



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Oxidativer Stress und der Einfluss von Antioxidantien
in der Entstehung und dem Krankheitsverlauf
von Diabetes Mellitus Typ II

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin:	Walpurga Goebel
Matrikel-Nummer:	0408159
Studienrichtung:	A 474 Ernährungswissenschaften
Betreuer:	o. Univ.-Prof. Mag. Dr. Ibrahim Elmadfa

Wien, im März 2010

Danksagung

Ich möchte diese Gelegenheit nutzen, um einige Worte des Dankes zu formulieren:

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn o. Univ.-Prof. Dr. Ibrahim Elmadfa für die Übernahme dieses Diplomarbeitsthemas sowie für die freundliche Betreuung während meiner Arbeit bedanken. Ein besonders herzlicher Dank gebührt Frau Dr. Elisabeth Fabian, die mir mit viel Engagement und Fachwissen bei jedem noch so kleinen Problem zur Seite gestanden ist. Auch allen Personen aus dem universitären Bereich, die mich auf unterschiedlichste Art und Weise im Lauf meines Studiums unterstützt und begleitet haben, möchte ich ganz herzlich danken.

Meiner Mutter möchte ich danken, dass sie meine naturwissenschaftliche Begeisterung vom Kindesalter an geweckt und gefördert hat. Bei meiner Großmutter möchte ich mich ebenfalls herzlichst bedanken für ihr Verständnis und ihre motivierende sowie finanzielle Unterstützung.

Bei meinen Studienkolleginnen, die meine Studienzeit so besonders gemacht haben, möchte ich mich bedanken für lustige, arbeitsreiche, spannende und unvergessliche Laborübungen, Seminararbeiten, Exkursionen, Abende, Reisen und vieles mehr.

Ein außerordentlicher Dank gebührt meinem Lebensgefährten Georg Hummitzsch, der mir während des gesamten Studiums mit Motivation, Aufmunterung, Beruhigung und Ablenkung mit viel Geduld zur Seite gestanden ist.

DANKE!

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung und Fragestellung	1
2 Einführung	2
2.1 Diabetes Mellitus	2
2.1.1 Epidemiologie	2
2.1.2 Ätiologie & Pathogenese	5
2.1.3 Therapie DM-II	9
2.1.4 Komplikationen und Spätfolgen des DM-II	10
2.2 Radikalstoffwechsel und Oxidativer Stress	17
2.2.1 Freie Radikale	17
2.2.2 Oxidativer Stress	20
2.2.3 Antioxidative Schutzsysteme	23
3 Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von Diabetes Mellitus II	28
3.1 Insulinresistenz und oxidativer Stress	28
3.1.1 Entstehung von Insulinresistenz	28
3.1.2 Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von Insulinresistenz	30
3.2 β -Zell-Dysfunktion und Oxidativer Stress	36
3.2.1 Allgemeine Aspekte der β -Zell-Dysfunktion	36
3.2.2 Einfluss von oxidativem Stress auf die β -Zell-Dysfunktion	37
3.3 Einfluss von Antioxidantien auf die Entstehung auf Diabetes Mellitus II	46
3.3.1 Antioxidantien in der Prävention von Diabetes Mellitus II	47
3.3.2 Einfluss von Antioxidantien auf Sekretion und Wirkung von Insulin	49
4 Oxidativer Stress und Antioxidantien im Krankheitsverlauf von Diabetes Mellitus II ..	
.....	53
4.1 Entstehung von oxidativem Stress durch diabetische Stoffwechsellage	53
4.1.1 Einfluss von Hyperglykämie auf die Entstehung von oxidativem Stress	54
4.1.2 Einfluss von Lipiden auf die Entstehung von oxidativem Stress	59
4.1.3 Einfluss von Insulin auf die Entstehung von oxidativem Stress	60

4.2	Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von diabetischen Folgekrankheiten.....	61
4.2.1	Direkter Einfluss von oxidativem Stress auf diabetische Folgeerkrankungen.....	61
4.2.2	Indirekter Einfluss von oxidativem Stress auf diabetische Folgeerkrankungen.....	64
4.2.3	Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von vaskulären Erkrankungen.....	66
4.2.4	Einfluss von oxidativem Stress auf spezielle diabetische Komplikationen.. ..	68
4.3	Antioxidantien in der Therapie von Diabetes Mellitus II.....	73
4.3.1	Allgemeine Wirkung von Antioxidantien.....	74
4.3.2	Spezielle Krankheitsbilder	76
5	Schlussbetrachtung.....	83
6	Zusammenfassung.....	87
7	Summary	88
	Literaturverzeichnis	89
	Lebenslauf.....	106

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Schätzungen der Altersverteilung von Typ II Diabetes	3
Abb. 2 Strategische Ansätze zur Diabetes-Prävention.....	5
Abb. 3 Hypothetische Entwicklungsstufen	6
Abb. 4 Hyperglykämie-abhängige Stoffwechselwege.....	11
Abb. 5 Polyolstoffwechselweg	12
Abb. 6 Nicht enzymatische Glykosylierung	13
Abb. 7 Entstehung von Radikalen.....	17
Abb. 8 Mechanismus der Superoxid-abhängigen Schädigung	18
Abb. 9 Oxidativer Stress durch Ungleichgewicht zwischen TAC und ROS	21
Abb. 10 Integrierte antioxidative Schutzsysteme der Zelle	24
Abb. 11 Normale Insulinsignal-kaskade	29
Abb. 12 Schematische Darstellung der Randle Hypothese.....	32
Abb. 13 Signalwege der IRS-1 Hemmung durch FFA	33
Abb. 14. „Prädiabetischer Teufelskreis“	37
Abb. 15 Schematische Darstellung der Glukotoxizität.....	39
Abb. 16 . Biochemische Wege der Insulinsekretion	40
Abb. 17 Möglicher molekularer Mechanismus der Glukotoxizität bei Diabetes.....	41
Abb. 18 Schematische Darstellung der Lipotoxizität assoziierten Apoptose	45
Abb. 19 Bildung und Wirkung von freien Radikalen durch Glukose und Lipiden	54
Abb. 20 . Hyperglykämie-induzierte Stoffwechselwege und der Einfluss des Superoxid-Radikals.....	56
Abb. 21 FFA induzierte Radikalbildung und Entstehung der endothelialen Dysfunktion	59
Abb. 22 Wirkung von Hyperglykämie-induzierter Superoxid-Produktion auf die Synthese von Stickstoffmonoxid	62
Abb. 23 Physiologische Effekte und zelluläre Mechanismen einer PKC-Aktivierung ..	65
Abb. 24 Molekularer Mechanismus der vaskulären Komplikationen	68
Abb. 25 Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von Mikrovaskulären Komplikationen.....	69

