probenaufbereitung (Marlies Nitz)

3.2.3.1. Schleimhautzellengewinnung (Marlies Nitz)

Vor der Schleimhautzellengewinnung wurden die Probanden aufgefordert sich 2-mal den Mund mit Leitungswasser auszuwaschen um übermäßige Ablagerungen zu entfernen.

Für jeden Probanden wurde vorher schon ein wiederverschließbares Röhrchen mit 10ml Kochsalzlösung vorbereitet. Das Röhrchen wurde mit dem Code des jeweiligen Probanden und Abnahmezeitpunkt markiert.

Um die Schleimhautzellen zu isolieren, wurden die Probanden aufgefordert, die Zahnbürste an der Wangeninnenseite anzusetzen und 10-mal im Kreis zu drehen. Dabei sollten sie Acht geben, nicht zu viel Druck auszuüben, damit es nicht zu Blutungen kommt, welche die Proben verunreinigen würden. Anschließend wurde der Zahnbürstenkopf mit den gesammelten Schleimhautzellen in der Kochsalzlösung abgewaschen und die Schleimhautzellen von der Zahnbürste getrennt. Dieser Vorgang wurde auf jeder Seite 2-mal wiederholt.

Anschließend wurde das Röhrchen verschlossen und bis zur Weiterbearbeitung bei 4 °C gelagert.

3.2.3.2. Waschung und Isolierung der Schleimhautzellen (Marlies Nitz)

Die gesammelten Schleimhautzellen wurden in Zentrifugenröhrchen überführt und für 10 min bei 581g und Raumtemperatur zentrifugiert.

Anschließend wurde der Überstand mit einer Pipette abgenommen, sodass ca. 1ml der Zellsuspension überblieben. Dieser wurde mit 5ml Kochsalzlösung suspendiert.

Es folgte eine zweite Zentrifugation für 10 min bei 581g und Raumtemperatur.

Durch die Kochsalzlösung werden Bakterien und Zellablagerungen entfernt und endogene DNA, welche in der Mundschleimhaut präsent ist inaktiviert.

Der Überstand wurde abgenommen und mit 5ml frischer Kochsalzlösung resuspendiert. Anschließend wurde die Zellsuspension für 2-3 min homogenisiert.

Die letzte Zentrifugation wurde wieder für 10 min bei 581g Raumtemperatur durchgeführt [THOMAS et al., 2009].

3.2.3.3. Fixierung der Schleimhautzellen (Marlies Nitz)

Der Überstand wurde abgenommen und die Probe mit 2-3ml 80%igen Methanol versetzt, je nach Anzahl der Mundschleimhautzellen. Die Proben wurden bei -20°C für 20 Minuten zur Fixierung der Zellen aufbewahrt.

Mit einer Pipette wurden 120-150µl von der Zellsuspension auf vorbereitete und codierte Objektträger aufgebracht und für 10 min an der Luft getrocknet [THOMAS et al., 2009].

3.2.3.4. Färbung (Marlies Nitz)

Die Objektträger mit den fixierten Zellen wurden in Färbewannen eingesetzt und mit 50%igen (vol/vol) und 20%igen (vol/vol) Ethanol aufgefüllt. Nach 1 min wurden die Objektträger mit destilliertem Wasser gewaschen.

Die Objektträger wurden wieder in die Färbewannen eingesetzt und mit 5 M Salzsäure (HCl) für 30 min versetzt. Anschließend wurden sie unter fließendem Wasser gewaschen.

Um die Wirksamkeit der HCl Behandlung zu überprüfen wurde als negative Kontrollprobe ein Objektträger in destilliertem Wasser anstelle in 5 M HCl angesetzt.

Im nächsten Schritt wurden die Objektträger mit Schiff'scher Base versetzt und für 60 min in Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert.

Nach 1 Stunde wurde die Schiff'sche Base entfernt und die Objektträger 5 min lang zuerst mit Leitungswasser und anschließend mit destilliertem Wasser gewaschen.

Unter genauer Zeitmessung wurden die Objektträger in den Färbewannen mit 0,2%igen (wt/vol) Light Green versetzt. Nach 30 sec wurden sie mit destilliertem Wasser gewaschen.

Um die Restfeuchte zu entfernen wurden die Objektträger senkrecht aufgestellt. Dabei ist zu beachten, dass kein Druck auf die Oberfläche ausgeübt wird, um keine Zellen zu verschieben oder zu verletzen [THOMAS et al., 2009].

Um die Objektträger vollständig zu trocknen wurden sie über Nacht unter die Abzugshaube gelegt.

3.2.3.5. Eindeckeln (Marlies Nitz)

Auf die getrockneten Objektträger wurden mit einem Spatel mehrere Tropfen Kleber (DePex) aufgetragen und mit einem Deckglas bedeckt. Durch leichte Druckausübung wurden Luftblasen beseitigt.

Mithilfe eines Papiertuchs wurde der überflüssige, austretende Kleber an den Seiten und Ecken weggewischt. Dabei war zu beachten, dass kein Kleber auf die Oberfläche des Deckglases und die Codierung kam. Die fertigen Objektträger wurden auf einer Unterlage unter der Abzugshaube nebeneinandergereiht und über Nacht getrocknet.

Nach der Trocknung konnten sie in Boxen aufbewahrt und bei Raumtemperatur gelagert werden.

3.2.3.6. Kontrolle unter dem Mikroskop (Marlies Nitz)

Durch die Färbung wurden die Zellkerne und MN rötlich (Magentarot) und das Zytoplasma hellblau/grün gefärbt. In der Kontrollprobe dürfte die Färbung anhand der Schiff'schen Base nicht angeschlagen haben und somit keine rötliche Färbung sichtbar sein.

3.2.4. Zählkriterien (Alice Petschnig)

Die Zellen wurden unter einem Lichtmikroskop mit einem 40er Objektiv (400-fache Vergrößerung) ausgezählt. Bei nicht eindeutiger Differenzierung der Zellen wurde mit Immersionsöl und einem 100er Objektiv gearbeitet.

3.2.4.1. Zelltypen (Alice Petschnig)

Differenzierte Zellen: (Abb. 10a)

- Eckiger als Basalzellen
- Gleichmäßig gefärbter runder Zellkern
- Geringeres Zellkern : Zytoplasma Verhältnis
- Enthält keine anderen DNA-Strukturen, außer dem Zellkern [THOMAS et al., 2009]

Zellen mit MN: (Abb.10b +c)

- Beinhalten Zellkern und MN
- MN sind rund oder oval, mit derselben intensiven Färbung wie der Zellkern
- Größe des MN: 1/3 bis 1/16 des Zellkerns
- In einer Zelle können 1 oder mehrere MN vorkommen
- MN müssen vom Zellkern getrennt im Zytoplasma vorliegen
- MN können in Basalzellen oder Differenzierten Zellen vorkommen
- MN sind indikativ für Chromosomenverlust oder Fragmentation, während der Zellteilung
- Häufigkeit: in 1000 Zellen können 0,5-2,5 Mikrokerne vorkommen [HOLLAND et al., 2008]

Broken egg (BE): (Abb. 10d)

- Der Zellkern hat eine Ausbuchtung
- Das BE ist mit dem Zellkern über eine Brücke verbunden
- BE hat dieselbe Morphologie und Färbung wie der Zellkern
- Die Größe des BE reicht von der Hälfte bis zu einem Viertel des Zellkerns [NERSESYAN, 2005]

Binucleated cell (BNC): (Abb. 10e)

- Beinhaltet 2 Zellkerne, welche dieselbe Größe, Färbung und Intensität aufweisen
- Die Zellkerne können sich berühren oder sind sehr nahe beieinander [SHI et al., 2005]
- Die Bedeutung dieser Zellen ist noch nicht bekannt. Man nimmt an, dass es sich um einen Defekt bei der Zytokinese handelt. Es könnte sich um einen Biomarker für Aneuploidie handeln, welche bei Personen mit Down Syndrom vermehrt beobachtet wurde [THOMAS et al., 2007a; THOMAS et al., 2007b]

Condensed Chromatin (CC): (Abb. 10f)

- Der Zellkern weist auf Grund des verdichteten Chromatins ein gestreiftes Muster auf
- Gewisse Bereiche des Zellkerns sind intensiver gefärbt als andere [STRANGE et al., 1992]
- Weist der Zellkern eine starke Fragmentierung auf, so könnte dies eine Vorstufe für den Zelltod sein [WYLLIE et al., 1981]
- Verdichtetes Chromatin muss aber nicht den Zelltod zur Folge haben
- Die Zellmembran ist noch intakt [THOMAS et al., 2009]

Karyorrhectic Cell (KR): (Abb. 10g)

- Zellkernmembran ist nicht mehr intakt
- Zellkerninhalt kann ins Zytoplasma übergehen und wie MN aussehen, wobei es nicht mit MN verwechselt werden darf
- Extensiveres verdichtetes Chromatin, nicht mehr gestreiftes sondern gepunktetes Muster [CHEN et al., 1981]
- Man nimmt an, dass es eine späte Vorstufe zur Apoptose ist, aber es muss nicht zum Zelltod führen [THOMAS et al., 2009]

Pyknotic Cell (PC): (Abb. 10h)

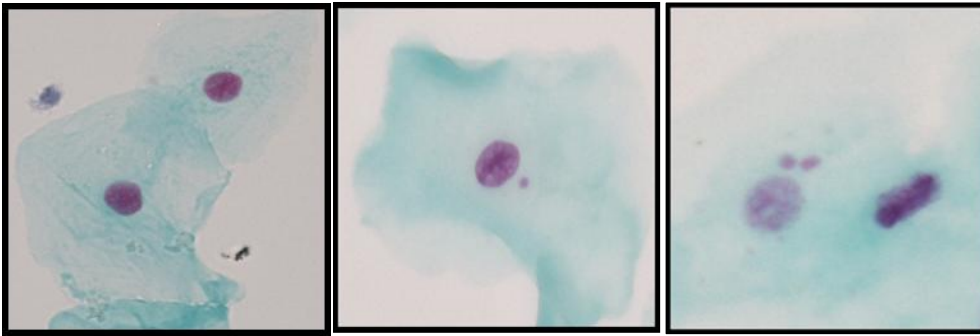
- Die Zelle beinhaltet einen kleinen geschrumpften Zellkern, in dem das nukleare Material in einer höheren Dichte vorliegt [WYLLIE et al., 1981]
- Intakte Zellkernmembran
- Intensivere Färbung
- Der Durchmesser des Zellkern beträgt 1/3 bis 2/3 eines normalen Zellkerns
- Die biologische Bedeutung ist noch unbekannt. Man nimmt an, dass es sich um einen alternativen Mechanismus der Vorstufe zur Apoptose handelt [HOLLAND et al., 2008]

Karyolytic Cell (KL): (Abb. 10i)

- Der Zellkern ist an DNA verarmt
- Geringere Färbung und erscheint deshalb wie eine "Ghost Zelle" [WHYLLIE et al., 1981]
- Die Zelle macht den Anschein, dass sie keinen Zellkern beinhaltet
- Repräsentiert das letzte Stadium der Apoptose [THOMAS et al., 2009]

Bei der Auswertung der Zellen wurde CC und KR in eine Kategorie zusammengelegt, da die unterschiedliche Charakterisierung oft schwer zu erkennen ist und die Wissenschaftler selbst noch geteilter Meinung sind.

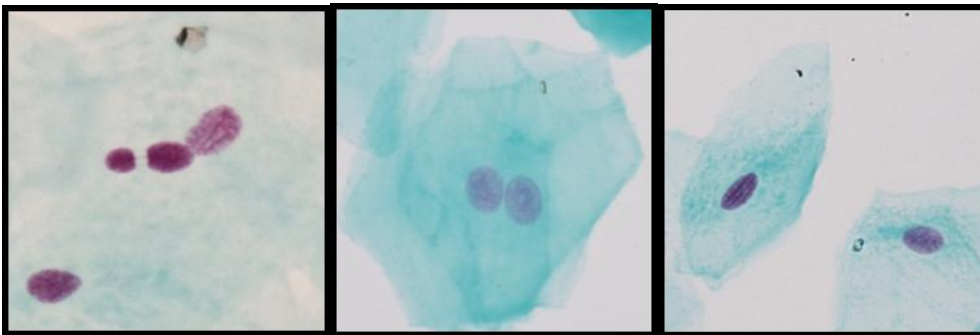
3.2.4.2. Bilder der verschiedenen Zelltypen (Alice Petschnig)



a)

b)

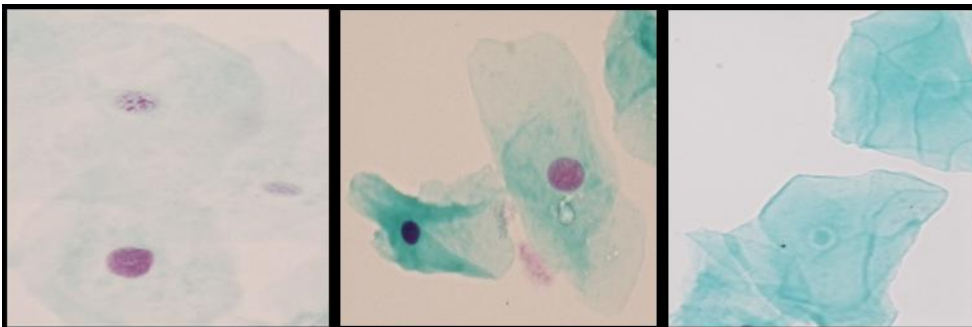
c)



d)

e)

f)



g)

h)

i)

Abb.10: Bilder der verschiedenen Zelltypen

a) Differenzierte Zelle	f) CC
b) Differenzierte Zelle mit 1 MN	g) KC
c) Differenzierte Zelle mit 2 MN	h) PC
d) BE	i) KC
e) BNC	

3.3. Statistische Auswertung (Alice Petschnig)

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte anhand von SPSS Statistics 17.0.

Um Zusammenhänge (Korrelationen) zwischen den Variablen zu ermitteln wurden folgende Tests angewendet:

- Pearson bei Normalverteilung der Daten
- Spearman bei nicht normalverteilten Daten

Die Normalverteilung der Daten wurde mittels Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest bei einer Stichprobe ermittelt.

Es wurden folgende Test zum Zeitpunkt T0 angewendet (T0-Vergleiche):

Bei 2 unabhängigen Variablen:

- T-Test bei Normalverteilung der Daten
- MANN-Whitney-U-Test bei nicht normalverteilten Daten

Vergleich von mehreren unabhängigen Variablen:

- Einfaktorielle ANOVA bei Normalverteilung der Daten
- Kruskal-Wallis H Test bei nicht normalverteilten Daten

Um signifikante Effekte der Intervention zu ermitteln wurde folgender Test angewendet (T0-T2-Vergleiche):

- Mauchly's Test (Überprüfung der Sphärizität)
- Test der Innersubjekteffekte
- Test der Zwischensubjekteffekte

Das Signifikanzniveau betrug $p < 0,05$.

4. ERGEBNISSE (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

4.1. Ergebnisse vor der Intervention (Marlies Nitz)

Geschlechtsspezifische Unterschiede

Für diese Diplomarbeit wurde ein Teilkollektiv der DIAPLANT-Studie ausgewertet. Die Ergebnisse beziehen sich auf 72 Probanden, wovon 30 Männer und 42 Frauen waren. Dabei wurden unterschiedliche Häufigkeiten bei den Biomarkern PC und BNC festgestellt, wobei die Frauen bei beiden Biomarkern jeweils signifikant höhere Werte aufwiesen.

Abbildung 11 zeigt geschlechtsspezifische Unterschiede der PC-Häufigkeiten ($p = 0,042$). Das 95%ige Konfidenzintervall reichte bei Männern von 0,50 bis 1,14 und bei Frauen von 0,10 bis 1,91.

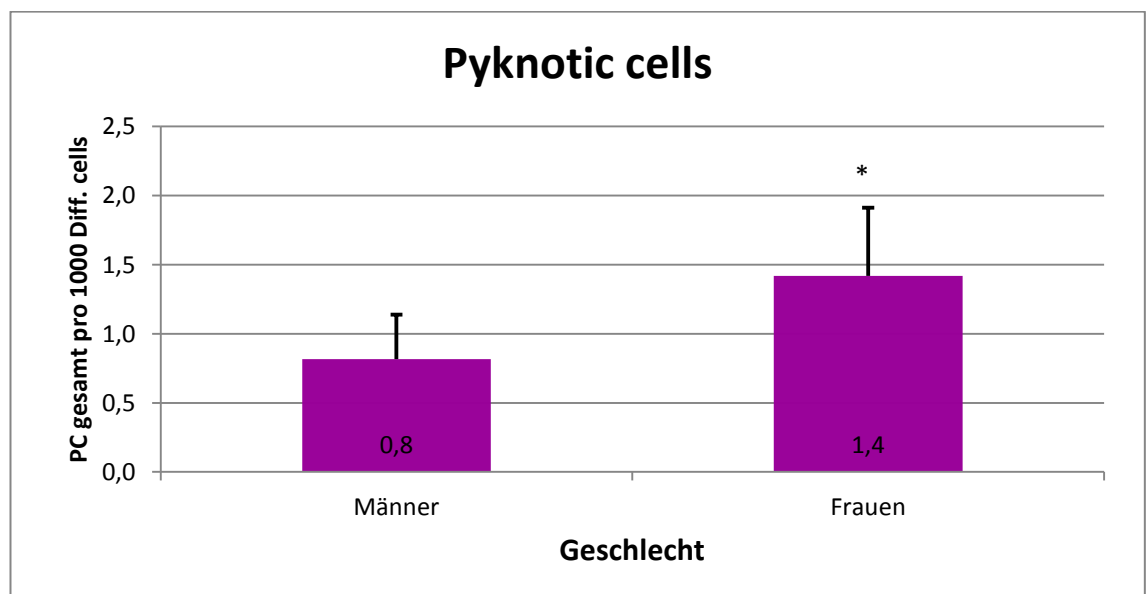


Abb.11: Geschlechtsspezifische Unterschiede der PC-Häufigkeiten (* $p < 0,05$ vs. Männer)

Abbildung 12 zeigt, dass Frauen mit einer Signifikanz von 0,022 höhere Werte an BNC's im Vergleich zu Männern aufwiesen. Bei Männern reichte das 95%ige Konfidenzintervall von 18,55 bis 24,58 und bei Frauen von 23,31 bis 33,25.