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Diagnostische Werte	7
Tab. 2: Vergleich der beiden häufigsten Diabetes-Typen.....	9
Tab. 3 Differenzialtherapeutische Entscheidungshilfe bei DM-II	10
Tab. 4 Diabetische Spätkomplikationen	16
Tab. 5 Pathogenetische Bedeutung freier Radikale und ihrer sekundären Produkte	20
Tab. 6 Mechanismen der antioxidativen Schutzwirkung.....	23
Tab. 7 Übersicht nicht-enzymatischer Antioxidantien	25
Tab. 8 Übersicht der wichtigsten enzymatischen Antioxidantien	26

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AGE	Advanced glycosylation end product
ADP	Adenosindiphosphat
ALA	α -Liponsäure
ALADIN	Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy
ALT	Alanin-Aminotransferase
AMP	Adenosinmonophosphat
AP-1	Activating Protein 1
AR	Aldosereduktase
ASK 1	Apoptosesignal-regulierende Kinase 1
ATP	Adenosintriphosphat
BH ₄	Tetrahydrobiopterin
BHA	Butiliertes Hydroxyanisol
BHT	Butyl-Hydroxytoluen
Bsp.	Beispiel
BZ	Blutzucker
bzw.	beziehungsweise
CHAOS	Cambridge Heart Antioxidant Study
cm	Zentimeter
CoA	Coenzym A
CODE-2	Cost of Diabetes Europe – Type 2
COX-2	Cyclooxygenase-2
CuZn-SOD	Kupfer und Zink abhängige Superoxiddismutase
d	Tag
DAG	Diacylglycerol
d.h.	das heißt
DHAP	Dihydroxyacetonphosphat
DIALA-OÖ	Diabetesbetreuung Land Oberösterreich
dL	Deziliter
DM	Diabetes Mellitus

DM-I	Diabetes Mellitus Typ 1
DM-II	Diabetes Mellitus Typ 2
DNA	Desoxyribonucleinsäure
eNOS	endotheliale NO-Synthase
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ERK	extracellular signalregulated kinase
ESR	Elektronenspinresonanz
Etc.	et cetera
FAD	Flavin-Adenin-Dinucleotid
FFA	free fatty acid
FFQ	food frequency questionnaire
FGÖ	Fonds Gesundes Österreich
FLM	Fibrin-Like Material
FOXO1	Forkhead box O1
g	Gramm
GAD	Glutamantdecarboxylase
GAPDH	Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
GDM	Gestationsdiabetesmellitus
GFAT	Glutamin:Fruktose-6-P-Aminotransferase
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
GLUT	Glukosetransporter
GSH	Glutathion
GSH-Px	Glutathion-Peroxidase
GSK 3	Glykogensynthasekinase 3
GSSG	Glutathiondisulfid
h	Stunde
H ⁺	Wasserstoffproton
HbA _{1c}	glykosyliertes Hämoglobin A (Adult) 1c
HLA	Humanes Lymphocytenantigen
HOCl	Hypochlorige Säure
H ₂ O ₂	Hydrogenperoxid

HOPE	Heart Outcomes Prevention Evaluation
IAA	Insulin-Autoantikörper
IA-2	Antikörper gegen Tyrosinphosphatase IA-2
IAPP	islet amyloid polypeptide
ICA	Inselzellantikörper
ICAM-1	intercellular adhesion molecule 1
IDF	International Diabetes Federation
IGF-1	Insulin-like-growth factor-1
IKK	inhibitory protein- κ B Kinase
IL	Interleukin
iNOS	induzierbare NO-Synthase
IR	Insulinrezeptor
IRAS	Insulin Resistance and Atherosclerosis Study
IRS	Insulinrezeptor-Substrat
JNK	c-Jun N-Terminale Kinase
KAT	Katalase
LA	lipoic acid, Liponsäure
LADA	latent autoimmune diabetes in adults
LDL	Low Density Lipoprotein
LOO $\cdot$	Lipid-Peroxyl-Radikal
Maf	mammalian homologue of avian
MAP	Mitogen aktivierte Proteinkinasen
MAPK	MAP-Kinase
MAPKKK	MAPK-Kinase-Kinase
mg	Milligramm
mmol	Millimol
mNADH	mitochondriales NADH
Mn-SOD	Manganabhängige Superoxiddismutase
mRNA	messenger RNA
mTOR	mammalian Target of Rapamycin
NAC	N-Acetylcystein
NAD $^{+}$	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid

NADP ⁺	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NF-κB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NHANES III	National Health and Nutrition Examination Survey
NIDDM	Non insulin dependent diabetes mellitus
NIS	Neuropathy Impairment Score
NMR	nuclear magnetic resonance, Kern(spin)resonanzspektroskopie
NO	Stickstoffmonoxid
NO [•]	Stickoxid-Radikal
NÖ GKK	Niederösterreichische Gebietskrankenkasse
NOX	NADPH oxidase
8-OHdG	8-Hydroxydeoxyguanosin
¹ O ₂	Singuletsauerstoff
O ₂ ^{•-}	Superoxidanion-Radikal
O ₃	Ozon
OGTT	Oraler Glukosetoleranztest
OH [•]	Hydroxylradikal
oxLDL	oxidiertes LDL
PAI-1	plasminogen activator inhibitor-1
PARP	Poly-ADP-Ribose-Polymerase
PDX-1	pancreatic/duodenal homeobox-1
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PI ₃ K	Phosphatidyl-Inositol-3-Kinase
PKB	Proteinkinase B
PKC	Proteinkinase C
POPADAD	prevention of progression of arterial disease and diabetes
RAGE	Rezeptor für AGE
RNA	Ribonukleinsäure
RNS	Reactive nitrogen species
ROS	Reactive oxygen species
RSS	Reactive sulfur species
SAPK	Stress activated protein Kinase
SDH	Sorbitdehydrogenase

Ser	Serin
SH2	Sarc-Homologie 2
SOD	Superoxid-Dismutase
SPACE	Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease
SU.VI.MAX	SUplémentation en VIamines et Minéraux Anti-oXydants
Tab.	Tabelle
TAC	total antioxidant capacity
TG	Triglycerid
TGF- β 1	transforming growth factor β 1
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
3T3	3-day transfer, inoculum 3×10^5 cells."
UCP 2	uncouplin protein 2
UDP-Glc-NAc	Uridindiphospho-N-acetylglucosamin
UL	Upper Level
ULSAM	Uppsala Longitudinal Study of Adult Men
v.a.	vor allem
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
VEGF	vascular endothelial growth factor
Vit.	Vitamin
WHO	World Health Organization
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung und Fragestellung

Diabetes, insbesondere der früher als „Altersdiabetes“ bezeichnete Diabetes Mellitus Typ II (DM-II) zählt heute weltweit gesehen zu einer der häufigsten Erkrankungen. Laut Angaben der International Diabetes Federation waren im Jahr 2007 bereits rund 6% der Weltbevölkerung von der Krankheit betroffen. Schätzungen zu Folge, wird sich dieser Anteil bis zum Jahr 2025 auf ca. 7% erhöhen [International Diabetes Federation, 2007].

Die stetig, insbesondere bei jüngeren Personen, steigende Prävalenz des DM-II wird von Gesundheitsbehörden vielfach als besorgniserregend bezeichnet. Als Hauptursache hierfür wird v.a. ein ungesunder Lebensstil (Überernährung, Bewegungsmangel) vermutet.

Die genauen molekularen Vorgänge der Pathogenese und Progression von DM-II sind bislang noch nicht vollständig geklärt. Oxidativer Stress ist an der Entstehung zahlreicher Krankheiten beteiligt und es häufen sich Daten, die einen Zusammenhang zwischen DM-II und oxidativem Stress aufzeigen. Zahlreiche Studien belegen, dass Diabetiker unter anderem deutlich erniedrigte antioxidative Kapazitäten bzw. erhöhten oxidativen Stress aufweisen. Gleichzeitig fördert eine diabetische Stoffwechsellage die Bildung von freien Radikalen im Körper und trägt somit zur weiteren Progression der Erkrankung bei.

Antioxidantien dienen dem Körper als Schutz vor freien Radikalen und könnten daher mitunter einen positiven Nutzen in der Prävention und/oder Therapie von DM-II haben. Die bekanntesten Vertreter sind Vitamin C und Vitamin E, aber vielen Substanzen wie sekundäre Pflanzeninhaltsstoffen oder Medikamenten wird eine antioxidative Wirkung zugeschrieben.

Ziel dieser Arbeit ist es, die molekularen Stoffwechselvorgänge von oxidativem Stress in der Entstehung und dem Krankheitsverlauf von DM-II darzustellen, sowie den Nutzen und die Sicherheit von Antioxidantien in der Prävention und Therapie der Krankheit aufzuzeigen und zu diskutieren.

2 Einführung

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1 Epidemiologie

2.1.1.1 Weltweit

Typ II Diabetes (DM-II) zählt zu den weltweit häufigsten nicht infektiösen Krankheiten, 85-90% aller Diabetesfälle sind diesem Typ zuzuordnen. Als Hauptursachen für die steigende Prävalenz und Inzidenz werden zum einen ein ungesunder Lebensstil (v.a. Überernährung, Bewegungsmangel) und zum anderen die erhöhte Lebenserwartung insbesondere in den Industrieländern angegeben. Zusätzlich muss berücksichtigt werden, dass „gut-eingestellte“ Diabetiker ($HbA_{1c} < 6,5$) durch verbesserte medizinische Versorgung heutzutage ein höheres Alter erreichen können.

Die Staaten mit den meisten Diabetespatienten sind Indien, China und die USA. Insbesondere die steigende Inzidenz in den so genannten Entwicklungsländern ist alarmierend. Neben der ständig ansteigenden Zahl von Diabetespatienten, stellt insbesondere die steigende Zahl der an „Alterdiabetes“ (DM-II) erkrankten Kinder und Jugendlichen, deren Ursache meistens Adipositas und die genetische Prädisposition ist, eine weitere Herausforderung für die Gesundheitssysteme dar (Abb.1) [RIEDER et al., 2004; RAKOVAC et al., 2009].

Die „International Diabetes Federation“ (IDF) hat für das Jahr 2007 errechnet, dass 5,9% der Weltbevölkerung beziehungsweise 264,1 Millionen Menschen an Diabetes erkrankt waren. Im Jahr 2025 wird ein Anstieg auf 380,1 Millionen Diabetiker weltweit prognostiziert, dies entspricht einem Anteil von 7,1% der Weltbevölkerung [IDF, 2009].