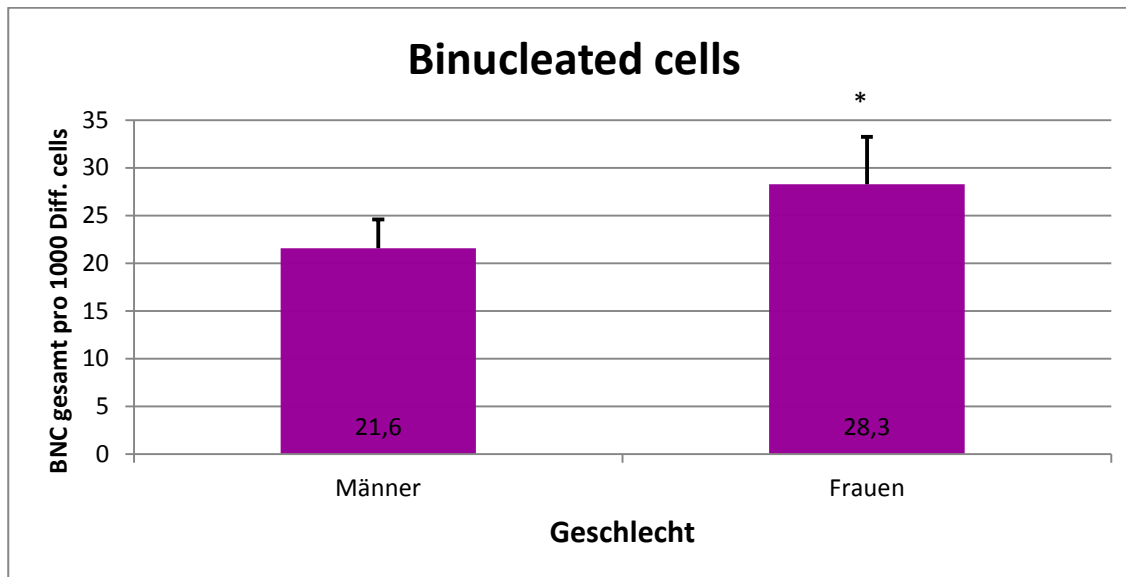


Abb.12: Geschlechtsspezifische Unterschiede der BNC-Häufigkeiten (* $p < 0,05$ vs. Männer)

Auffälligkeiten bei BE-Häufigkeiten

Beim Biomarker BE konnte festgestellt werden, dass das Rauchverhalten, der Ausgangswert von Low-density-Lipoprotein (LDL) und das Vitamin B12 einen Einfluss haben.

Ca. 50% der Probanden waren Exraucher, wobei gezeigt werden konnte, dass diese signifikant höhere Werte an BE's aufwiesen ($p = 0,02$). Das 95%ige Konfidenzintervall reichte bei Exrauchern von 0,62 bis 1,36 und bei Nichtrauchern von 0,26 bis 0,60 (Abb. 13).

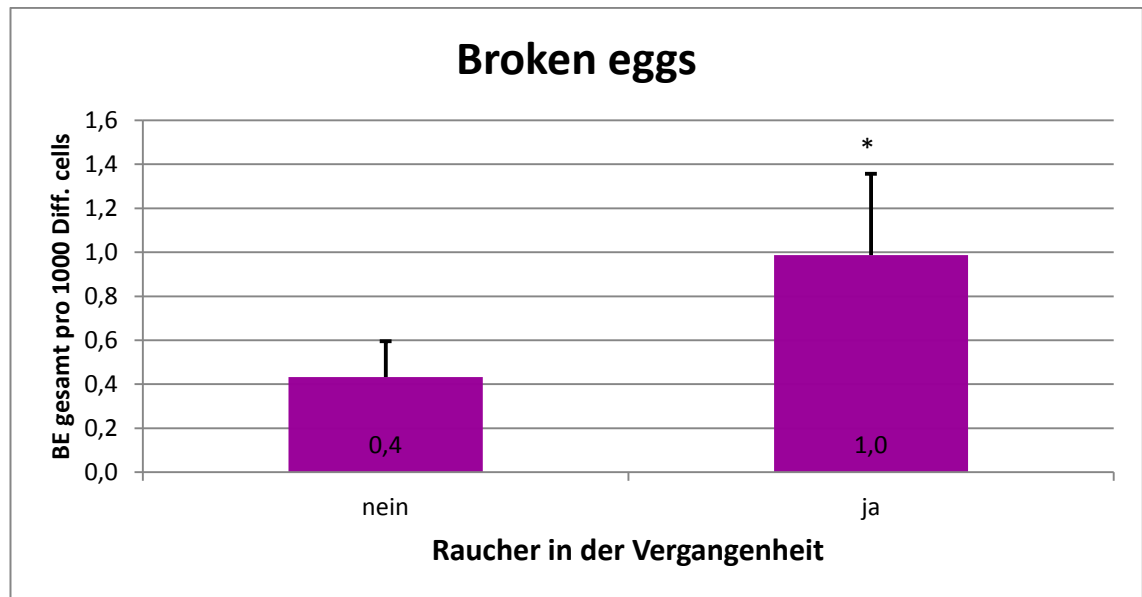


Abb.13: Unterschied der BE-Häufigkeiten unter Berücksichtigung von Personen, die in der Vergangenheit geraucht haben (* $p < 0,05$ vs Nichtraucher)

Abbildung 14 zeigt einen signifikanten Unterschied ($p = 0,041$), zwischen Personen, bei denen LDL-Cholesterin im Normalbereich lag - welche aber höhere Werte an BE's aufwiesen - im Vergleich zu Personen die erhöhte LDL-Cholesterinkonzentration im Plasma aufwiesen. Zu bemerken ist jedoch, dass es eine ungleichmäßige Verteilung zwischen den beiden Gruppen gab. Bei 63 Personen war der LDL-Cholesterin Plasmaspiegel im Normalbereich und das 95%ige Konfidenzintervall reichte von 0,54 bis 0,98. Bei lediglich 9 Personen war die LDL-Cholesterinkonzentration erhöht und das 95%ige Konfidenzintervall verlief von -0,19 bis 0,80.

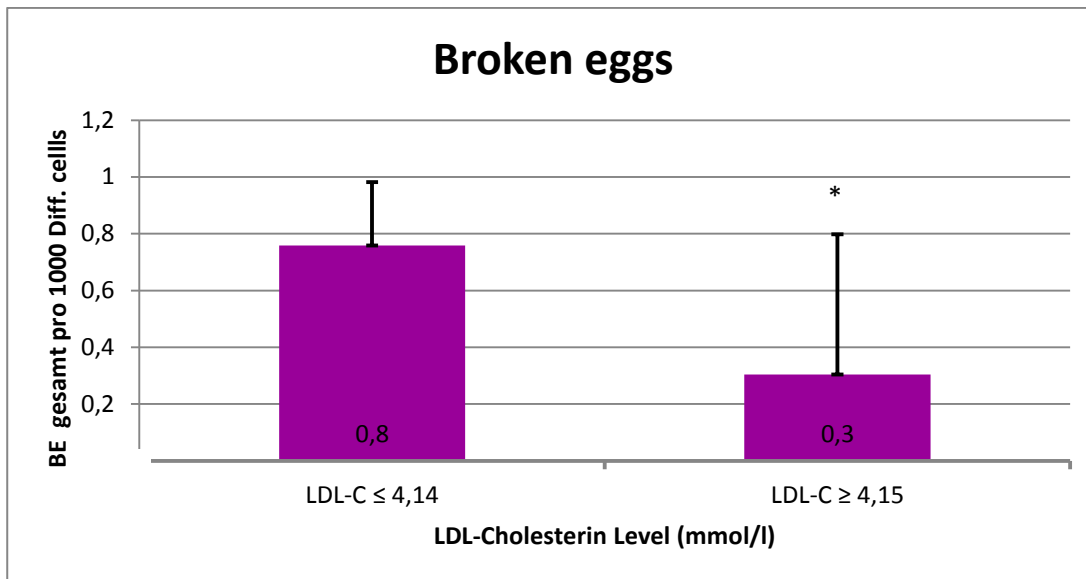


Abb.14: Unterschied der BE-Häufigkeit unter Berücksichtigung von LDL-Cholesterin (* $p < 0,05$ vs LDL-C $\leq 4,14$)

Bei Vitamin B12 ergab sich ein ähnliches Bild wie bei LDL-Cholesterin. Personen, bei denen die Vitamin B12 Konzentration im Normalbereich lag, wurden signifikant ($p = 0,02$) häufiger BE's beobachtet. Der Referenzbereich liegt zwischen 147-540 pmol/L. Niemand lag unter 147 pmol/L, bei 13 von 72 Probanden lag der Vitamin B12 Wert oberhalb des Normalbereiches (Abb. 15).

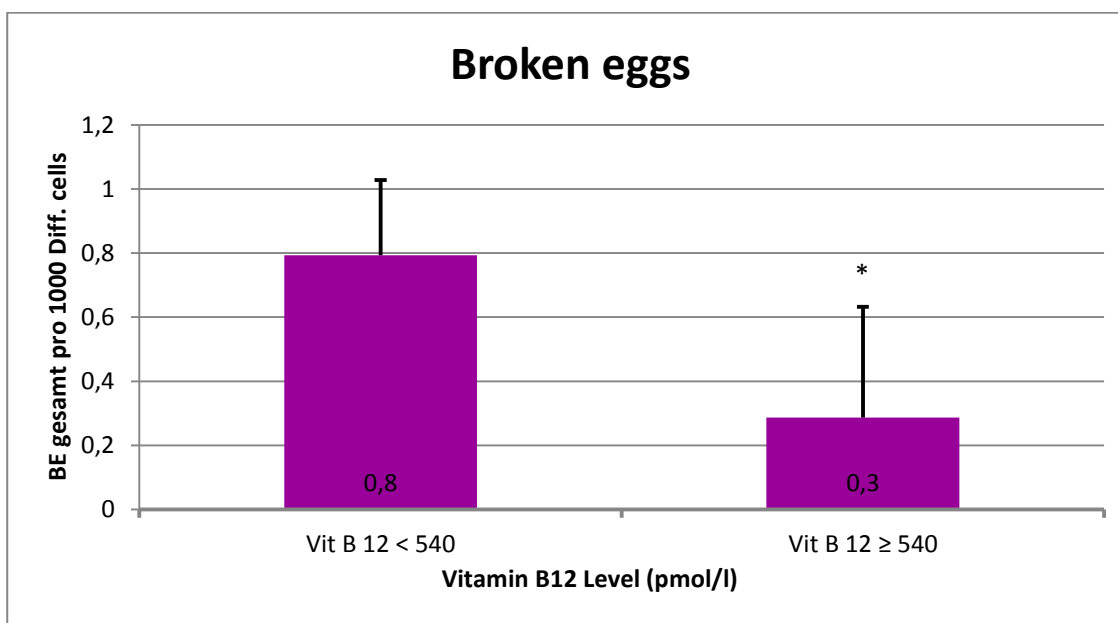


Abb.15: Unterschiede der BE-Häufigkeiten in Bezug auf Vitamin B12 im Plasma (* $p < 0,05$ vs Vit. B12 < 540)

Der Einfluss des Entzündungsmarkers C-reaktives Protein (CRP)

Abbildung 16 zeigt einen signifikanten Unterschied ($p=0,028$) zwischen Probanden mit normalen und hohen CRP-Werten. Das 95%ige Konfidenzintervall reichte bei $\text{CRP} \leq 5,0\text{mg/l}$ von 14,13 bis 23,15 und bei $\text{CRP} \geq 5,1\text{mg/l}$ von 16,77 bis 32,68. Auch KR und CC steigen mit zunehmender CRP-Konzentration an (Abb. 17).

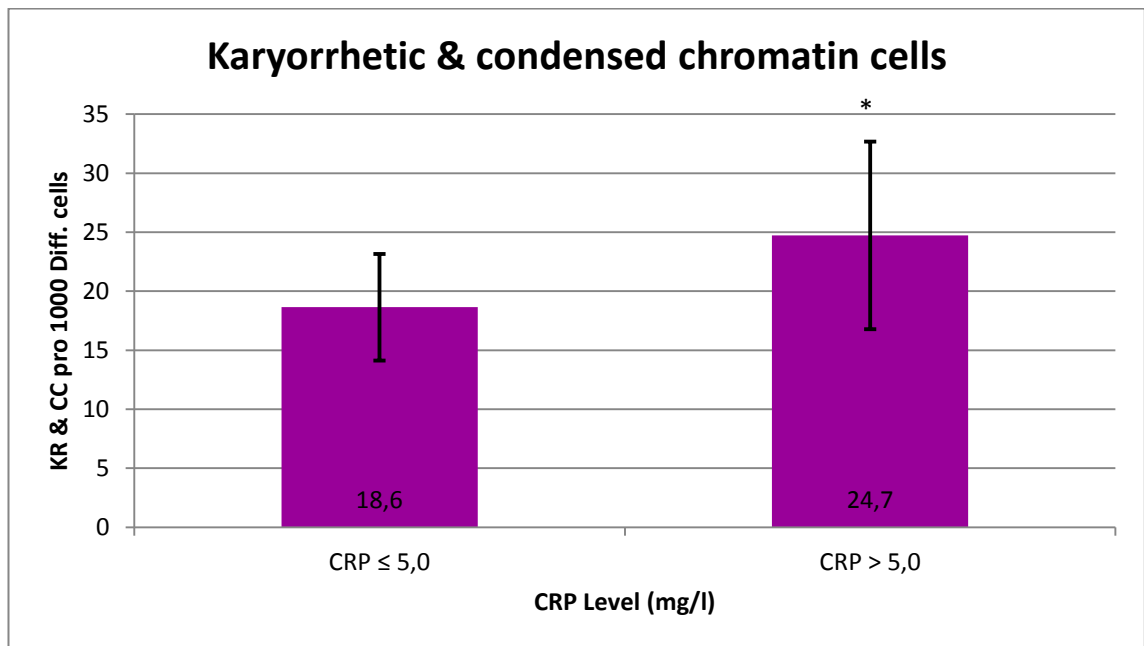


Abb.16: Unterschied der KR & CC-Häufigkeiten in Bezug auf das CRP-Level (* $p<0,05$ vs $\text{CRP} \leq 5,0$)

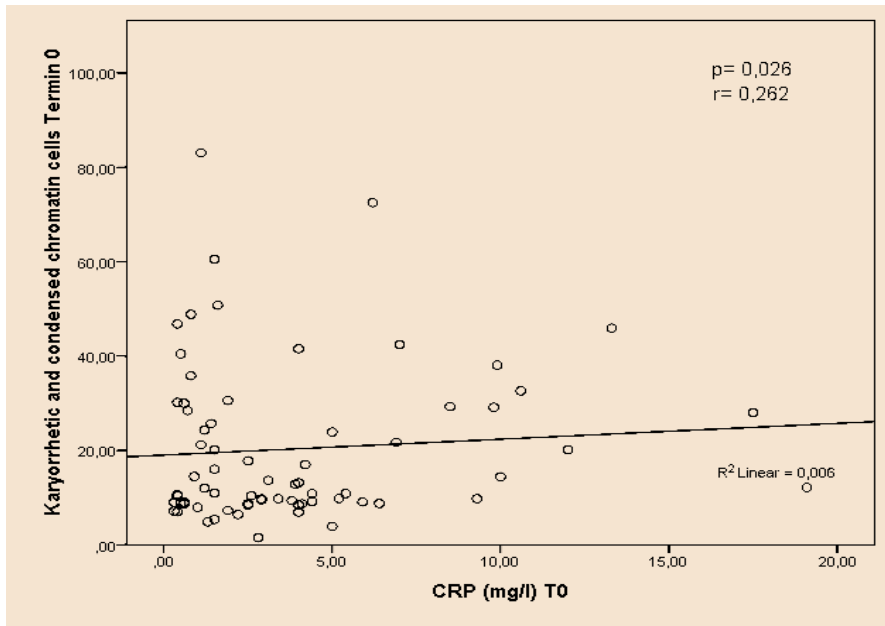


Abb.17: Korrelation zwischen CRP und KR & CC

Auffälligkeiten bei einer Magnesium-Supplementation (Mg)

Abbildung 18 zeigt einen signifikanten Unterschied der MNC-Häufigkeiten ($p=0,035$) und MN-Häufigkeiten ($p=0,042$) bei einer Mg-Supplementation.

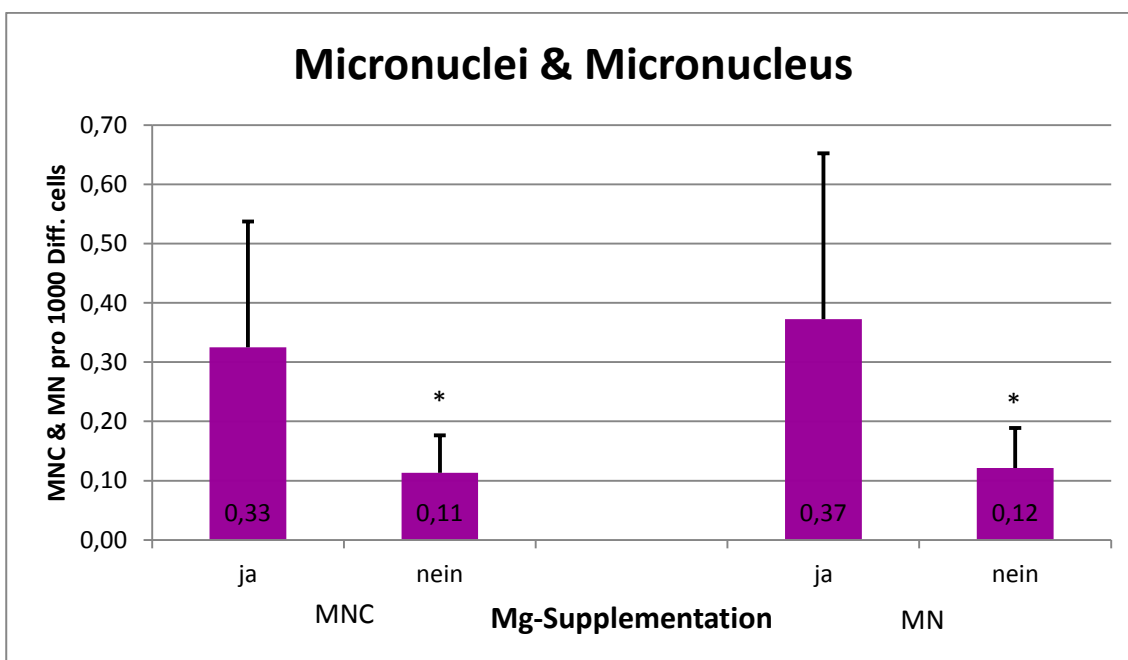


Abb.18: Unterschied der MNC & MN-Häufigkeiten in Abhängigkeit einer Mg-Supplementation (* $p < 0,05$ vs Mg-Supplementation)

Unterschiede zwischen den Gruppen IDDM, NIDDM, Gesund und IFG

Abbildung 20 zeigt unterschiedliche PC- Häufigkeiten zwischen IDDM, NIDDM, Gesunden und IFG- Probanden. Es sind signifikante Unterschiede zwischen NIDDM und IDDM ($p=0,044$) und NIDDM und Gesunden ($p=0,018$) zu verzeichnen. Wogegen es zwischen IFG und IDDM, IFG und NIDDM, sowie IFG und Gesunden keine signifikanten Unterschiede gab.