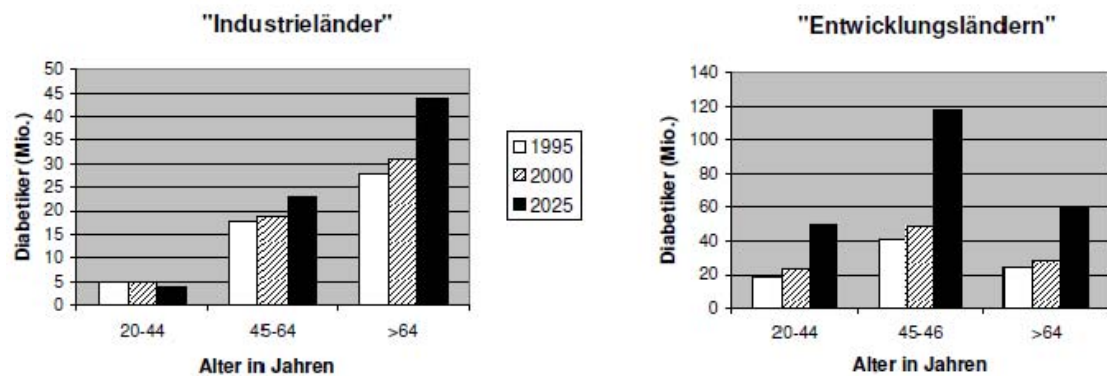


Abb. 1 Schätzungen der Altersverteilung von Typ II Diabetes (Mod. nach RIEDER et al., 2004)

2.1.1.2 Österreich

Die WHO schätzte im Jahr 2000, dass 2,1% der Österreicher von Diabetes betroffen waren [RIEDER et al., 2004]. Bei der Gesundenuntersuchung 2006/07 waren bereits 5,9% der Befragten von Diabetes betroffen, wobei sich zeigte, dass mit steigendem Alter nicht nur die Diabetesprävalenz zu, sondern auch die geschlechtsspezifischen Unterschiede zunahmen. Bei den über 75-Jährigen berichteten 19% der Männer und 23% der Frauen über diagnostizierten Diabetes [KLIMONT et al., 2007]. Die IDF schätzte, dass 11,1% der Bevölkerung in Österreich im Jahr 2007 von Diabetes betroffen waren [IDF, 2009]. Eine Ursache der unterschiedlichen Prävalenzangaben von DM-II sind die verschiedenen Schätzungen von nicht diagnostizierten Diabetesfälle, die selbst in den Industrienationen mit 50% der diagnostizierten Fälle sehr hoch sein dürften [RIEDER et al., 2004].

2.1.1.3 Mortalität

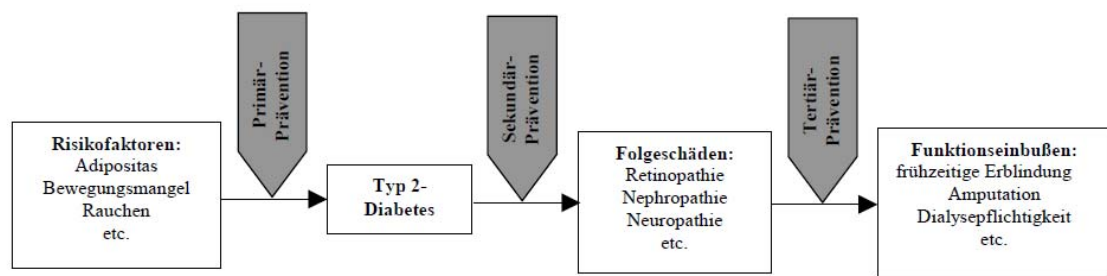
3,8 Millionen Menschen sind 2007 an den Folgen von Diabetes mellitus gestorben, dies entspricht 6% der weltweiten Gesamtmortalität [IDF, 2009]. In Österreich lag die Zahl der Diabetestoten im Jahr 2007 bei 3115 [KLIMONT et al., 2007]. Diabetiker haben auf Grund der zahlreichen Folgeerkrankungen eine um 5 bis 10 Jahre verringerte Lebenserwartung. Die Hälfte aller Todesfälle ist auf koronare Herzerkrankungen zurückzuführen [RIEDER et al., 2004].

2.1.1.4 Diabetes abhängige Kosten

Aufgrund der hohen Prävalenz und den häufig auftretenden Komorbiditäten verursacht Diabetes mellitus bzw. die Behandlung von Folgeerkrankungen enorme Kosten. 2007 wurden weltweit zwischen 230 und 420 Milliarden Dollar für Diabetes-Patienten ausgegeben. Für das Jahr 2025 wird mit Kosten von 300 bis 560 Milliarden Dollar gerechnet [IDF, 2009]. Die „Cost of Diabetes in Europe - Type 2 Study“ (CODE-2) ermittelte in den acht teilnehmenden Ländern (Belgien, Frankreich, Deutschland, Niederlande, Spanien, Schweden und Großbritannien) 1999 jährliche Behandlungskosten von 2.834€ pro Patient. 55% der Kosten entfielen dabei auf stationäre Aufenthalte. Diabetes abhängige Medikamente (Insulin, orale Antidiabetika) verursachten hingegen lediglich 7% des finanziellen Aufwandes. Diabetiker mit Folgeerkrankungen, insbesondere mit mikro- bzw. makrovaskulären Komplikationen, verursachen laut dieser Studie um bis zu 250% mehr Kosten verglichen mit Diabetikern ohne derartige Komplikationen. Durch die immer häufigere Diagnose von DM-II besonders auch im jüngeren Alter und die steigende Lebenserwartung der Diabetiker (Komplikationen nehmen jedoch mit Krankheitsdauer zu) sind enorme Kosten für die Gesundheitssysteme vorprogrammiert [JÖNSSON, 2002; RIEDER et al., 2004].

2.1.1.5 Präventionsansätze in Österreich

Der Schwerpunkt der Prävention in Österreich liegt in Schulungsprogrammen, die im Zuge der Sekundärprävention (Abb.2) die Entstehung von Folgeerkrankungen verhindern sollen. Derzeit gibt es bereits einige bundesländerweite Programme für die Patientenschulung (z.B. DIALA-OÖ, Steirisches Schulungsprogramm, Modell Burgenland, etc.), die aber nach Experteneinschätzung unbedingt noch weiter ausgebaut werden muss [GOLLMER et al., 2005].



Quelle: ÖBIG

Abb. 2 Strategische Ansätze zur Diabetes-Prävention [GOLLMER et al., 2005]

Zahlreiche Projekte zur Vermeidung von Übergewicht (z.B. „Schlank ohne Diät“ NÖ GKK, „Gesunde Jause“, etc.) dienen u.a. auch der Primärprävention von Diabetes mellitus. Die Entdeckung nicht diagnostizierter Diabetiker spielt bei einigen Projekten ebenfalls eine wichtige Rolle („Gesunde Gemeinden“ FGÖ). Auch die „Vorsorgeuntersuchung Neu“ (1.10.2005) hat zum Ziel durch Beratung (Lebensstilaspekte) und Früherkennung einer gestörten Glukosetoleranz bzw. einer bereits manifesten Erkrankung 33% der Diabetesschäden bis 2020 zu verhindern. Generell kann festgestellt werden, dass in Österreich zwar ein Diabetesplan aus dem Jahr 2005 vorhanden ist, aber an der Umsetzung noch viel zu tun ist [GOLLMER et al., 2005].

2.1.2 Ätiologie & Pathogenese

2.1.2.1 Physiologie des Blutzuckers (BZ)

Beim Stoffwechselgesunden wird die Nüchtern-Blutglukosekonzentration zwischen 60 – 110 mg/dL (3,3 - 6,1 mmol/dL) konstant gehalten. Die wichtigsten Hormone für die BZ-Regulation sind Insulin, Glucagon, Adrenalin und Cortison.

Insulin wird in den β -Zellen der Langerhans Inselzellen des Pankreas gebildet und senkt den BZ-Spiegel durch Glukoseeinstrom in die Körperzellen. Insulin ist somit ein anaboles Hormon und fördert die Synthese von Glykogen, Protein und Fettsäuren und hemmt zusätzlich die Lipolyse. Die Sezernierung wird durch Glucose, gastrointestinale Hormone und bestimmten Aminosäuren stimuliert und durch die Anwesenheit von Katecholaminen inhibiert. **Glucagon** wird von den α -Zellen des Pankreas gebildet und

ist der Hauptantagonist des Insulins. Glucagon stimuliert in der Leber die Glykogenolyse und die Gluconeogenese, was letztlich in einem BZ-Anstieg resultiert. **Adrenalin** mobilisiert ebenfalls die Energiereserven durch Glykogenabbau (in Leber und Muskel) und Lipolyse. **Cortison** stimuliert die Gluconeogenese [MEHNERT et al., 2003].

2.1.2.2 Diabetes Mellitus Typ II – Definitionen, Diagnose, Risikofaktoren

Definitionen

DM-II ist eine Glukosestoffwechselstörung und wurde früher auch als Altersdiabetes oder NIDDM (= non insulin dependent diabetes mellitus) bezeichnet, aufgrund der immer häufiger werdenden Diagnose bereits im Kindesalter und der zunehmenden Notwendigkeit des Insulinspritzens sind diese Bezeichnungen heute jedoch nicht mehr zeitgemäß [WHO, 2008].



Abb. 3 Hypothetische Entwicklungsstufen (mod. nach MEHNERT et al., 2003)

Die klinische Manifestation ist charakterisiert durch Insulinresistenz am Zielgewebe (v.a. Muskel) und relativen Insulinmangel, wobei eine gestörte Glukosetoleranz (**Abb. 3**) und dadurch bedingt erhöhte BZ-Werte (Tab.1) als Vorstufe des DM-II gesehen werden. Der chronische Verlauf von DM-II führt häufig zu einem vollständigen Versagen der β -Zellen (= insulinpflichtiger DM) [MEHNERT et al., 2003].

Diagnose

Eigen- und Familienanamnese sowie eine klinische Untersuchung ist für die Abklärung eines Verdachts auf DM-II von großer Bedeutung [MEHNERT et al., 2003]. Die Diagnose wird durch die mehrfache Messung erhöhter Blutglukosewerte (Tab.1) an zwei verschiedenen Tagen gestellt.

Der **orale Glukosetoleranztest** (OGTT) dient der zusätzlichen Bestätigung eines klinischen Verdachts. Dabei werden 50-100g (meist 75g) Glukose in Wasser gelöst oral verabreicht und nachfolgend wird der BZ-Wert innerhalb von 2 Stunden viermal gemessen und entsprechend kategorisiert (Tab.1) [RODEN, 2007].

Tab. 1 Diagnostische Werte (mod. nach RODEN, 2007)

Klassifikation	Glukosekonzentration					
	Vollblut				Plasma	
	venös		kapillar		venös	
	mmol/l	mg/dl	mmol/l	mg/dl	mmol/l	mg/dl
Diabetes mellitus						
nüchtern ODER	>6,1	>110	>6,1	>110	≥7,0	≥126
2 h Wert (OGTT)	≥10,0	≥180	≥11,1	≥200	≥11,1	≥200
Gestörte Glukosetoleranz						
nüchtern	5,0-6,1	90-109	5,0-6,1	90-109	5,6-6,9	100-125
2 h Wert (OGTT)	6,7-9,9	120-179	7,8-11,1	140-199	7,8-11,1	140-199
Normoglycämie						
nüchtern	<5,0	<90	<5,0	<90	<5,6	<100
2 h Wert (OGTT)	<6,7	<120	<7,8	<140	<7,8	<140

Für die Beurteilung der Restfunktion der β -Zellen werden Hormonanalysen von C-Peptid, Insulin und Proinsulin basal und nach Stimulation (z.B. Glucagon oder Glucose) herangezogen [RODEN, 2007].

Die Bestimmung des glykosylierten Hämoglobins (**HbA_{1c}**) ist das wichtigste Maß für die Beurteilung der BZ-Einstellung im Zeitraum der vergangenen 1-2 Monate, da das

glykosylierte Hämoglobin durch die Dauer von Hyperglykämien ansteigt. Die Normwerte für den HbA_{1c} Stoffwechselgesunder schwanken je nach Labor zwischen 4-6% des Gesamthämoglobins. Für DM-II-Patienten liegt der Zielwert bei Normwert + 1% und wird von Fachgesellschaften häufig mit < 6,5% angegeben [HIEN und BÖHM, 2005].