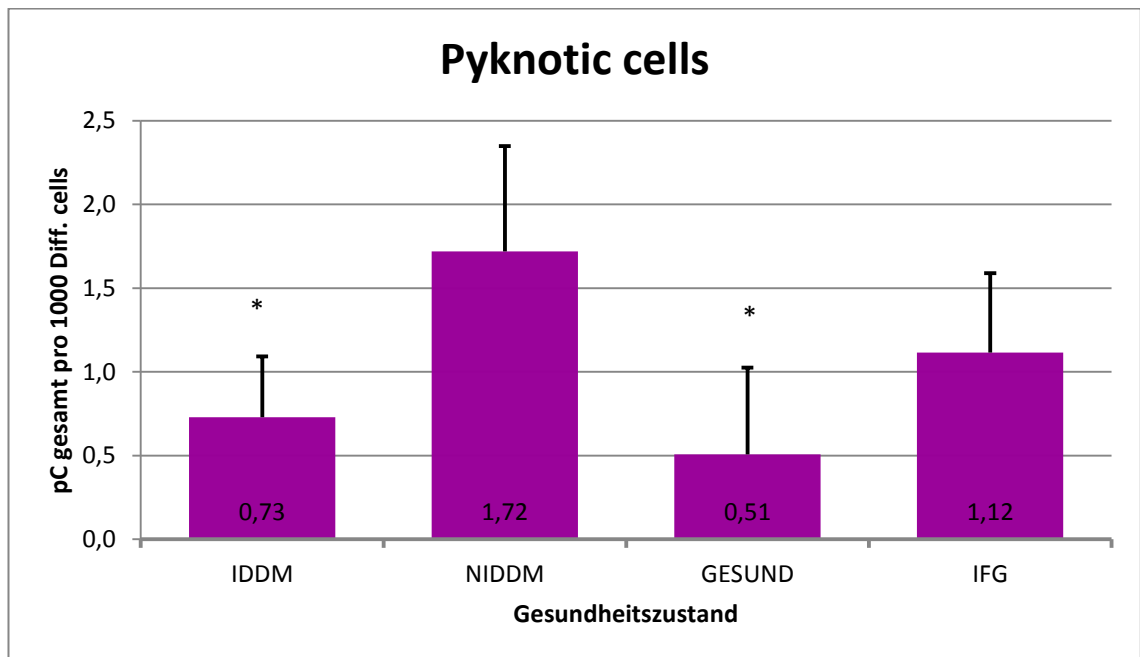


Abb.19: Unterschied der PC-Häufigkeit in Bezug auf den Gesundheitszustand (* IDDM, Gesund < NIDDM $p<0,05$)

4.2. Einfluss der Intervention (Alice Petschnig)

Während des Interventionszeitraumes ist sowohl in der Interventionsgruppe ($p=0,00$) als auch in der Informationsgruppe ($p=0,001$) eine Senkung der BNC's festgestellt worden (Abb. 20).

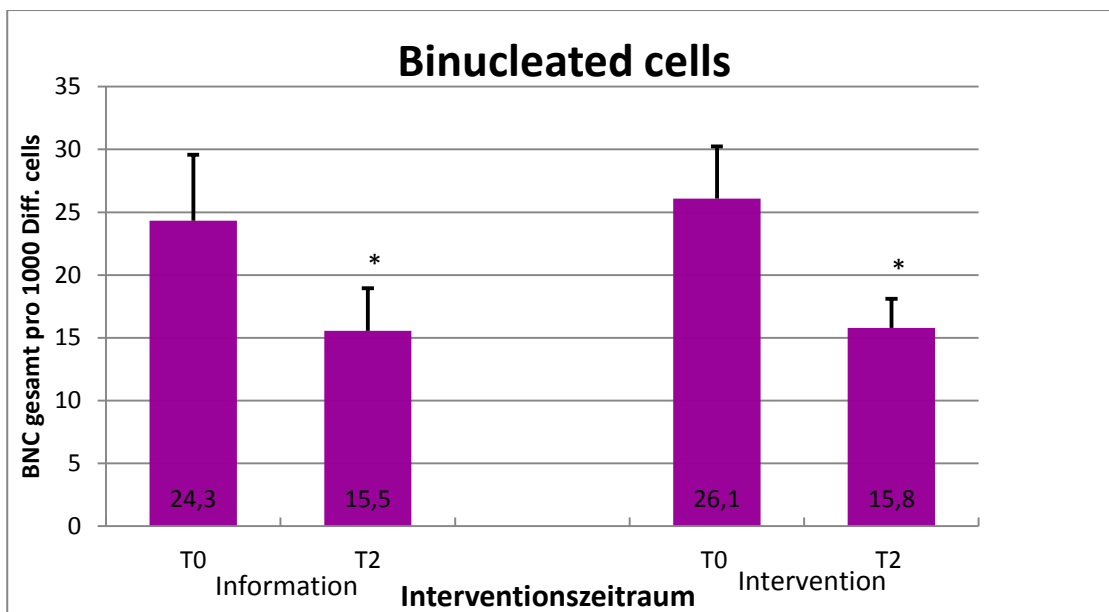


Abb.20: Entwicklung der BNC-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes (* $p<0,01$ vs T0)

Beim Biomarker PC gab es nur in der Interventionsgruppe eine signifikante Senkung ($p=0,011$). Das 95%ige Konfidenzintervall reichte vor der Intervention von 0,97 bis 1,87 und nach der Intervention von 0,38 bis 0,71 (Abb. 21).

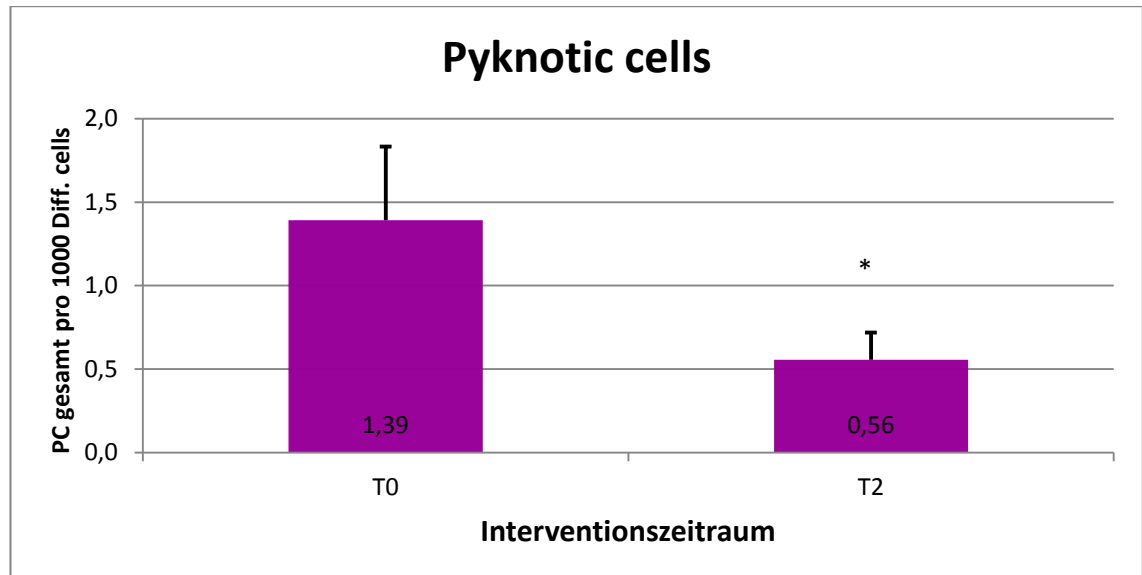


Abb.21: Entwicklung der PC-Häufigkeiten in der Interventionsgruppe (* $p<0,05$ vs T0)

Abbildung 22 zeigt, dass auch bei KR & CC eine signifikante Senkung ($p=0,023$) nach der Intervention zu verzeichnen war. Das 95%ige Konfidenzintervall verlief vor der Intervention von 15,64 bis 24,15 und nach der Intervention von 8,89 bis 17,26.

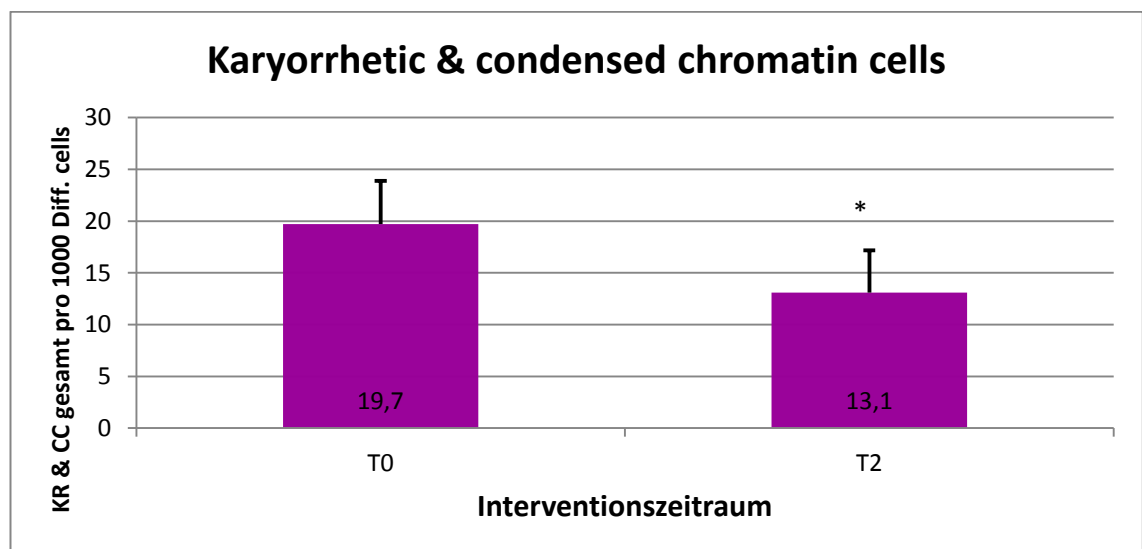


Abb.22: Entwicklung der KR & CC-Häufigkeiten in der Interventionsgruppe (* $p<0,05$ vs T0)

Abbildung 23 zeigt nach der Intervention signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede beim Biomarker BE ($p=0,02$). Zu bemerken ist, dass bei Frauen im Gegensatz zu den Männern, die BE-Häufigkeit nach der Intervention anstieg.

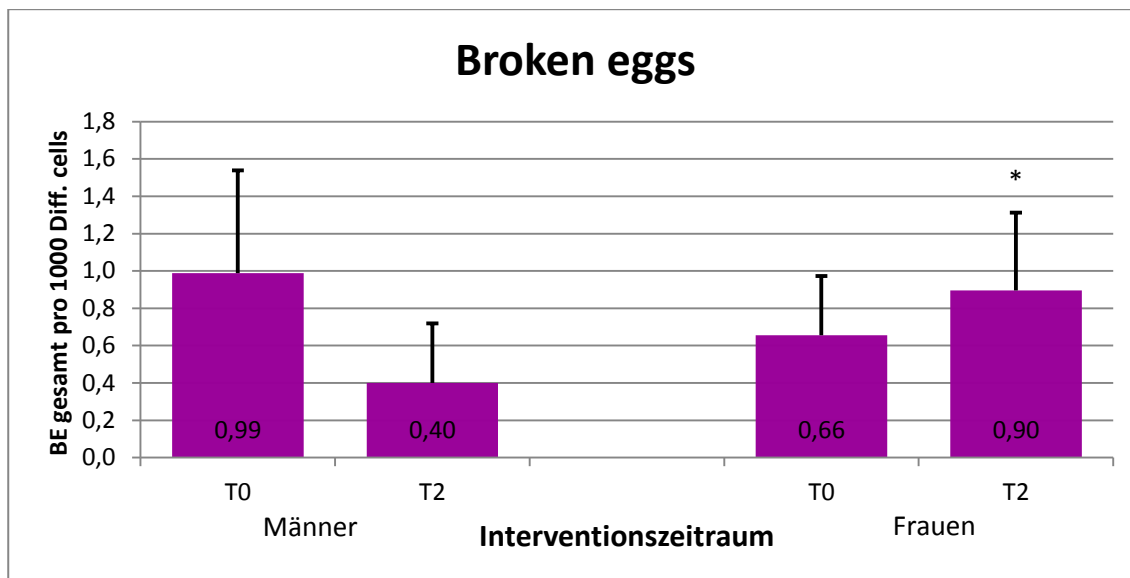


Abb.23: Geschlechtsspezifische Unterschiede der BE-Häufigkeiten während des Interventionszeitraumes in der Interventionsgruppe (* $p<0,05$ vs. T2 Männer)

4.3. Ergebnisse vor der Intervention bei NIDDM-Patienten

(Marlies Nitz)

Bei erhöhten Hämoglobin A1c (HbA1c) Werten wurden signifikant höhere BNC-Häufigkeiten ($p=0,038$) festgestellt. Bei einem HbA1c Wert $\leq 7,0$ reichte das 95%ige Konfidenzintervall von 16,24 bis 25,23. Lag der HbA1c Wert $\geq 7,01$ reichte es von 20,93 bis 39,92 (Abb. 24).

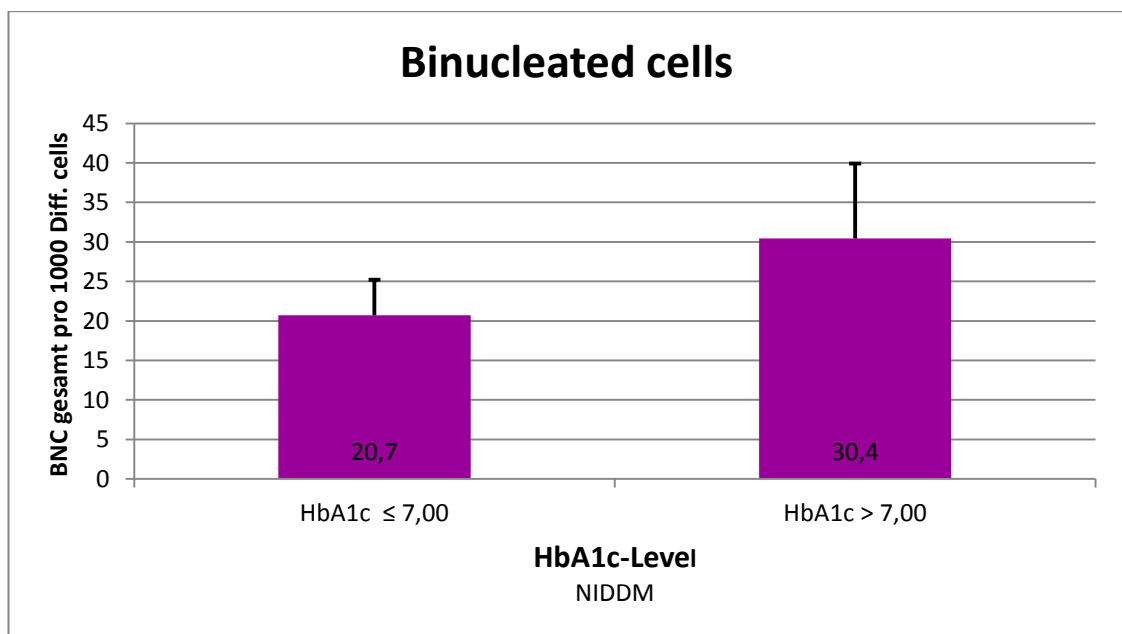


Abb.24: Unterschied der BNC-Häufigkeiten in Bezug auf den HbA1c-Wert bei NIDDM (* $p<0,05$ vs HbA1c-Wert $< 7,00$)

Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten bei NIDDM-Probanden bei PC's festgestellt werden. Frauen hatten hoch signifikant höhere Werte als Männer ($p=0,002$; Abb. 25).

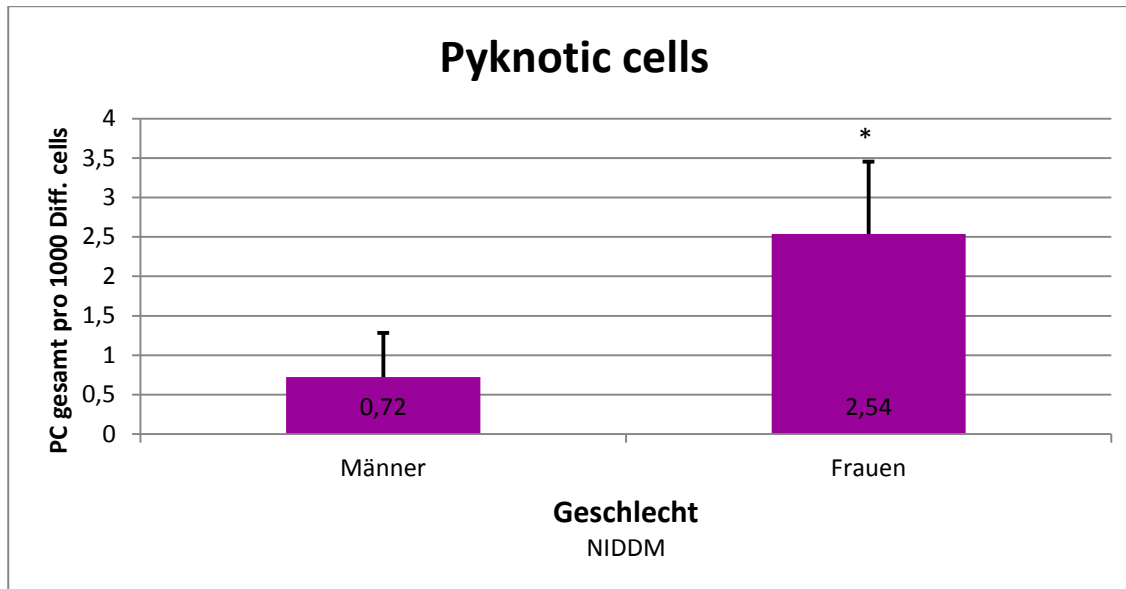


Abb.25: Geschlechtsspezifische Unterschiede der PC-Häufigkeiten bei NIDDM (* $p<0,01$ vs Männer)

Einnahme von Supplementen

Abbildung 26 zeigt bei beiden Biomarkern (MNC & MN) signifikante Unterschiede ($p=0,000$). Die NIDDM-Probanden, welche regelmäßig Supplemente einnahmen hatten höhere Werte an MNC und MN. Das 95%ige Konfidenzintervall reichte bei MNC sowie auch bei MN von -0,21 bis 0,11 im Vergleich zu 0,24 bis 0,80 bei MNC und 0,20 bis 0,97 bei MN bei Personen, welche keine Supplemente zu sich nahmen.

Abbildung 27 zeigt, dass eine Mg-Supplementation alleine ebenfalls zu signifikanten Unterschieden bei den MNC- und MN-Häufigkeiten führt ($p=0,002$). Dies wurde multivariat analysiert. Die Aufnahme von anderen Supplementen wie z.B. Omega -3 Fettsäuren, B-Vitamine und Multivitaminpräparate ergab keine signifikanten Unterschiede.

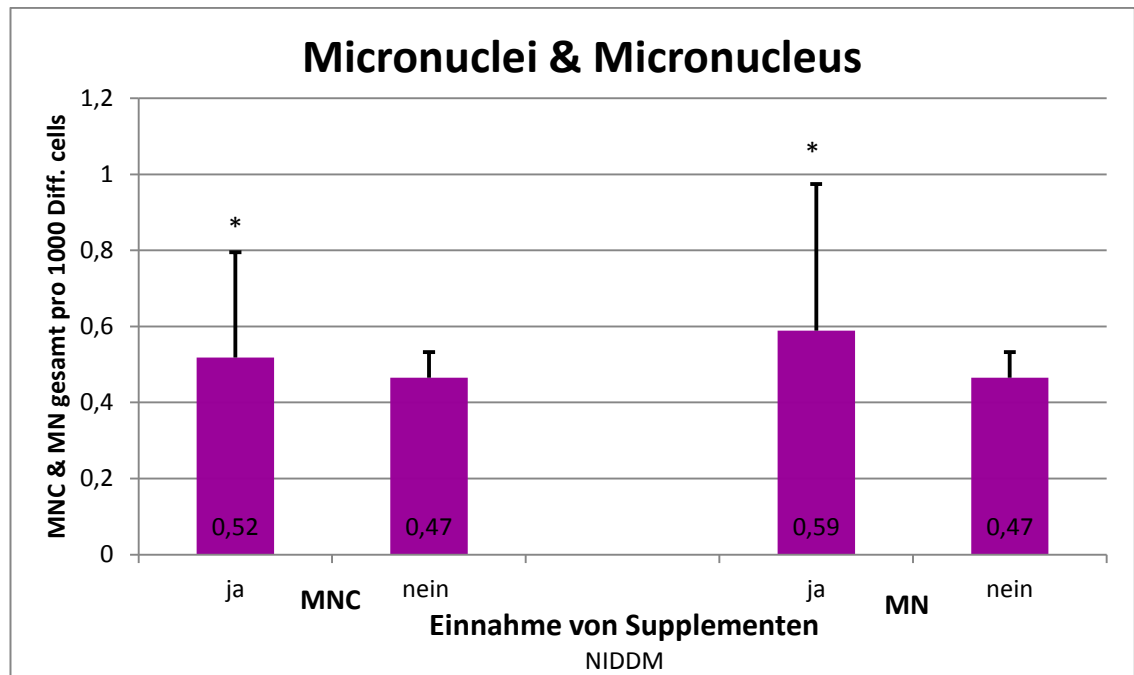


Abb.26: Unterschiede der MNC & MN-Häufigkeiten bei NIDDM in Bezug auf die Einnahme von Supplementen (* $p < 0,01$ vs keine Einnahme von Supplementen)

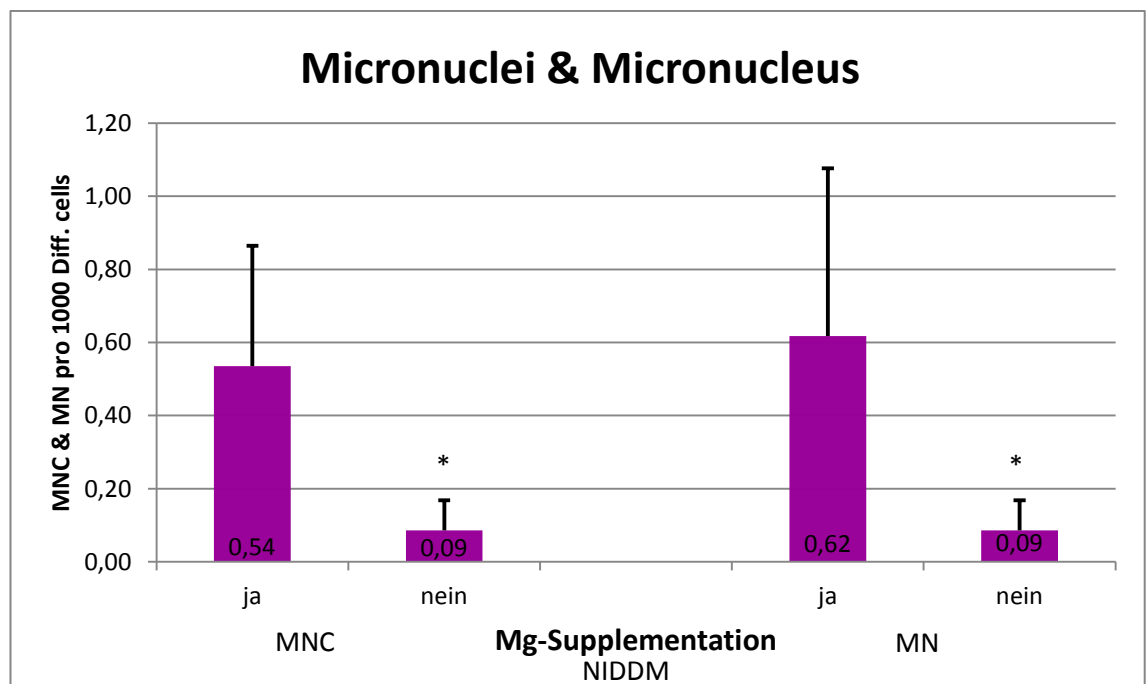


Abb.27: Unterschiede der MNC & MN-Häufigkeiten bei NIDDM in Bezug auf die Einnahme von Mg-Supplemente (* $p < 0,01$ vs Mg-Supplementation)

4.4. Einfluss der Intervention bei NIDDM-Probanden

(Marlies Nitz)

Beim Biomarker BE gab es in der Informationsgruppe eine signifikante Senkung während der Intervention ($p=0,007$) (Abb. 28). In der Interventionsgruppe konnten geschlechtsspezifische tendenzielle Unterschiede ($p=0,055$) verzeichnet werden (Abb. 29).

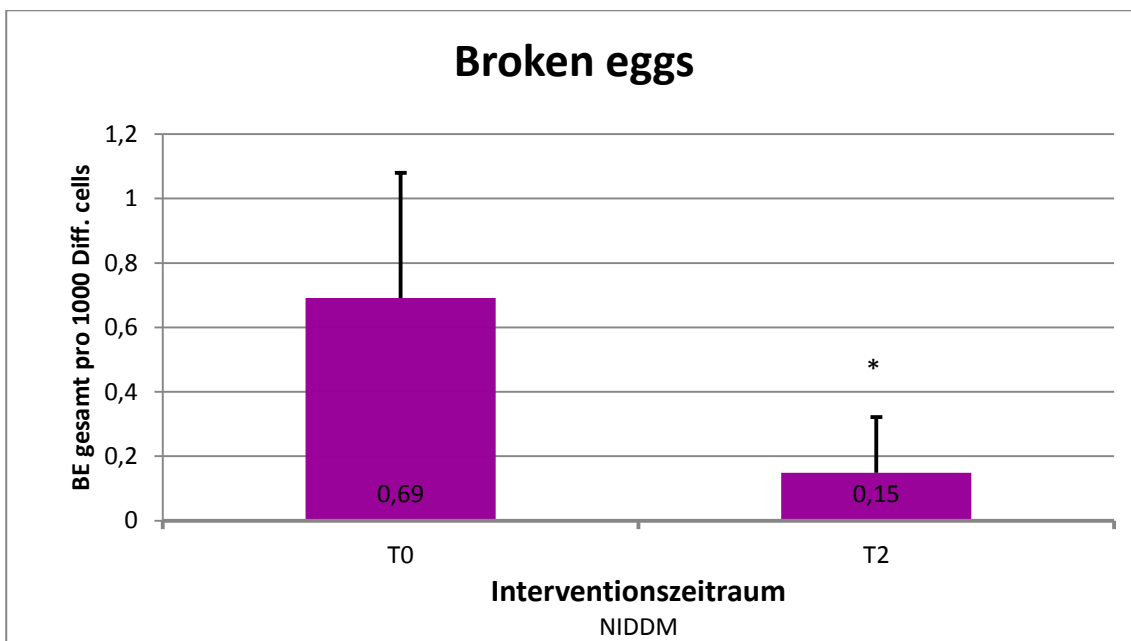


Abb.28: Unterschiede der BE-Häufigkeiten in NIDDM während des Interventionszeitraumes in der Informationsgruppe (* $p<0,01$ vs T0)

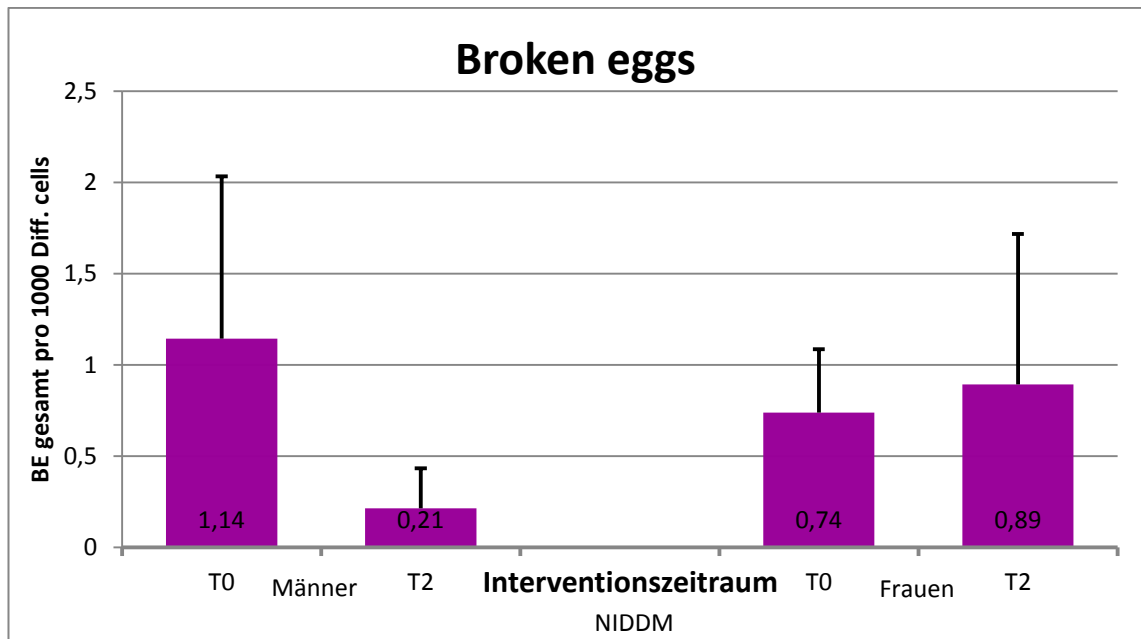


Abb.29: Geschlechtsspezifische Unterschiede der BE-Häufigkeiten bei NIDDM in der Interventionsgruppe

Wie beim Gesamtkollektiv konnte auch in der Gruppe der NIDDM bei KR & CC eine signifikante Senkung ($p=0,007$) nach der Intervention verzeichnen werden. Das 95%ige Konfidenzintervall verlief zu T0 von 13,97 bis 28,27 und nach der Intervention von 4,76 bis 16,32 (Abb. 30).

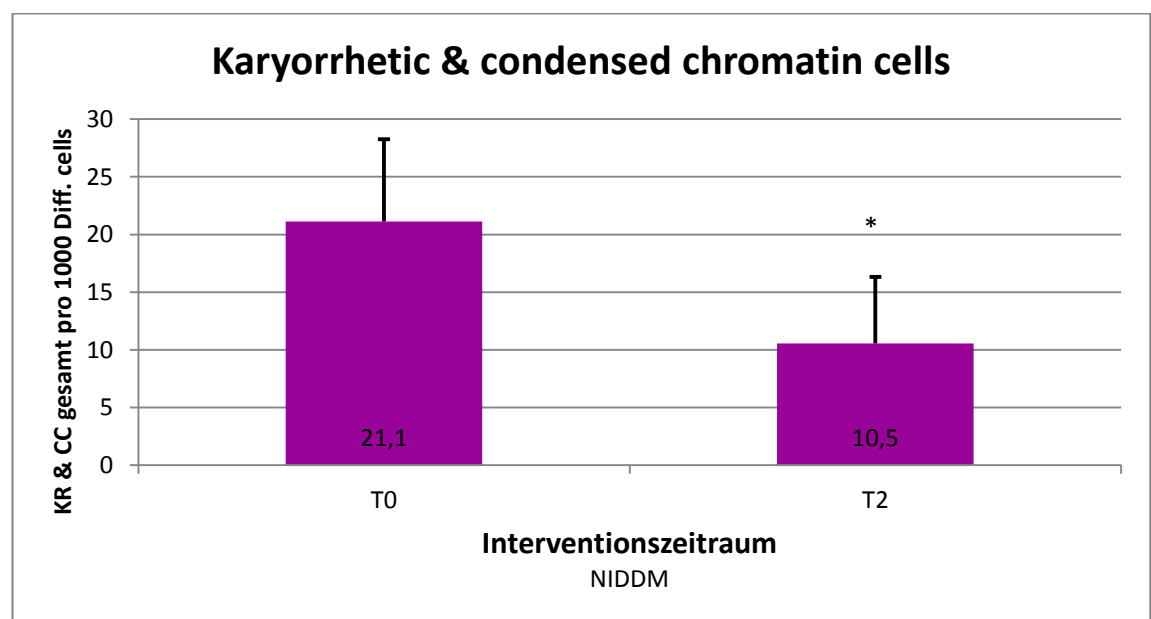


Abb.30: Unterschiede der KR & CC-Häufigkeiten in NIDDM in der Interventionsgruppe (* $p<0,01$ vs T0)

Abbildung 31 zeigt die signifikante Senkung der PC- Häufigkeiten ($p=0,002$) bei NIDDM-Probanden in der Interventionsgruppe. Vor der Intervention verlief das 95%ige Konfidenzintervall von 1,11 bis 2,76, nach der Intervention von 0,36 bis 0,95.

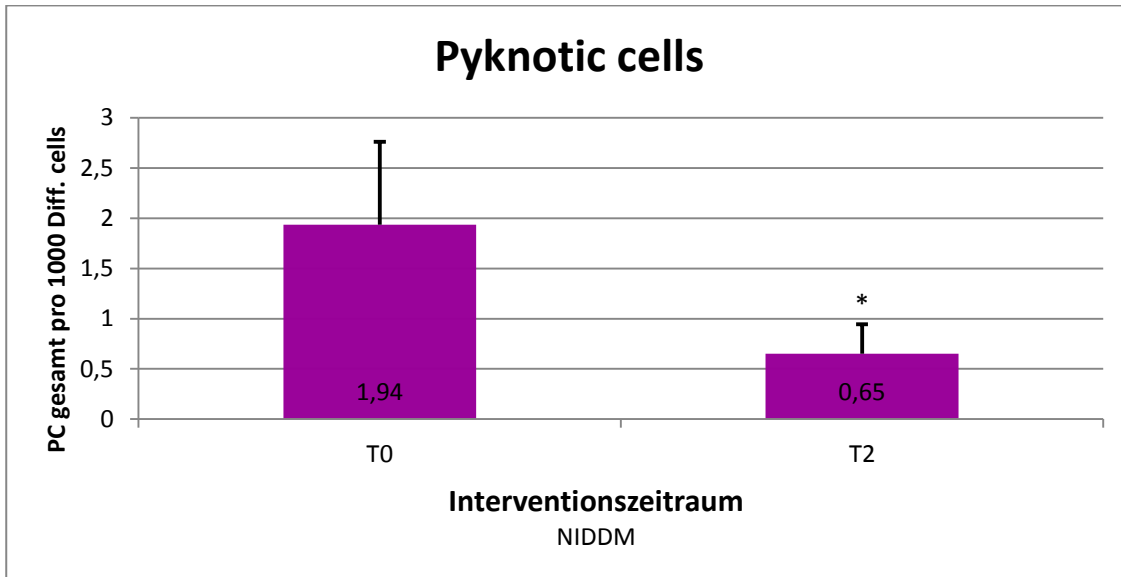


Abb.31: Unterschiede der PC-Häufigkeiten bei NIDDM in der Interventionsgruppe (* $p<0,01$ vs T0)

4.5. Ergebnisse vor der Intervention bei IDDM-Probanden

(Alice Petschnig)

Abbildung 32 zeigt mit einer Signifikanz von 0,003 niedrigere PC-Häufigkeiten bei IDDM-Probanden mit einem HbA1c-Wert ≤ 7 . Das 95%ige Konfidenzintervall reichte bei einem HbA1c Wert $\leq 7,0$ von -0,21 bis 0,41 und bei einem HbA1c Wert $\geq 7,01$ von 0,43 bis 1,26.