Risikofaktoren für DM-II

Unbeeinflussbar

- o *Ethnie*: Die ethnische Zugehörigkeit hat einen großen Einfluss auf das DM-II-Risiko (z.B.:Japaner:1,6%; Nauru: 30,7%) [MEHNERT et al., 2003; IDF, 2009].
- o *Genetik*: Die familiäre Disposition ist bei DM-II stark ausgeprägt. Kinder mit einem DM-II-kranken Elternteil haben ein um 25-50% erhöhtes Risiko selbst einen DM-II zu entwickeln [MEHNERT et al., 2003].
- o *Alter*: Das Alter an sich ist kein Risikofaktor, es nehmen vielmehr die Risikofaktoren an sich zu und damit die Wahrscheinlichkeit an DM-II zu erkranken.
- o *Niedriges Geburtsgewicht* ist v.a. bei einer raschen Gewichtszunahme im Kindesalter mit erhöhtem DM-II-Risiko assoziiert [RIEDER et al., 2004].

Beeinflussbar

- o *Adipositas*: Besonders viszerale Fettablagerungen, gilt als Risikofaktor für DM-II. Der Taillenumfang sollte bei Frauen < 80 cm und bei Männern < 94 cm liegen.
- o *Westliche Lebensstilfaktoren*: unausgewogene Ernährung, verstärkter Alkoholkonsum, Rauchen und Bewegungsmangel stellen ebenso typische Risikofaktoren für die Entstehung einer DM-II dar [RIEDER et al., 2004].

Andere Typen des Diabetes mellitus

Diabetes Mellitus Typ I (früher auch als Jugenddiabetes bezeichnet) macht weniger als 10% aller Diabetesfälle aus. Bei dieser Form des DM kommt es meist bedingt durch eine immunologisch vermittelte Zerstörung der β -Zellen zu einem absoluten Insulinmangel (Tab. 1). Eine Sonderform ist LADA (latenter autoimmuner Diabetes der

Erwachsenen), diese tritt erst im Erwachsenenalter auf und ist durch langsameren Verlust der Insulinsekretion gekennzeichnet.

Gestationsdiabetes (GDM) ist jener Diabetes, der während der Schwangerschaft beginnt bzw. entdeckt wird. Es kann sich dabei sowohl um Typ II als auch Typ I (10%) handeln. Nach der Geburt verschwindet der Diabetes meistens wieder, jedoch haben Patientinnen mit GDM ein erhöhtes Risiko in späterer Folge einen DM-II zu entwickeln [KAUTZKY-WILLER et al., 2007].

Andere spezifische Diabetes-Typen können die verschiedensten Ursachen haben: Erkrankungen des exokrinen Pankreas, (Pankreatitis, Cystische Fibrose), endokriner Organe, diverse medikamentös-chemische Ursachen, Infektionen oder genetische Defekte [RODEN, 2007].

Tab. 2 Vergleich der beiden häufigsten Diabetes-Typen [RODEN, 2007]

Kriterium	Typ 1 Diabetes	Typ 2 Diabetes
1. Häufigkeit	Selten, <10%	Häufig, ~90%
2. Manifestationsalter	Meist Jüngere, <40 a (Ausnahme: LADA)	Meist Ältere >40 a, zunehmend frühere Manifestation
3. Körpergewicht	Meist normalgewichtig	Meist übergewichtig, adipös
4. Symptome	Häufig	Seltener
5. Ketoazidose-Neigung	Ausgeprägt	Fehlend oder nur gering
6. Familiäre Häufung	Gering	Typisch
7. Plasma C-Peptid	Meist niedrig bis fehlend	Meist normal bis erhöht
8. Inselzell-Antikörper	85–95% + (GAD, ICA, IA-2, IAA)	–
9. HLA-Assoziation	+ (HLA-DR/DQ)	–
10. Insulintherapie	sofort erforderlich	Oft erst nach längerem Verlauf

2.1.3 Therapie DM-II

Ziel der DM-II Therapie ist eine Optimierung der Blutglukoseeinstellung und damit eine Minimierung der Spätkomplikationen. Im Gegensatz zu DM-I ist die Therapie von DM-II vielfältig und sollte individuell (Alter, Gewicht, Diabetesdauer, Folgeerkrankungen, HbA_{1c}) angepasst sein (Tab.3):

- o Lebensstilmaßnahmen (gesunde Ernährung, Bewegung) immer indiziert
- o Pharmakotherapie (orale Antidiabetika) nach Bedarf
- o Insulintherapie nach Bedarf [HIEN und BÖHM, 2005].

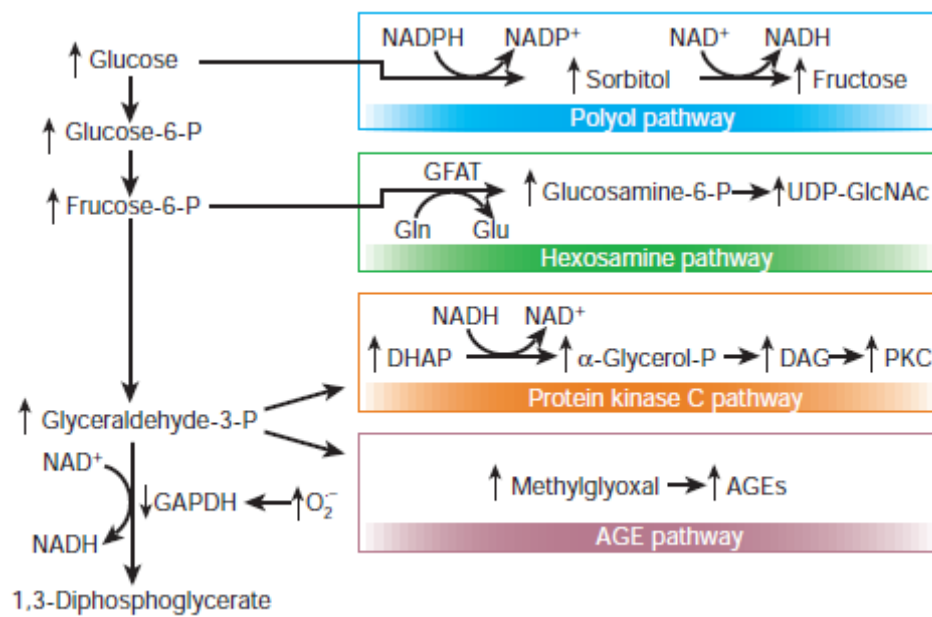
Tab. 3 Differenzialtherapeutische Entscheidungshilfe bei DM-II (mod. nach HIEN und BÖHM, 2005)