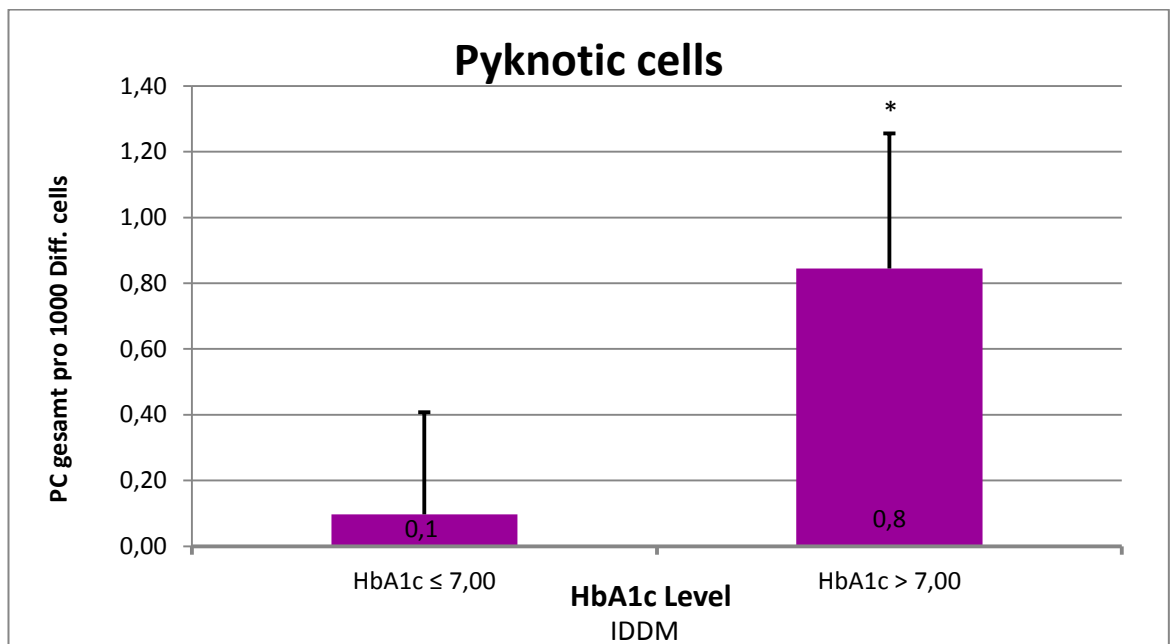


Abb.32: Unterschied der PC-Häufigkeiten in Bezug auf das HbA1c Level von IDDM (* $p < 0,01$ vs HbA1c $\leq 7,00$)

Bei beiden Biomarkern (MNC & MN) konnten signifikante Unterschiede in Bezug auf den Nüchternblutzuckerspiegel (NBZ) festgestellt werden. Bei Personen, welche erhöhte NBZ-Werte aufwiesen, wurden geringere MNC- und MN-Häufigkeiten festgestellt. Die Signifikanz betrug bei MNC 0,011 und bei MN 0,005 (Abb. 33).

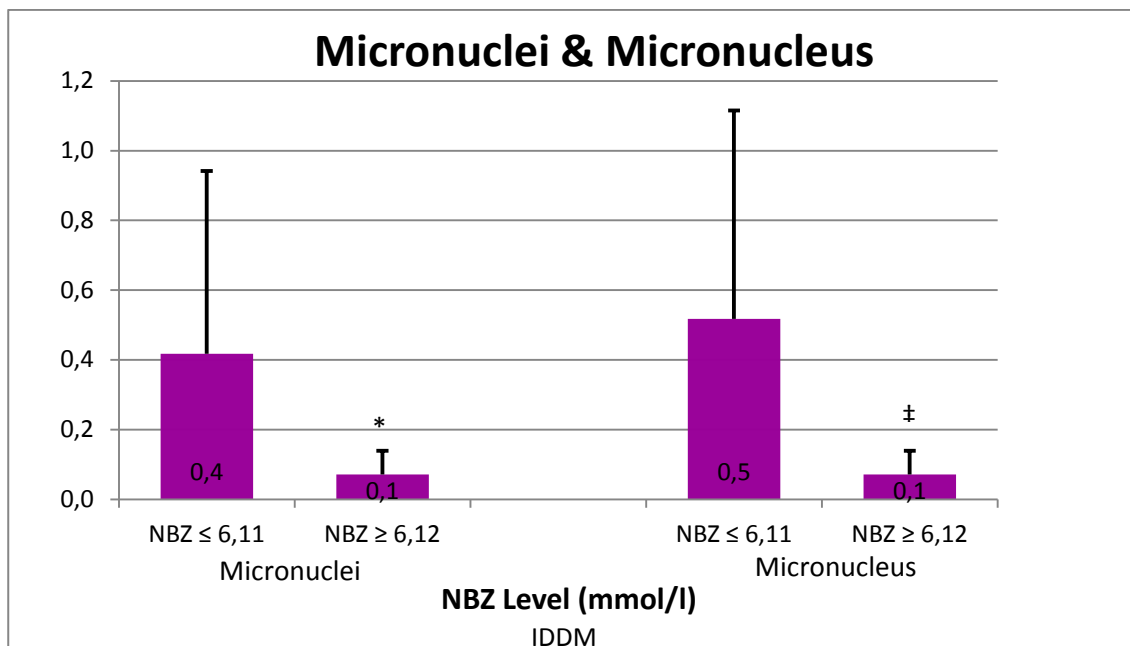


Abb.33: Unterschied der MNC & MN- Häufigkeit in IDDM in Bezug auf unterschiedliche NBZ Levels (*p<0,05 vs NBZ ≤ 6,11 MNC; ‡p<0,01 vs NBZ ≤ 6,11 MN)

Personen, welche im Laufe ihres Lebens an Krebs erkrankt waren, hatten signifikant niedrigere KR und CC Werte, als Personen, welche nie Krebs hatten (p=0,007) (Abb. 34).

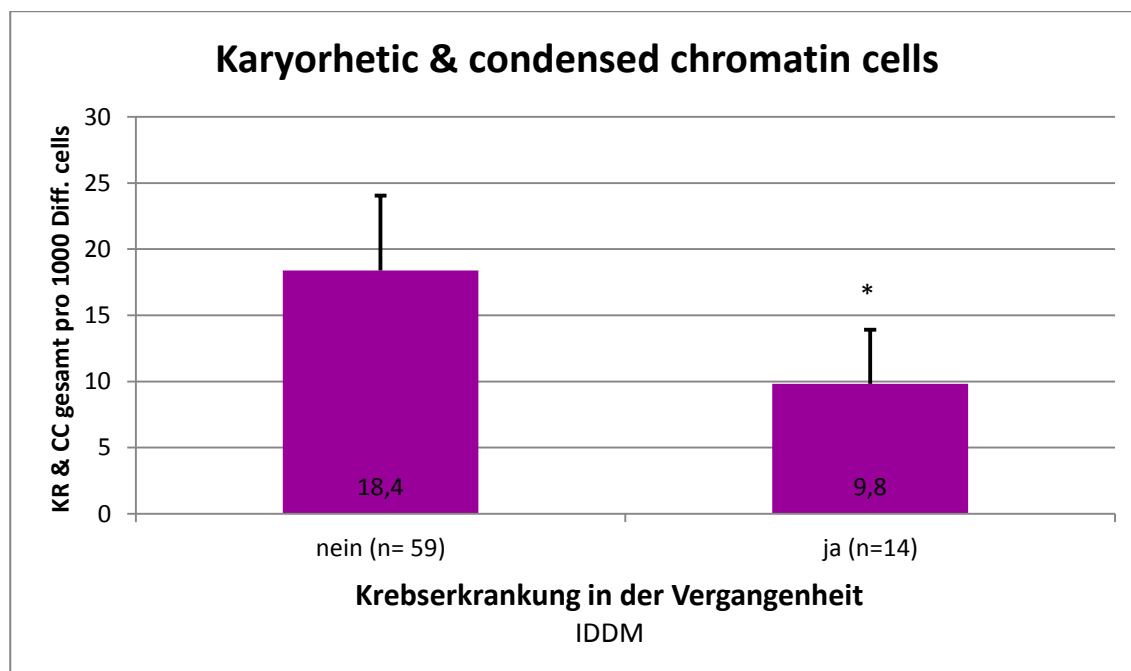


Abb.34: Unterschied der KR & CC-Häufigkeiten in IDDM in Bezug auf Krebserkrankung in der Vergangenheit (*p<0,01 vs keine Krebserkrankung in der Vergangenheit)

IDDM-Probanden bei denen der NBZ erhöht war, hatten tendenziell geringere KL- Häufigkeiten, als Personen die einen NBZ $\leq 6,11$ mmol/l aufwiesen ($p=0,075$). Bei einem NBZ $\geq 6,12$ mmol/l betrug die Ober- und Untergrenze des 95%igen Konfidenzintervalls 26,67 und 82,66, lag der NBZ $\leq 6,11$ betrug es - 20,50 bis 265,59 (Abb. 35).

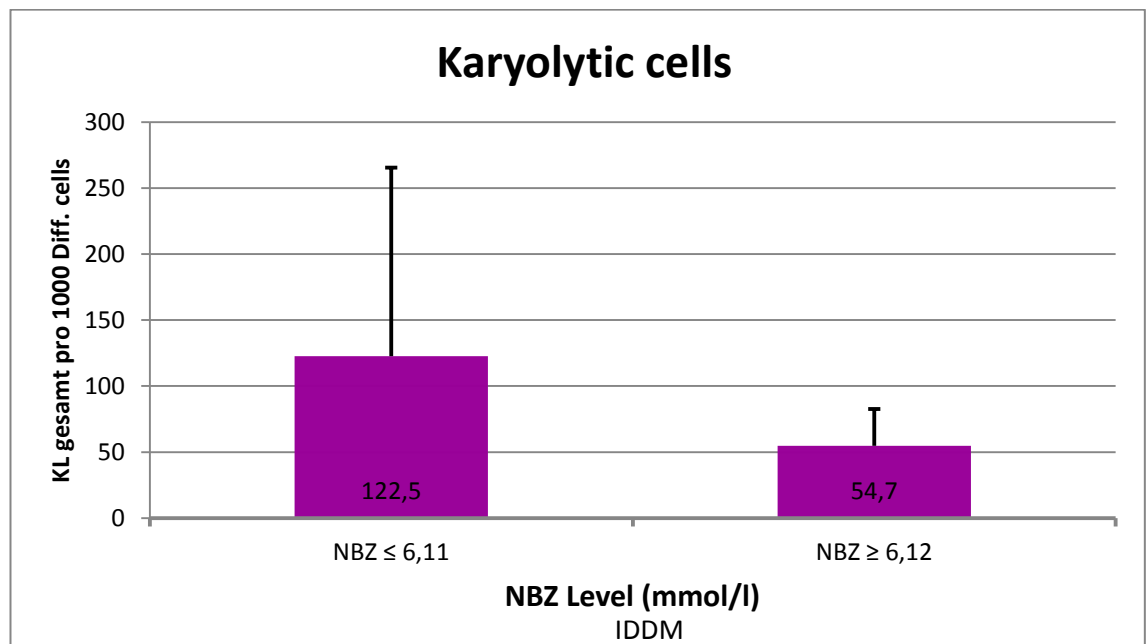


Abb.35: Unterschied der KL-Häufigkeit in IDDM in Bezug auf unterschiedliche NBZ Levels

Abbildung 36 zeigt, bei hohen Folsäurewerten signifikant geringere BE-Häufigkeiten ($p=0,007$). Dabei reichte das 95%ige Konfidenzintervall bei einem Folsäure Wert $\geq 30,6\text{nmol/l}$ von -0,17 bis 0,39.

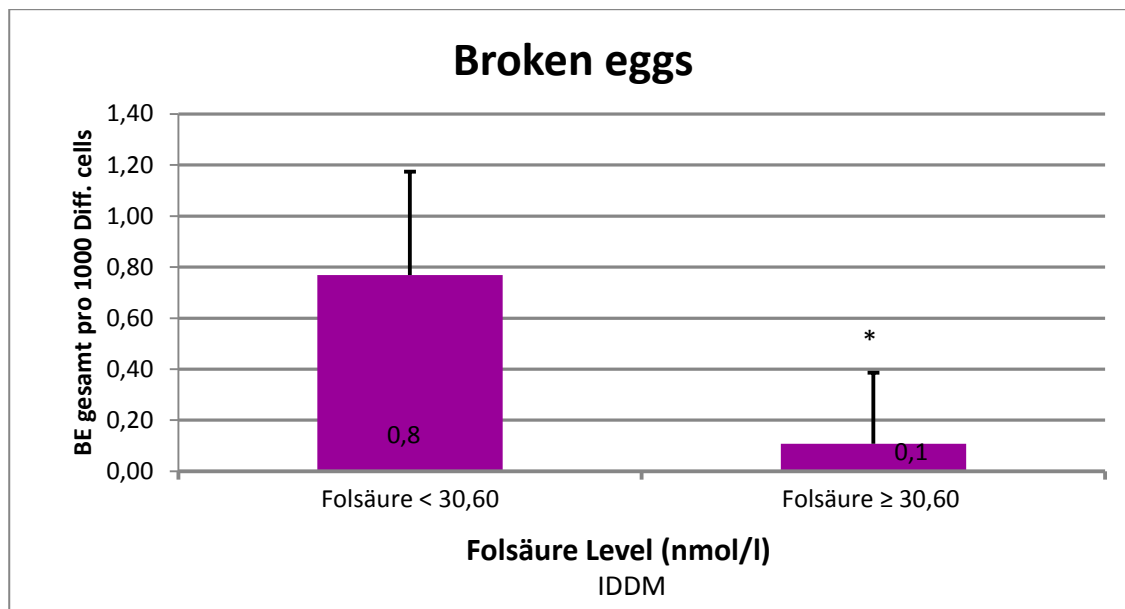


Abb.36: Unterschiede der BE-Häufigkeiten in IDDM in Bezug auf unterschiedliche Folsäure-Konzentrationen im Plasma (* $p<0,01$ vs Folsäure < 30,60nmol/l)

4.6. Einfluss der Intervention bei IDDM-Probanden

(Alice Petschnig)

In Abbildung 37 ist zu erkennen, dass die PC-Häufigkeiten im Laufe der Studie in der Interventionsgruppe signifikant abnahmen ($p=0,05$). Das 95%ige Konfidenzintervall reichte vor der Intervention von 0,38 bis 1,47 und nach der Intervention von 0,22 bis 0,69.

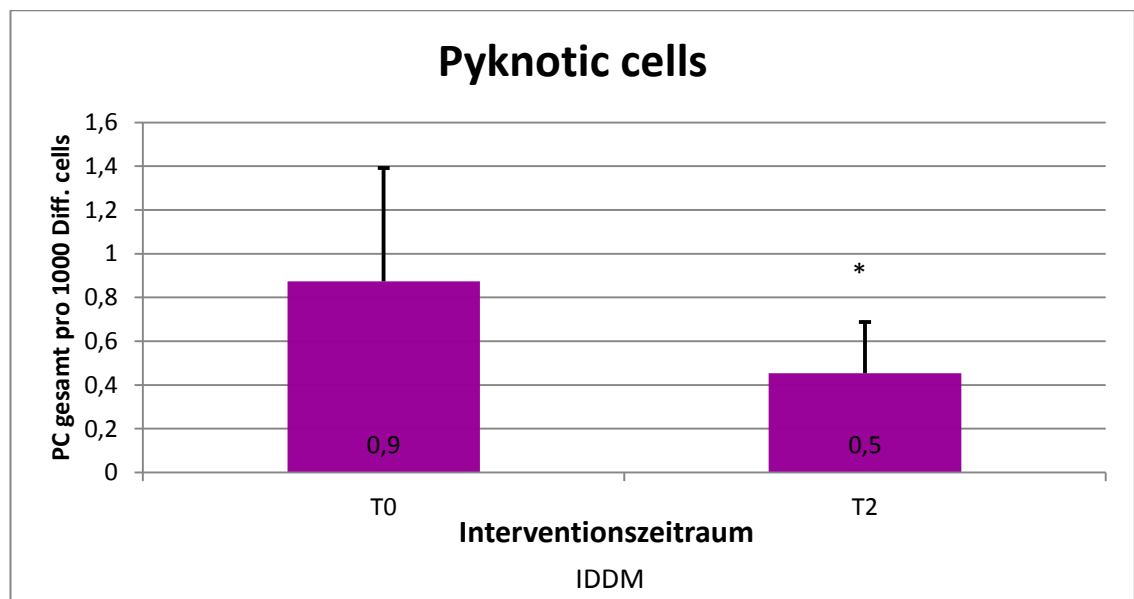


Abb.37: Unterschiede der PC-Häufigkeiten in IDDM in der Interventionsgruppe (* $p=0,05$ vs T0)

Beim Biomarker BE ist ein tendenzieller, geschlechtsspezifischer Unterschied zu verzeichnen ($p=0,08$). Während die BE-Häufigkeiten bei Männern leicht sank, stieg sie bei den Frauen an (Abb. 38).

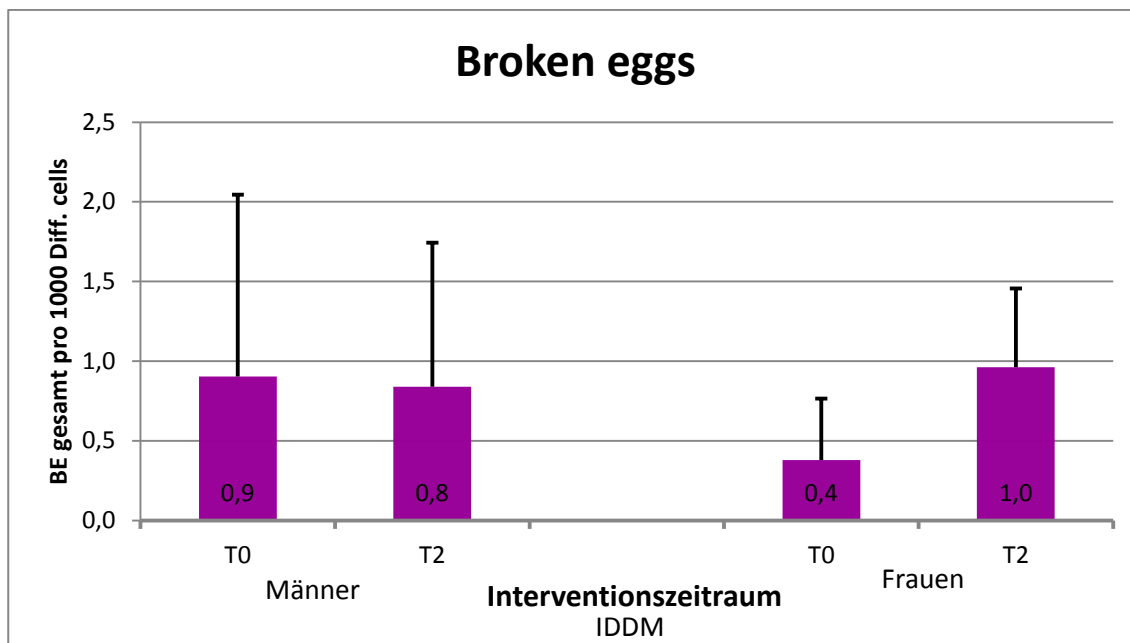


Abb.38: Geschlechtsspezifische Unterschiede der BE-Häufigkeiten in IDDM in der Interventionsgruppe

Abbildung 39 zeigt eine tendenzielle Senkung ($p=0,053$) der BNC-Häufigkeiten in der Informationsgruppe. In der Interventionsgruppe war eine signifikante Senkung ($p=0,009$) zu beobachten.

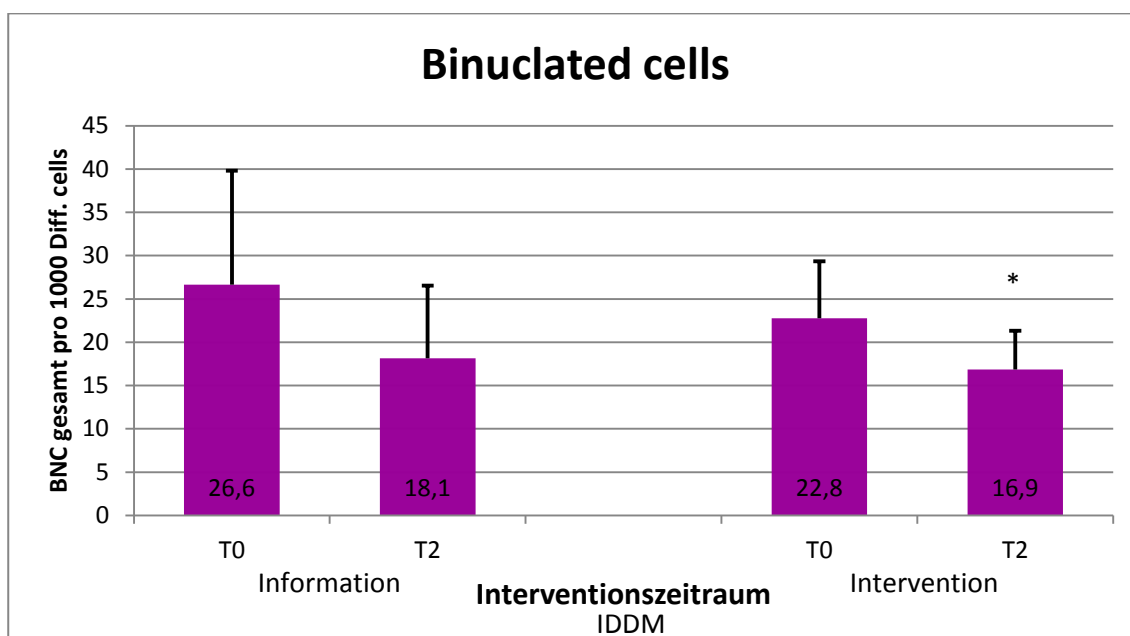


Abb.39: Entwicklung der BNC-Häufigkeiten bei IDDM während des Interventionszeitraumes (* $p=0,01$ vs T0 der Interventionsgruppe)

In der Interventionsgruppe konnte eine signifikante Senkung der KL-Häufigkeiten beobachtet werden ($p=0,047$). Das 95%ige Konfidenzintervall verlief vor der Intervention von 40,25 bis 126,61 und nach der Intervention von 32,34 bis 81,41 (Abb. 40).

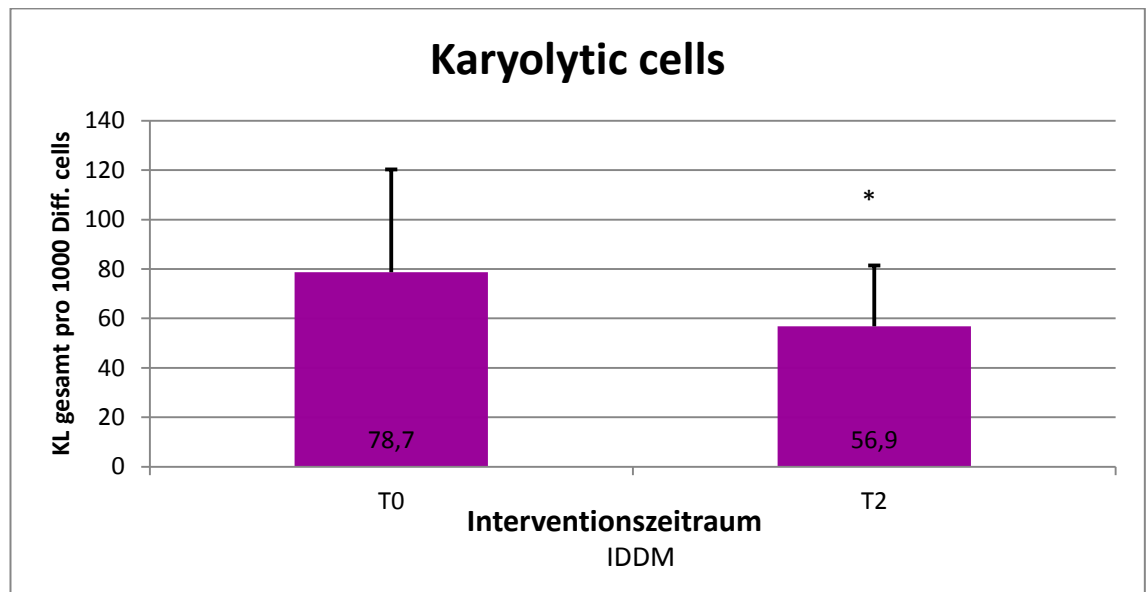


Abb.40: Unterschiede der PC-Häufigkeiten bei IDDM in der Interventionsgruppe (* $p=0,05$ vs T0)

5. DISKUSSION (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

Alters- und Geschlechtsspezifische Unterschiede

Die Studie von FENECH et al., 2005 weist darauf hin, dass das Alter sowie das Geschlecht wichtige Parameter für die MN- Anzahl darstellen. Diese Anzahl ist bei Frauen höher als bei Männern, für beide Geschlechter gilt aber, dass die Anzahl mit dem Alter ansteigt [FENECH et al., 2005].

Zu Beginn der Studie konnten bei den 72 Probanden geschlechtsspezifische Unterschiede für die Biomarker PC und BNC festgestellt werden. Dabei wiesen die Männer jeweils eine signifikant geringere Anzahl auf, bei PC waren die Werte um 43% und bei BNC um 24% geringer. Betrachtet man nur Personen der Gruppe NIDDM, konnten ebenfalls signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede der PC's festgestellt werden. Bei Männern waren hierbei sogar um 82% weniger PC's zu verzeichnen. Bei der Gruppe IDDM konnten zu Beginn der Studie keine geschlechtsspezifischen Unterschiede beobachtet werden.

In der Literatur werden geschlechtsspezifische Unterschiede bei MN-Häufigkeiten diskutiert. Was die Lymphozyten anbelangt ist es bestätigt, dass Frauen höhere Werte an MN aufweisen als Männer [FENECH et al., 2005], während sich in Mundschleimhautzellen widersprüchliche Ergebnisse feststellen lassen.

VUONG et al., (1989) gelangte zu dem Ergebnis, dass Männer zwar weniger Zellen mit einem MN aufweisen als Frauen, aber dafür können bei Männern häufiger Zellen mit zwei oder drei MN vorkommen.

Durch die Ernährungsintervention wurden in der vorliegenden Studie unterschiedliche Ergebnisse, was die BE- Häufigkeiten anbelangt erzielt. Während es bei Männern zu einer Senkung der BE-Häufigkeiten kam, konnte bei Frauen ein Anstieg beobachtet werden. Dies gilt sowohl für die gesamten 72 Probanden, als auch für die einzelnen Gruppen NIDDM und IDDM.

Viele Studien weisen darauf hin, dass das Alter eine gewichtige Rolle im Bezug auf die Anzahl der Anomalitäten spielt [FENECH et al., 2005]. Bei unserer Studie wurden aufgrund der Altershomogenität der Probanden keine Korrelationen zwischen dem Alter und den Biomarkern festgestellt.

Einfluss eines erhöhten Blutzuckerwertes auf Chromosomenschäden

Zwei wichtige Parameter zur Ermittlung des Blutzuckerwertes sind der NBZ-Wert und der HbA1c-Wert, wobei ersterer in der Diagnostik eingesetzt wird. Im Gegensatz zum NBZ misst der HbA1c den durchschnittlichen Blutzuckerspiegel der letzten sechs bis zehn Wochen, wird somit auch als Langzeit-Blutzuckerwert bezeichnet und hat während der Behandlung von Diabetes mellitus Typ II einen höheren Stellenwert. Bis zu einem HbA1c von 7% spricht man bei Diabetes von einer guten Kontrolle [ADA, 2010].

Unterschiede bei den Blutglukose-Parametern ließen sich bei den Gruppen IDDM und NIDDM feststellen.

Lag der NBZ-Wert bei Personen der Gruppe IDDM über 6,12 mmol/l, so konnten niedrigere KL-, MNC,- und MN,- Häufigkeiten festgestellt werden.

Betrachtet man hingegen den HbA1c-Wert, so konnten geringere PC-Häufigkeiten bei der IDDM-Gruppe und geringere BNC-Häufigkeiten bei der NIDDM-Gruppe festgestellt werden, sobald der HbA1c-Wert unter 7% lag.

Die Ergebnisse sind zwar widersprüchlich, man kann aber durchaus annehmen, dass dem HbA1c-Wert in diesem Zusammenhang eine wichtigere Bedeutung zukommt, da dieser den durchschnittlichen Blutzucker über einen längeren Zeitraum widerspiegelt und der NBZ-Wert täglichen Schwankungen unterliegt.

Unterschiede in den Gruppen IDDM, NIDDM, Gesund und IFG

Personen mit Diabetes sind erhöhtem oxidativen Stress ausgesetzt [RAINS et al., 2011]. SEGHROUCHNI et al., (2002) verglichen verschiedene Parameter, wie HbA1c, Lipidparameter, oxidative Stress-Marker und antioxidative Parameter von Diabetes-Patienten mit gesunden Personen.

Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS) sind direkte Marker für oxidativen Stress. TBARS war bei Diabetes Typ 2-Patienten erhöht, bei Diabetes Typ 1-Patienten jedoch unverändert. GSH und α -Tocopherol, sind Antioxidantien, welche Lipide vor der Oxidation schützen sollen. GSH war bei der NIDDM-Gruppe signifikant niedriger als bei Diabetes Typ 1-Patienten, bei α -Tocopherol konnten allerdings keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden [SEGHROUCHNI et al., 2002].

Die Autoren erklärten diese Unterschiede damit, dass Insulin möglicherweise positive Effekte auf Parameter des oxidativen Stress haben könnte. Personen, die medikamentös behandelt wurden, hatten die höchsten Werte an PC's zu verzeichnen, Diabetes-Patienten, die mit Insulin behandelt wurden, hatten um 58% geringere Werte als NIDDM-Probanden. Gesunde Personen wiesen die geringsten Werte auf. Nach der Ernährungsintervention konnten zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede verzeichnet werden [SEGHROUCHNI et al., 2002].

Des Weiteren gehen SEGHROUCHNI et al., (2002) auf das Lipidprofil von Diabetes-Patienten ein: Verglichen mit gesunden Personen war der Plasmatriglycerid-Spiegel signifikant erhöht und das High density Lipoprotein (HDL) hingegen signifikant niedriger, bei LDL-Cholesterin waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

Im Rahmen dieser Studie wurden bei einem LDL-Spiegel ab 4,15mmol/l, eine signifikante Verringerung der BE-Häufigkeiten festgestellt.

Einfluss der Ernährungsintervention

Durch die Ernährungsintervention konnten Veränderungen verschiedenster Biomarker erzielt werden.

Bei PC's waren sowohl in der NIDDM- und der IDDM-Gruppe als auch bei den gesamten 72 Probanden deutlich messbare Senkungen festzustellen.

Bei der IDDM-Gruppe konnte zusätzlich eine signifikante Senkung der KL-Häufigkeiten beobachtet werden, eine Senkung der BNC-Häufigkeiten wurde sowohl beim Gesamtkollektiv als auch in der IDDM-Gruppe erzielt.

Durch die Intervention konnten KR und CC in der NIDDM-Gruppe und beim Gesamtkollektiv signifikant gesenkt werden.

Gründe für die positiven Veränderungen verschiedenster Parameter, könnte die erhöhte Nährstoffaufnahme durch den Konsum von Gemüse und Öl sein.

Diese positiven Effekte von Mikronährstoffen auf Zellanomalitäten werden durch mehrere Studien bestätigt: STICH et al. 1984 erzielten durch eine Supplementation mit Vitamin A und β -Carotin signifikante Senkungen der MN's in Mundschleimhautzellen. Durch eine Supplementation mit Vitamin E wurde des Weiteren eine Reduktion der MN-Häufigkeiten bewirkt. Leider wurden andere Anomalitäten bei diesen Studien nicht berücksichtigt [BENNER et al., 1994].

Einfluss von Vitamin B12 und Folsäure auf Chromosomenschäden

Studien weisen darauf hin, dass Folsäure und Vitamin B12 Einfluss im DNA Metabolismus haben und somit Chromosomenschäden reduzieren können [THOMAS et al., 2011].

Im Rahmen der verglichenen Studie wurde beobachtet, dass Probanden der IDDM-Gruppe mit einem Plasma Folsäure-Spiegel über 30,6nmol/l um 87,5%

geringere BE-Häufigkeiten aufwiesen, als Probanden derselben Gruppe mit einem vergleichsweise niedrigeren Folsäure-Spiegel.

ZUNIGA-GONZALEZ et al., 2007 kamen zu dem Ergebnis, dass die MN-Häufigkeit in Mundschleimhautzellen bei Diabetes-Patienten zweimal so hoch ist wie bei gesunden Personen und dass eine 30ig-tägige Supplementation mit dreimal täglich 5mg Folsäure, zu einer signifikanten Reduktion der MN-Häufigkeiten führt.

Im Rahmen unserer Studie konnte auch ein Einfluss von Vitamin B12 beobachtet werden. Die BE-Häufigkeit war ab einem Vitamin B12 Plasma-Level über 540pmol/l um 62,5% geringer.

Es gibt zwar keine Studien an Mundschleimhautzellen, welche den Zusammenhang von MN und andere Anomalitäten mit Vitamin B12 behandeln, Ergebnisse aus Studien an Lymphozyten weisen aber darauf hin, dass eine Kombination von 700µg Folsäure und 7µg Vitamin B12 nicht nur Homocystein, sondern auch die MN-Häufigkeiten senkt [STOPPER et al., 2008].

Der Einfluss einer Supplementation auf die MN-Häufigkeit

In der NIDDM-Gruppe nahmen 14 Probanden Supplemente wie Magnesium, Multivitamin-Präparate, Vitamin D, Vitamin E oder B-Vitamine ein. Auffällig war, dass Probanden die supplementierten höhere MNC- und MN- Häufigkeiten aufwiesen. Das am häufigsten eingenommene Supplement dabei war Magnesium. Insgesamt nahmen 21 Probanden Magnesium Supplemente, wovon wiederum 12 der Gruppe NIDDM angehörten. Betrachtet man gezielt die Magnesium-Supplementation, kommt es beim Gesamtkollektiv (72 Probanden) und in der Gruppe NIDDM ebenfalls zu einer signifikanten Erhöhung der MNC- und MN-Häufigkeiten bei den Probanden die Magnesium supplementierten.

Aufgrund von Interaktionen mit Insulin spielt Magnesium eine wesentliche Rolle bei Diabetes. Bargaballo beschreibt in seiner Studie, dass vor allem NIDDM-Patienten niedrige intrazelluläre Magnesiumkonzentrationen aufweisen. Dies ist wahrscheinlich auf eine verringerte Tyrosin-Kinase-Aktivität am Insulin-

Rezeptor und auf erhöhte intrazelluläre Calcium-Konzentrationen zurückzuführen. Die erwähnten Effekte sind in diesem Zusammenhang für eine Verminderung der Insulinaktivität und eine Verschlechterung der Insulinresistenz verantwortlich [BARBAGALLO et al., 2003].

Des Weiteren ist bewiesen, dass Magnesium antioxidative Schutzmechanismen moduliert. Ein Mangel an Magnesium führt im Nervengewebe zu einer Verringerung von GSH, ein Effekt der von einer oxidativ bedingten Schädigung („neuronal death“) von Neuronen begleitet wird. Ähnliche Beobachtungen konnten auch in Endothelzellen nachgewiesen werden [REGAN und GUO et al., 2001].

Es sollte aber hierbei erwähnt werden, dass der Zusammenhang zwischen einem Mangel an Magnesium und der oxidativen Schädigung noch immer umstritten ist [WOLF et al., 2003].

Magnesium ist ein essentieller Co-Faktor der Topoisomerase 2 Aktivität, ein Enzym, welches in die Prozesse der DNA-Replikation, der Transkription und der Reparatur involviert ist [COVACCI et al., 2000].

Studien über den Effekt einer Magnesium-Supplementation auf Chromosomenschäden gibt es bis dato keine.

Rauchen und die Auswirkungen auf Chromosomenschäden

Die Mundschleimhaut ist eines der stärksten Angriffsziele für Krebs, welcher durch das Rauchen verursacht wird [NERSESYAN et al., 2006]. 38% aller Krebserkrankungen bei Männern und 23% aller Krebserkrankungen bei Frauen sind auf Rauchen zurückzuführen [SHOPLAND et al., 1995].

Jede Zigarette enthält mehr als 4000 verschiedene Substanzen, davon wiederum handelt es sich bei ca. 50 noch um unbekannte Kanzerogene [HUSGAFVEL-PURSIINEN, 2004].

Probanden die an dieser Studie teilnahmen waren Nichtraucher oder Exraucher. Bei Exrauchern konnten signifikant höhere BE-Häufigkeiten beobachtet werden, während bei MNC's kein signifikanter Unterschied zu bemerken war.