Patient	Vermutungen	Antidiabetika
Adipös	Hyperinsulinämie → nicht- & insulintrophe Pharmaka	Metformin, Thiazolidindion, Acarbose, Sulfonylharnstoff, präprandiale Insulingaben
Schlank	Hypoinsulinämie → insulintrophe Pharmaka	Sulfonylharnstoff, Glinide, Insulin

2.1.4 Komplikationen und Spätfolgen des DM-II

2.1.4.1 Biochemische Grundlagen von Folgeerkrankungen

Gemeinsame Grundlage für die Entstehung von Spätfolgen bei DM ist eine anhaltende Hyperglykämie, bei der es zu einer nicht-glykolytischen Verwendung der Glukose bzw. zu Reaktionen zwischen Glukose und Proteinen (bzw. Zellen) kommt. Die Pathogenese der Spätkomplikationen ist sehr komplex und noch nicht vollständig erforscht [MEHNERT et al., 2003]. Die am häufigsten diskutierten Stoffwechselwege sind dabei der Polyolstoffwechselweg, die nicht enzymatische Glykosylierung und Entstehung von Folgeprodukten, die Proteinkinase C sowie der Hexosamin-Stoffwechselweg (Abb. 4) [BROWNEE, 2001]. Die vermehrte Bildung von radikalen Sauerstoffspezies durch die hyperglykämische Stoffwechsellaage wird als verbindendes Element der Stoffwechselwege gesehen. So vermindert das gebildete Hydroxid die Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität (GAPDH), dies führt zur Aktivierung aller Stoffwechselwege der hyperglykämischen Schädigung [ROLO und PALMEIRA, 2006].



AGE	Advanced glycosylation end products	GFAT	Glutamin:Fructose-6-P-Aminotransferase	NADP⁺	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
DAG	Diacylglycerol	Gln	Glutamin	PKC	Proteinkinase C
DHAP	Dihydroxyacetonphosphat	Glu	Glutamat	UDP-GlcNAc	Uridindiphospho-
GAPDH	Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase	NAD⁺	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid		N-Acetylglucosamin

Abb. 4 Hyperglykämie-abhängige Stoffwechselwege [BROWNLEE, 2001]

a. Polyolstoffwechselweg (↑ Aktivität der Aldolase)

Bei Hyperglykämie kommt es durch verstärkte Aldolaseaktivität zur Anhäufung und Akkumulation von Sorbit (ein Polyol) bzw. (durch Umwandlung mittels Sorbitdehydrogenase) Fructose, was folglich zur Schädigung des Nervengewebes bzw. einer diabetischen Neuropathie (Abb. 5) führt. Der osmotische Effekt der Polyole (Flüssigkeitsanreicherung) ist bei der Entstehung von diabetischem Katarakt wie auch Neuropathien bekannt und wird nun auch in Zusammenhang mit Makroangiopathien diskutiert [MEHNERT et al., 2003]. Weiters könnte die vermehrte Verwendung von NADPH im Polyolstoffwechsel zu oxidativem Stress führen, da weniger NADPH für die Regeneration von oxidiertem Glutation zur Verfügung steht. Zusätzlich könnte die NADPH-anhängige Stickstoffmonooxid (NO)-Synthese beeinträchtigt werden und ein daraus resultierender, erniedrigter endothelialer NO-Level zu einer Gefäßkonstriktion führen [GUGLIUCCI, 2000].

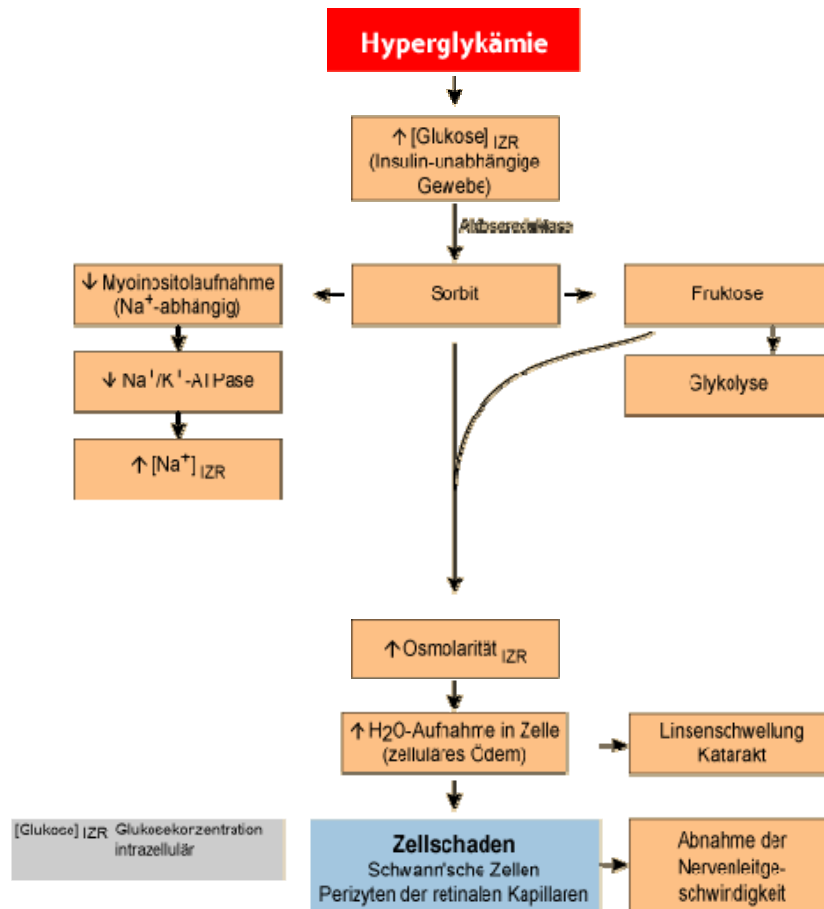


Abb. 5 Polyolstoffwechselweg [SPINAS und HEITZ, 2004]

b. Nichtenzymatische Glykosylierung (AGE)