Das Ergebnis, dass die Entstehung von BE's und BNC's empfindlicher auf das Rauchen reagiert als auf MNC's, wird auch durch die Studie von THOMAS et al., (2009) bestätigt.

Des Weiteren wurde auch in der Studie von NERSESYAN et al., (2006) gezeigt, dass die BE-Häufigkeiten bei Rauchern 17-mal höher als bei Nichtrauchern waren. Im Gegensatz dazu war die MN-Häufigkeit nur 3-mal so hoch.

Ergebnisse in Zusammenhang mit Krebs

In der IDDM-Gruppe konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Krebserkrankungen in der Vergangenheit und den Biomarkern KR und CC festgestellt werden. Hierbei ist jedoch zu bemerken, dass es nur drei Personen gab, welche jemals an Krebs erkrankt waren und diese lag in allen Fällen weit zurück. Dieses Ergebnis war nicht zu erwarten, da die Erkrankung bereits seit längerer Zeit austherapiert war.

6. SCHLUSSBETRACHTUNG (Alice Petschnig)

Zusammenfassend betrachtet, kann man sagen, dass es bereits zu Beginn der Studie spezifische Unterschiede verschiedener Biomarker in Bezug auf Lebensstilfaktoren, welche auch in der Literatur diskutiert werden, gab. Durch die Ernährungsintervention kam es bei mehreren Biomarkern zu positiven Veränderungen.

Zu Beginn der Studie konnten bei den Parametern PC und BNC des Gesamtkollektivs und in der NIDDM-Gruppe geschlechtsspezifische Unterschiede ermittelt werden. Die männlichen Probanden wiesen, im Gegensatz zu den weiblichen, geringere Werte auf.

Bei einem geringeren HbA1c-Wert konnten in der NIDDM-Gruppe und in der IDDM-Gruppe geringere BNC,- und PC-Häufigkeiten festgestellt werden. Im Gegensatz dazu waren in der Gruppe IDDM bei einem geringeren NBZ-Wert höhere KL,- MNC- und MN-Werte zu beobachten. Die BE-Häufigkeit war zu T0 bei einem erhöhten Vitamin B12-Spiegel (Gesamtkollektiv) und einem erhöhten Folsäure-Spiegel (IDDM) vermindert.

Durch die Ernährungsintervention kam es bei allen Probanden zu einer Verminderung der Chromosomenschäden, insbesondere in der NIDDM-Gruppe (Tab.9). Die einzige Ausnahme in diesem Zusammenhang stellt der Biomarker BE dar: Hier kam es bei Männern zu einer Senkung, bei den Frauen jedoch zu einem Anstieg.

Tab.9: Beeinflussung der Mutationen in der Mundschleimhaut durch die Ernährungsintervention
(*signifikante Zeit und Geschlecht Interaktion)

Biomarker	Interventionsgruppe	NIDDM	IDDM
PC	↓ 60% (p<0,05)	↓ 67% (p<0,01)	↓ 44% (p<0,05)
BNC	↓ 40% (p<0,01)		↓ 26% (p<0,01)
KR + CC	↓ 34% (p<0,05)	↓ 50% (p<0,01)	
KL			↓ 28% (p<0,05)
BE	m ↓ 60% (p<0,05*) w ↑ 36%	m ↓ 82% (p<0,1*) w ↑ 20%	m ↓ 11% (p<0,1*) w ↑ 11%

7. ZUSAMMENFASSUNG (Alice Petschnig)

Man hat errechnet, dass die Prävalenz für Diabetes bis 2030 weltweit auf 7,7% ansteigen und 439 Millionen Menschen betroffen wird. Im Jahre 2001 lag die Prävalenz für diese Erkrankung vergleichsweise weltweit bei 5,2%. Da es sich bei Diabetes um eine Stoffwechselerkrankung handelt und die betroffenen Personen oft erhöhtem oxidativen Stress ausgesetzt sind, werden Betroffene als Risikogruppe eingestuft.

Das Department für Ernährungswissenschaften der Universität Wien hat im Zuge der DIAPLANT-Studie eine prospektive, randomisierte Interventionsstudie durchgeführt. Insgesamt wurden 99 Probanden rekrutiert, die in vier verschiedene Gruppen (NIDDM, IDDM, Gesund und IFG) eingeteilt wurden. Die Auswertung der Ergebnisse dieser Diplomarbeit basieren jedoch nur auf einen Teilkollektiv von 72 Probanden. Während der acht-wöchigen Intervention wurden täglich 300 g Tiefkühlgemüse und 25ml Interventionsöl konsumiert. Vor und nach der Intervention wurden den Probanden jeweils Mundschleimhautzellen entnommen.

In der Literatur wird diskutiert, dass Typ II Diabetiker wahrscheinlich vermehrt chromosomale Schäden aufweisen und daher unter anderem einem erhöhten Krebsrisiko ausgesetzt sein könnten. Ziel dieser Studie war deshalb zu ermitteln ob eine Ernährungsintervention einen positiven Einfluss auf MN, BE, PC, BNC, KL, KR und CC hat. Diese Parameter stellen Biomarker für chromosomale Schäden und Zelltod dar.

Aufgrund des derzeitigen Wissensstandes ist bekannt, dass verschiedene Mikronährstoffe sowie das Geschlecht Einfluss auf diese Biomarker haben. Dies wird teils durch unsere Ergebnisse bestätigt. Zu Beginn der Studie gab es geschlechtsspezifische Unterschiede bei den PC und BNC Häufigkeiten, wobei Frauen jeweils höhere Häufigkeiten aufwiesen. Des Weiteren hatten die Mikronährstoffe Folsäure und Vitamin B12 einen signifikanten Einfluss auf den Parameter BE. Je besser die Versorgung der beiden Mikronährstoffe war, desto seltener traten Chromosomenschäden auf.

Durch die Intervention konnten die Biomarker PC, BNC, BE, KL, KR und CC gesenkt werden. Wobei beim Biomarker BE sich folgendes Bild ergab: Bei Männern kam es zu einer signifikanten Senkung, wohingegen bei Frauen ein Anstieg zu verzeichnen war.

Bei der Informationsgruppe konnte nur bei der Gruppe NIDDM ein Unterschied bei der BE-Häufigkeit erzielt werden.

Zusammenfassend kann man sagen, dass eine Ernährungsintervention auf Chromosomenschäden in Mundschleimhautzellen einen positiven oft, signifikanten Einfluss hatte.

8. SUMMARY (Alice Petschnig)

Diabetes mellitus is a metabolic disorder characterized by high levels of blood glucose, causing complications which in the long-term can increase the risk of different diseases; therefore these patients are classified as a high risk group. In 2001 the worldwide prevalence of diabetes mellitus was 5,2% and in 2030 it will rise up to 7,7% affecting by then 439 million people.

Within the DIAPLANT project, the Department of Nutritional Sciences of the University of Vienna has performed a prospective, randomized nutritional intervention study to investigate the effect of a nutritional intervention on different biomarkers of DNA damage. Within this thesis the effect on chromosomal damage of buccal cells was investigated.

99 subjects (with Non-Insulin Depended Diabetes Mellitus, Insulin Depended Diabetes Mellitus, healthy, and Impaired Fasting Glucose) took part in this intervention study. For the present work a subpopulation of 72 subjects was evaluated. They were randomly assigned to the control (received information on the potentials of a healthy diet) or intervention group. Subjects of the intervention group had to consume daily 300 g of vegetables and 25 ml of plant oil rich in polyunsaturated fatty acids. Buccal cells were collected from each participant from the inner side of both cheeks before and after 8 weeks of intervention.

At baseline women had higher levels of PC's and BNC's compared to men. Results showed significant differences between the mean frequencies of BE's based on folic acid and vitamin B12 plasma-levels; specifically, subjects with higher levels of folic acid and vitamin B12 had a lower frequency of BE.

Previous studies had established that some micronutrients and the gender of the patients show an influence on biomarkers concerning chromosomal damage. This findings are supported by the results of the present work, which demonstrated that the nutritional intervention with vegetables and oil reduced the levels of PCs, BNCs, BEs, KLs, KR and CCs. Regarding BE the outcome

was different for men (showing a reduction of this biomarker) and for women (showing an increase).

When increased chromosomal damage is observed, patients with Diabetes type II probably have a higher risk for cancer.

The overall result of this study showed that a nutritional intervention has positive effects on chromosomal damage in buccal cells.

9. LITERATURVERZEICHNIS (Marlies Nitz, Alice Petschnig)

- 1) ABDUL-GHANI M A, DEFRONZO RA. Plasma Glucose Concentration and Prediction of Future Risk of Type 2 Diabetes. Diabetes Care 2009; 32: 2.
- 2) ADLER AI, STEVENS RJ, MANLEY SE, BILOUS RW, CULL CA, HOLMAN RR. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes (UKPDS 64). Kidney International 2003; 63: 225-232.
- 3) ADREASSI M B, BARALE R, IOZZO P, PICANO E. The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease. Mutagenesis 2011; 26: 77-83.
- 4) AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2006; 29:1.
- 5) AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Executive Summary: Standards of medical Care in Diabetes-2010. Diabetes Care 2010; 33:1.
- 6) BARBAGALLO M, DOMINGUEZ LJ, GALIOTO A, FERLISI A, CANI C, MALFA L, PINEO A, BUSARDO A, PAOLISSO G. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrom X. Molecular Aspects of medicine 2003; 24: 39-52.
- 7) BAUR DM, KLOTSCHKE J, HAMNVIK OPR, SIEVERS C, PIEPER L, WITTCHEN HU, STALLA GK, SCHMID RM, KALES SN & MANTZOROS CS. Type 2 diabetes mellitus and medications for type 2 diabetes mellitus are associated with risk for and mortality from cancer in a German primary care cohort. Metabolism. 2010

- 8) BENNER SE, WARGOVICH MJ, LIPPMAN SM, FISHER R, VELASCO M, BERGER MM. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition* 2005; 24: 172–183.

- 9) BETANCOURT-ALBRECHT M, CUNNINGHAM GR. Hypogonadism and diabetes. *International Journal of Impotence Research* 2003; 15: 14-20.

- 10) BONASSI M, ZNAOR A, CEPPI M, LANDO C, CHANG W P, HOLLAND N T, KIRSCH-VOLDERS M, ZEIGER E, BAN S, BARAARLE B, BIGATTI M P, BOLOGNESI C, CEBULKA-WASILEWKA A, FABIANOVA E, FUCIC A, HAGMAR L, JOKSIC G, MARTINELLI A, MIGLIORE L, MIRKOVA E, SCARFI M R, ZIJNO A, NORPPA H, FENECH M . An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* 2006; (E-pub).

- 11) BONASSI S, BIASOTTI B, KIRSCHVOLDERS M, KNASMÜLLER S, ZEIGER E, BURGAZ S, BOLOGNESI C, HOLLAND N, THOMAS P, FENECH M. State of the art survey of the buccal micronucleus assay – a first stage in the HUMNXL project initiative. *Mutagenesis* 2009; 24: 295-302.

- 12) BONASSI S, EL-ZEIN R, BOLOGNESI C, FENECH M. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis* 2011; 26: 93-100.

- 13) BONASSI S, ZNAOR A, CEPPI M, LANDO C, CHANG WP, HOLLAND N, KIRSCH-VOLDERS M, ZEIGER E, BAN S, BARALE R, BIGATTI MP, BOLOGNESI C, CEBULSKA-WASILEWSKA A, FABIANOVA E, FUCIC A, HAGMAR L, JOKSIC G, MARTELLI A, MIGLIORE L, MIRKOVA E, SCARFI MR, ZIJNO A, NORPPA H, FENECH M. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* 2007; 28: 625-631.

- 14)BONOVAS S, FILIOUSSI K, TSANTES A. Diabetes mellitus and risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Diabetologia* 2004; 47: 1071-1078.

- 15)BOTTO N, MASETTI S, PETROZZI L, VASSALLE C, MANFREDI S, BIAGINI A, ANDREASSI MG. Elevated levels of oxidative DNA damage in patients with coronary artery disease. *Coron. Artery Dis.* 2002; 13: 269-274.

- 16)BOWKER SL, MAJUMDAR SR , VEUGELERS P & JOHNSON JA. Increased cancer-related mortality forpatients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. *Diabetes Care* 2006; 29: 254-258.

- 17)BROWN JB, PEDULA KL, BAKST AW. The progressive cost of complications in type 2 diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 1999; 159: 1873–1880.

- 18)CERIELLO A, MOTZ E. Is Oxidative Stress the Pathogenic Mechanism Underlying Insulin Resistance, Diabetes and Cardiovascular Disease? The Common Soil Hypotheses Revisited. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2004; 24: 816-823.

- 19)CHARI ST, LEIBSON CL, RABE KG, RANSOM J, DE ANDRADEM, PETERSEN GM. Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study. *Gastroenterology* 2005; 129: 504–511.

- 20)COUGHLIN SS, CALLE EE, TERAS LR, PETRELLI J & THUN MJ. Diabetes Mellitus as a Predictor of Cancer Mortality in a Large Cohort of US Adults. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 1160-1167.

- 21)COVACCI V, BRUZZESE N, SGAMBATO A, GANAPATHI R, CITTADINI A, WOLF, FI. Effect of extracellular magnesium on topoisomerase II activity and expression in human leukemia HL-60 cells. *J. Cell. Biochem.* 2000; 78: 325–333.

- 22) CROTT JW, FENECH M. Effect of vitamin C supplementation on chromosome damage, apoptosis and necrosis ex vivo. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1035-1041.

- 23) CURRIE C, POOLE CD & GALE EA. The influence of glucose-lowering therapies on cancer risk in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2009; 52: 1766-1777.

- 24) DANA EI G, MARIEL M, FINUCANE MM, LU Y, SINGH GM, COWAN MJ, PACIOREK CJ, LIN JK, FARZADFAR F, KHANG YH, STEVENS GA, RAO M, ALI MK, LEANNE M, RILEY, ROBINSON CA, EZZATI M. National, regional and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: a systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet* 2011; 378: 31–40.

- 25) DCMS-News. Diagnostisches Centrum für Mineralanalytik und Spektroskopie DSMS GmbH. Interessantes und Neues aus der Orthomolekularen Medizin. Feb 2003; Ausgabe 4. Adipositas – Risikofaktor für zahlreiche Zivilisationskrankheiten.

- 26) DUNSTAN DW, ZIMMET PZ, WELBORN TA, DE COURTEN MP, CAMERON AJ, SICREE RA, DWYER T, COLAGIURI S, JOLLEY D, KNUIMAN M, ATKINS R, SHAW JE. The Rising Prevalence of Diabetes and Impaired Glucose Tolerance. *Diabetes Care* 2002; 25:829–834.

- 27) ELMADFA I, LEITZMANN C. Ernährung des Menschen. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 2004; 301ff.

- 28) EL-ZEIN R, VRAL A, ETZEL CJ. Cytokinesis-blocked micronucleus assay and cancer risk assessment. *Mutagenesis* 2011; 26: 101-106.

- 29) EMANUELE N, AZAD N, ABRAIRA C, HENDERSEN W, COLWELL J, LEVIN S, NUTTALL F, COMSTOCK J, SAWIN C, SILBERT C, MARCOVINA S, LEE HS. Effect of intensive glycemic control on fibrinogen, lipids, and lipoproteins: Veterans affairs cooperative study in type II diabetes mellitus. *Arch Intern Med.* 1998; 158: 2485-2490.
- 30) ETO I, KRUMDIECK CL. Role of vitamin B12 and folate deficiencies in carcinogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1986; 206: 313–330.
- 31) EVANS JM, DONNELLY LA, EMSLIE-SMITH AM, ALESSI DR, MORRIS AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 2005; 330: 1304-1305.
- 32) FALCK GC-M, CATALÁN I, NORPPA H. Nature of anaphase laggards and micronuclei in female cytokinesis-blocked lymphocytes. *Mutagenesis* 2002; 17: 111-117.
- 33) FENECH M, AITKEN C; RINALDI J. Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis* 1998; 19: 1163-1171.
- 34) FENECH M, BAGHURST P, LUDERER W, TURNER J, RECORD S, CEPPI M, BONASSI S. Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, β -carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability- results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. *Carcinogenesis* 2005; 26: 991-999.
- 35) FENECH M, HOLLAND N, ZEIGER E, CHANG WP, BURGAS S, THOMAS P, BOLOGNESI C, KNASMÜLLER S, KIRSCH- VOLDERS M, BONASSI S. The HUMN and HUMN_{XL} international collaboration projects on human

micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells – past, present and future. *Mutagenesis* 2011; 26: 239-245.

- 36) FENECH M. Micronucleus frequency in human lymphocytes is related to plasma vitamin B12 and homocysteine. *Mutat. Res.* 1999; 428: 299-304.
- 37) FENECH M. The role of folic acid and vitamin B12 in genomic stability of human cells. *Mutat. Res.* 2001; 475: 57–67.
- 38) FENECH MF, DREOSTI IE; RINALDI JR. Folate, vitamin B12, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1329-1336.
- 39) FRIDLYAND LE, PHILIPSON LH. Oxidative Reactive Species in Cell Injury. Mechanisms in Diabetes Mellitus and Therapeutic Approaches. *Annals New York Academy of Sciences* 2005; 1066: 136-151.
- 40) GEISS LS, HERMAN WH, SMITH PJ. Mortality in non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes in America (National Diabetes Data Group)* 1995; S:233–257.
- 41) GIANI G, JANKA HU, HAUNER H, STANDL E, SCHIEL R, NEU A, RATHMANN W, ROSENBAUER J. Epidemiologie und Verlauf des Diabetes mellitus in Deutschland. Evidenzbasierte Leitlinie DDG – Aktualisierung 05/2004.
- 42) GIOVANNUCCI E, HARLAN DM, ARCHER MC, BERGENSTAL RM, GAPSTUR SM, HABEL LA, POLLAK M, REGENSTEINER JG, YEE D. Diabetes and Cancer. *Diabetes Care* 2010; 33:7.
- 43) HAGMAR L, STROMBERG U, BONASSI S, HANSTEEN IL, KNUDSEN LE, LINDHOLM C, NORPPA H. Impact of types of lymphocyte chromosomal

aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts. Cancer Res. 2004; 64: 2258-2263.

- 44) HALLIWELL B, GUTTERRIDGE JMC. Free radicals in biology and medicine, third Edition 2004; 246ff.
- 45) HALLIWELL B. Antioxidants in human health and disease. Anna Rev. Nutr 1996; 16: 33-50.
- 46) HÄRING HU, JOOST HG, LAUBE H, MATTHAEI S, MEISSNER HP, PANTEN U, SCHERNTHANER G. Antihyperglykämische Therapie des Diabetes mellitus Typ 2. Evidenzbasierte Leitlinien der DDG - Stand 05/2003.
- 47) HARTGE MM, UNGER T, KINTSCHER U. The endothelium and vascular inflammation in diabetes. Diabetes Vasc. Dis. Res. 2007; 4:84–88.
- 48) HARVEY JN, RIZVI K, CRANEY L, MESSENEGR J, SHAH R, MEADOWS PA. Population-based survey and analysis of trends in the prevalence of diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. Diabetic Medicine 2001; 18: 998-1002.
- 49) HENRIKSSON F, JÖNSSON B. Diabetes: the cost of illness in Sweden. J Intern Medicine 1998; 244: 461–468.
- 50) HOLLAND N, BOLOGNESI C, KIRSCH-VOLDERS M, BONASSI S, ZEIGER E, KNASMUELLER S, FENECH M. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. Mutat. Res. 2008; 659: 93-108.

- 51) HUSGAFVEL-PURSIAINEN K. Genotoxicity of environmental tobacco smoke. A review. *Mutagenesis Research* 2004; 567: 427-445.
- 52) HÜTER P, DANNE T. Diabetes bei Kindern und Jugendlichen. 6. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg 2005; S: 119 -122.
- 53) IARMACOVAI G, CEPPI M, BOTTA A, ORSIERE T, BONASSI S. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: A meta-analysis. *Mutation Research* 2008; 659: 274-283.
- 54) INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. The IDF consenses worldwide definition of the metabolic syndrome. 2011.
http://www.idf.org/webdata/docs/MetS_def_update2006.pdf 07.11.2011.
- 55) INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. What is Diabetes. Diabetes Atlas 2009. <http://www.idf.org/diabetesatlas/what-is-diabetes> 14.06.2011.
- 56) JAMES WPT, JACKSON-LEACH R, MHURCHU CN, KALAMARA E, RIGBY MSNJR, NISHIDA C, RODGERS A. Oberweight and obesity. Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attribution to selected major risk factors. Vol. 1. Geneva, World Health Organisation, 2004: 497-596.
<http://www.who.int/publications/cra/chapters/volume1/part3/en/index.html>
- 57) JENKINS AJ, HILL MA, ROWLEY KG. Diabetes and Oxidant Stress Atherosclerosis and Oxidant Stress: A New Perspective. (J.L. Holtzman), Springer 2007; S: 123-144.
- 58) JOHANSEN JS, ALEX K HARRIS AK, RYCHLY DJ & ERGUL A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology* 2005; 4: 5.

- 59) KASPER JS und GIOVANNUCCI E. A meta-analysis of diabetes mellitus and the risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 2006; 15: 2056-2062.
- 60) KERNER W, BRÜCKEL J, BÖHM B O. Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Evidenzbasierte Leitlinie DDG – Aktualisierung 10/2004*; S: 4.
- 61) KING H, AUBERT RE, HERMAN WH. Global Burden of Diabetes, 1995–2025 Prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21:9
- 62) KONOPACKA M, WIDEL M, RZESZOWSKA-WOLNY J. Modifying effect of vitamins C, E and beta-carotene against gamma-ray-induced DNA damage in mouse cells. *Mutat. Res.* 1998; 417: 85–94.
- 63) KROLEWSKI AS, WARRAM JH, VALSANIA P, MARTIN BC, LAFFEL LM, CHRISTLIEB AR. Evolving natural history of coronary artery disease in diabetes mellitus. *Am J Med* 1991; 90: 56-61.
- 64) LANDMAN GW, KLEEFSTRA N, VAN HATEREN KJJ, GROENIER KH, GANS ROB & BILO HJG. Metformin associated with lower cancer mortality in type 2 diabetes: ZODIAC-16. *Diabetes Care* 2010; 33: 322-326.
- 65) LIPSCOMBE LL, GOODWIN PJ, ZINMAN B, MCLAUGHLIN JR, HUX JE. The impact of diabetes on survival following breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2008; 109: 389–395.
- 66) LOPEZ AD, MATHERS CD, EZZATI M, JAMISON DT, MURRAY CJ. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet* 2006; 367: 1747-1757.

- 67)MACHADO-SANTINELLI G M, CERQUERA E M, OLIVIERA C T, PEREIRA C A. Biomonitoring of nurses handling antineoplastic drugs. *Mutat. Res.* 1994; 439: 203-208.
- 68)MARION B. Diabetes mellitus, Krankheit, Krankheitsursachen und – bilder, 2010; 84-86.
- 69)MARTINEZ-PEREZ LM, CERDA-FLORES, GALLEGOS-CABRIALES EC, DAVILA-RODRIGUEZ MI, IBARRA-COSTILLA E, CORTES-GUTIERREZ EI. Frequency of micronuclei in Mexicans with type 2 diabetes mellitus. *Prague med. Rep.* 2007; 108: 248-255.
- 70)MATTHAEI S, BIERWIRTH R, FRITSCH A, GALLWITZ B, HÄRING UH, JOOST HG, KELLERER M, KLOOS C, KUNT T, NAUCK M, SCHERNTHANER G, SIEGEL E, THIENEL F. Medikamentöse antihyperglykämische Therapie des Diabetes mellitus Typ Evidenzbasierten Leitlinie der Deutschen Diabetes-Gesellschaft. *Diabetologie* 2009; 4: 32–64.
- 71)MOORE L E, WARNE M L, SMITH A H, KALMAN D & SMITH M T. Use of the fluorescent micronucleus assay to detect the genotoxic effects of radiation and arsenic axposure in exfoliated human epithelial cells. *Environ. Mol. Mutagen* 1996; 27: 176-184.
- 72)NATHAN DM, BUSE JB, DAVIDSON MB, FERRANNINI E, HOLMAN RR, SHERWIN R, ZINMAN B. American Diabetes Association, European Association for Study of Diabetes. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32:193–203.

- 73)NERSESYAN A, KUNDI M, ATEFIE K, SCHULTE-HERMANN R, KNASMÜLLER S. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2006; 15: 1835-1840.
- 74)Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consulation. Geneva, World Health Organisation 2000 (WHO Technical Report Series No.894); 20.08.11.
http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/index.html
- 75)ÖSTERREICHISCHE DIABETES GESELLSCHAFT. Was ist Diabetes.
<http://www.oedg.org/diabetes.html> 15.06.2011.
- 76)PROJA N K, PASZKIEWICS GM, NASCA M A, FRANKE G E, PAULY J L. Smoking and smokeless tobacco- associated human buccal cell mutations and their association with oral cancer-a review. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2006; 15: 1061-107.
- 77)RAINS JL, JAIN SJ. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology & Medicine* 50 2011; 567–575.
- 78)REGAN RF, GUO Y. Magnesium deprivation decreases cellular reduced glutathione and causes oxidative neuronal death in murine cortical cultures. *Brain Res.* 2001; 890: 177–183.
- 79)RIEDER A, RATHMANNER T, KIEFER I, DORNER T, KUNZE M. Österreichischer Diabetes Bericht, Daten Fakten Strategien. 2004; 15, 251ff
- 80)RODRIGUEZ BL, D'AGOSTINO R, ABBOTT RD, KAGAN A, BURCHFIEL CM, YANO K, ROSS GW, SILBERSHATZ H, HIGGINS MW, POPPER J, WOLF PA, CURB JD. Risk of hospitalized stroke in men enrolled in the

Honolulu Heart Program and the Framingham Study: a comparison of incidence and risk factor effects. *Stroke* 2002; 33: 230- 236.

- 81) RÖSEN P, NAWROTH PP, KING G, MÖLLER W, TRITSCHLER HJ, PACKE L. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN. The American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes Metab Res Rev.* 2001; 17: 189–212.
- 82) ROSIN M P & GERMAN J. Evidence for chromosome instability in vivo in Bloom syndrome: increased numbers of micronuclei in exfoliated cells. *Hum. Genet.* 1985; 71: 187-191.
- 83) SATOH K, SAKAGAMI H. Effect of metal ions on radical intensity and cytotoxic activity of ascorbate. *Anticancer Res* 1997; 17: 1125–1129.
- 84) SCHNEIDEER M, DIEMER K, ENGELHART K, ZANKL H, TROMMER WE, BIESALSKI HK. Protective effects of vitamins C and E on the number of micronuclei in lymphocytes in smokers and their role in ascorbate free radical formation in plasma. *Free Radic. Res.* 2001; 34: 209-219.
- 85) SEGHROUCHNI I, DRAI J, BANNIER D, RIVIÉRE J, CALMARD P, GARCIA I, ORGIAZZI J, REVOL A. Oxidative stress parameters in type 1, type 2 and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clinica Chimica Acta* 2002; 321: 89-96.
- 86) SHAW J E, SICREE R A, ZIMMET P Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and clinical practice* 2010; 87: 4–14.
- 87) SHI Q, KING RW. Chromosome nondisjunction yields tetraploid rather than aneuploid cells in human cell lines. *Nature* 2005; 437: 1038-1042.

- 88) SHOPLAND DR. Tobacco use and its contribution to early cancer mortality with a special emphasis on cigarette smoking. Environ health Perspect 1995; 103: 131-142.
- 89) SPIVACK S D, HURTEAU GJ, JAIN R, KUMAR SV, ALDOUS KM, GIERTHY JF, KAMINSKY LS. Gene-environment interaction signatures by quantitative mRNA profiling in exfoliated buccal mucosal cells. Cancer Res. 2004; 64: 6805-6813.
- 90) STATISTIK AUSTRIA. Chronische Krankheiten 2006/2007; 20.07.11.
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/gesundheit/gesundheitszustand/chronische_krankheiten/index.html#index1
- 91) STEPPEL JH, HORTON ES. Beta-cell failure in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Curr. Diab. Rep. 2004; 4:169–175.
- 92) STICH HF, ROSIN MP, HOMBY AP, MATHEW B, SANKARANARAYANAN R, NAIR MK. Remission of oral leukoplakias and micronuclei in tobacco/betel quid chewers treated with beta-carotene and with beta-carotene plus vitamin A. Int. J. Cancer 1988; 42: 195-199.
- 93) STICH HF, STICH W, ROSIN MP, VALLEJERA MO. Use of the micronucleus test to monitor the effect of vitamin A, beta-carotene and canthaxanthin on the buccal mucosa of betel nut/tobacco chewers. Int. J. Cancer 1984; 34: 745-750.
- 94) STOPPER H, TREUTLEIN AT, BAHNER U, SCHUPP N, SCHMID U, BRINK A, PERNA A, HEIDLAND A. Reduction of the genomic damage level in haemodialysis patients by folic acid and vitamin B12 supplementation. Nephrol. Dial. Transplant. 2008; 23: 3272-3279.

- 95) STRANGE R, LI F, SAURER S, BURKHARDT A, FRIIS RR. Apoptotic cell death and tissue remodeling during mouse mammary gland involution. *Development* 1992; 115: 49-58.
- 96) SURMINSKI O. Ganganalytische Besonderheiten bei Patienten mit diabetischer Neuropathie am Ganganalytisches System Gang AS. 2003; S:1.
- 97) SURRALLS J, AUTIO K, NYLUND L, JARVENTAUS H, NORPPA H, VEIDEBAUM T, SORSA M, PELTONEN K. Molecular cytogenetic analysis of buccal cells and lymphocytes from benzene-exposed workers. *Carcinogenesis* 1997; 18: 817-823.
- 98) THOMAS P, HARVEY S, GRUNER T & FENECH M. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutat. Res.* 2007; 638: 37-47a.
- 99) THOMAS P, HECKER J, FAUNT J & FENECH M. buccal micronucleus cytome biomarkers may be associated with Alzheimer's disease. *Mutagenesis* 2007; 22: 371-379b.
- 100) THOMAS P, HOLLAND N, BOLOGNESI C, KIRSCH-VOLDERS M, BONASSI S, ZEIGER E, KNASMÜLLER S, FENECH M. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.* 2009; 4: 825-837.
- 101) THOMAS P, WU J, DHILLON V, FENECH M. Effect of dietary intervention on human micronucleus frequency in lymphocytes and buccal cells. *Mutagenesis* 2011; 26: 69-76.
- 102) TITENKO-HOLLAND N, JACOB RA, SHANG N, BALARAMAN A, SMITH MT. Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of

- postmenopausal women with dietary changes in folate. *Mut. Res.* 1998; 417: 101-114.
- 103) TRAUTNER C, HAASTERT B, RICHTER B, BERGER M, GIANI G. Incidence of blindness in Southern Germany due to glaucoma and degenerative conditions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 1031-1034.
- 104) U.K. PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (33). *Lancet* 1998; 352: 837-53.
- 105) VIGNERI P, FRASCA F, SCIACCA L, PANDINI G, VIGNERI R. Diabetes and cancer. *Endocrine-Related Cancer* 2009; 16: 1103-1123.
- 106) VUONG Q. Likelihood ratio tests for model selection and non-nested hypotheses. *Econometrica* 1989; 57: 307-334.
- 107) WENG J, LI Y, XU W, SHI L, ZHANG Q, ZHU D, HU Y, ZHOU Z, YAN X, TIAN H, RAN X, LUO Z, XIAN J, YAN L, LI F, ZENG L, CHEN Y, YANG L, YAN S, LIU J, LI M, FU Z, CHENG H. Effect of intensive insulin therapy on beta-cell function and glycaemic control in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a multicentre randomised parallel-group trial. *Lancet* 2008;371: 1753–1760.
- 108) WINN RJ, HONG WK. Reduction in oral mucosa micronuclei frequency following alpha-tocopherol treatment of oral leukoplakia. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1994; 3: 73–76.
- 109) WOLF FI, TORSELLO A, FASANELLA S, CITTADINI A. Cell physiology of magnesium. *Molecular Aspects of medicine* 2003; 24: 11-26.

- 110) WYLLIE AH. Cell Death: A New Classification Separating Apoptosis from Necrosis. Chapman and Hall Ltd, London, 1981; 9-34.
- 111) YANG YX, HENNESSY S & LEWIS JD. Insulin therapy and colorectal cancer risk among type 2 diabetes mellitus patients. Gastro-enterology 2004; 127: 1044-SO.
- 112) ZHANG SM, WILLETT WC, SELHUB J, HUNTER DJ, GIOVANNUCCI EL, HOLMES MD, COLDITZ GA, HANKINSON SE. Plasma folate, vitamin B6, vitamin B12, homocysteine, and risk of breast cancer. J. Natl Cancer Inst. 2003; 95: 373–380.
- 113) ZIEGLER D, GRIES FA, MÜHLEN H, RATHMANN W, SPÜLER M, LESSMANN F. Prevalence and clinical correlates of cardiovascular autonomic and peripheral diabetic neuropathy in patients attending diabetes centers. Diabetes Metabolism. 1993; 19: 143-151.
- 114) ZUNIGA-GONZALEZ GM, BATISTA-GONZALEZ CM, GOMEZ-MEDA PC, RAMOS-IBARRA ML, ZAMORA-PEREZ AL, MUNOZ-MAGALLANES T, RAMOS-VALDES C, GALLEGOS-ARREOLA MP. Micronuclei in diabetes: folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. Mutat. Res. 2007; 634: 126-134.

CURRICULUM VITAE

Familienname, Vorname	Nitz Marlies
Hauptwohntort	Ischiast. 14, 39100 Bozen
Studienwohntort	Seeböckgasse 34a/31 1160 Wien
Telefon	0039/3384896189 0043/06509129297
Email	a0509178@unet.univie.ac.at marliesnitz@hotmail.com
Geburtstag, -ort	18.09.1986 in Bozen (Italien)
Staatsbürgerschaft	italienische
Familienstand	ledig

Schulische Ausbildung

seit 2005	Universität Wien Ernährungswissenschaften
2000-2005	Oberschule Handelsoberschule H. Kunter (Bozen)
1997-2000	Mittelschule A. Stifter (Bozen)
1992-1997	Volkschule Rosmini (Bozen)

Praktikas

März -August 2010	<u>Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Wien</u> im Rahmen einer klinischen Interventionsstudie mit Typ 2 Diabetikern
Juli - August 2010	<u>Hanusch Krankenhauses in Wien</u> in der Küche und im Diätbüro
Juni - Juli 2009	<u>Staud's</u> (Marmeladeproduzent in Wien) in der Abteilung Sortierung und Eingangskontrolle

Juli - August 2008	<u>Labor für Lebensmittelanalysen der Provinz Bozen</u> mit Lebensmitteltechnologe Dr. Luca D'Ambrosio
Juli - August 2006	<u>Verbraucherzentrale Bozen</u> mit Ernährungswissenschaftlerin Mag. Barbara Telser

Zusätzliches

- Teilnahme und Poster Präsentation (The impact of a dietary intervention on chromosomal damage in buccal cells on subjects with typ II diabetes) am wissenschaftlichen Symposium ASTOX/ANTIOX im November 2011
- Teilnahme am ISFE Symposium 2011
- Teilnahme am Ernährungswissenschaftlichem Kolloquium im Sommersemester 2009 und Wintersemester 2009/2010
- Teilnahme an der Jahresversammlung der ÖGE 2009

Sontige Arbeitserfahrung

Februar 2010	Promotorin für das Archäologiemuseum in Bozen
Februar 2007/2008	Promotorin für „Die lange Nacht der Museen“ in Bozen
August 2007	Apfelerntehelferin
Oktober 2004 – Juni 2005	Bademeisterin und Schwimmlehrerin bei SSV Bozen
Juni - August 2004	Kassiererin im Lido Kaltern
September 2004	Entwicklungshelferin für Romakinder

2-wöchiger Aufenthalt in Albanien mit dem
Verein Alba

Onlus

Jänner 2003 – August 2004 ehrenamtliche Tätigkeit im Zuge des
Projekts „Vinzibus“ für Obdachlose in Bozen

Juli - August 2002/03 Gärtnerei Psenner (Bozen)

Sprachkenntnisse Deutsch (Muttersprache), Italienisch (fließend)
und Englisch (fließend)

EDV- Kenntnisse Office Programme, SPSS Statistics 17.0

Führerschein Klasse B

Hobbys -1995-2008 Leistungsschwimmerin bei SSV Bozen
und SC Diana (Wien)
-2008, 09 und 10 Teilnahme am Dm-Frauenlauf
in Wien

Sonstige Ausbildung 2004 Bademeisterausbildung