AGE (Advanced glycosylation end products) entstehen bei Glykosylierung von Proteinen über diverse Reaktionswege und tragen durch deren Anlagerung an den Gefäßwänden und dem damit verbundenen Elastizitätsverlust zur Entstehung von diabetischen Mikro- und Makroangiopathien bei [MEHNERT et al., 2003]. Die pathologischen Wirkungen von AGEs sind vielfältig (Abb.6), so erhöhen AGEs z.B. die Gefäßpermeabilität, den Einstrom von Monozyten und die Zellproliferation. Möglicherweise modifizieren AGEs LDL-Cholesterin-Partikel (eine verminderte Rezeptoraffinität wird vermutet) und verstärken so eine Hyperlipidämie, die bei Diabetikern häufig ist [RIEDER et al., 2004]. Die Bindung von AGEs an AGE-Rezeptoren (RAGE) von Makrophagen, Monozyten, Endothel- und Mesangium-zellen stimuliert die Freisetzung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen wie z.B. Interleukin-1 (IL-1) und Tumornekrosefaktor- α (TNF α) aus Makrophagen. In den Endothelzellen werden reaktive Sauerstoffverbindungen ausgeschüttet, welche neben oxidativem Stress

auch den Transkriptionsfaktor NFκB (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells) aktivieren, dieser führt zu Endothelveränderungen, die die Thrombusbildungen begünstigen [GUGLIUCCI, 2000]. Des Weiteren wird vermutet, dass AGE-Proteine mit der zellulären DNA interagieren und so Langzeiteffekte auslösen, die auch nach Normalisierung des BZ zur Progression von diabetischen Spätfolgen führen könnten [MEHNERT et al., 2003].

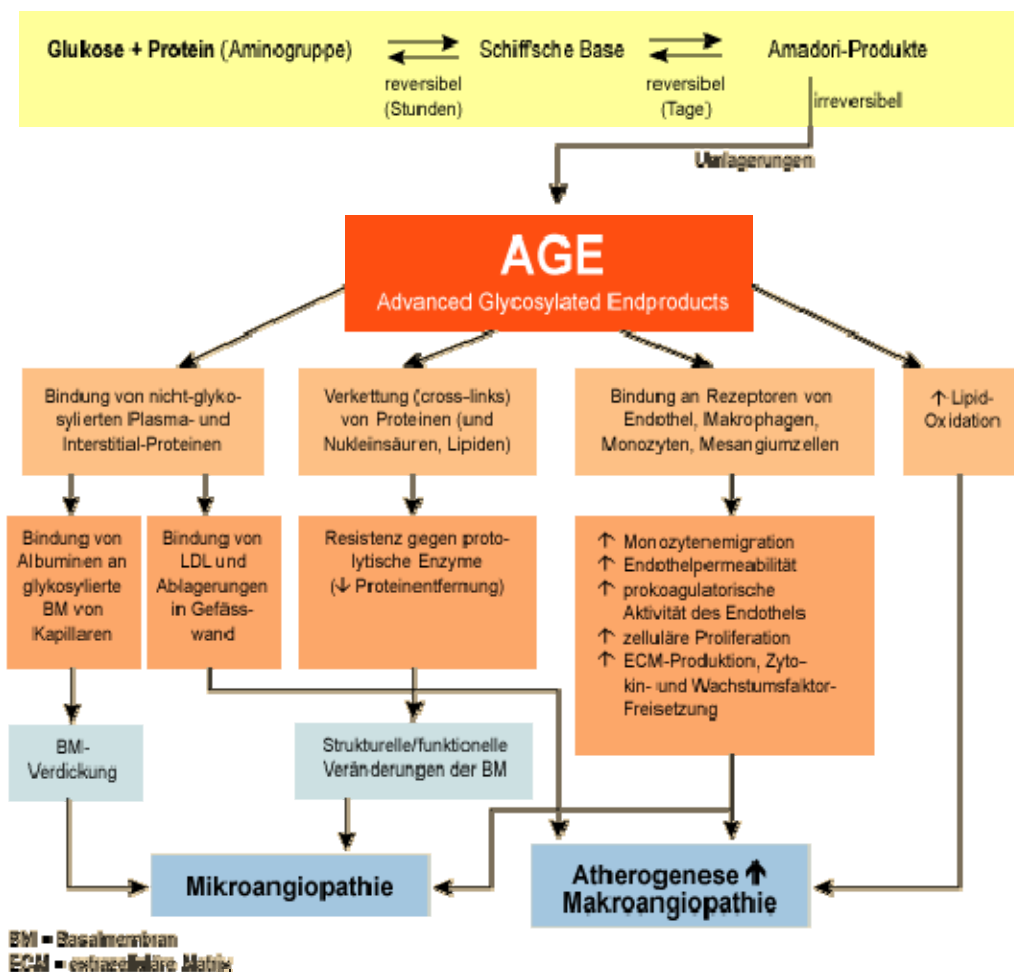


Abb. 6 Nicht-enzymatische Glykosylierung [SPINAS und HEITZ, 2004]

c. Proteinkinase C Stoffwechselweg

Die Proteinkinase C (PKC) wird durch einen BZ-bedingt erhöhten Diacylglycerolspiegel (bzw. α-Glyzerophosphatlevel) sowie durch gebildete freie Radikale (induziert durch AGE) verstärkt aktiviert. Eine vermehrte PKC-Aktivität führt zu vaskulären Veränderungen wie einem veränderten Blutfluss, erhöhter Gefäßpermeabilität sowie

Konstriktion und zu einer veränderten Zellproliferation - dies begünstigt die Entstehung von Bluthochdruck und Atherosklerose [GUGLIUCCI, 2000].

d. Hexosamin Stoffwechselweg

Die Aktivierung des Hexosamin-Stoffwechsels führt im menschlichen Körper zu Änderungen der Genexpression bzw. Veränderungen von Proteinfunktionen, welche mikrovaskuläre/renale Komplikationen mitverursachen. Die genauen Mechanismen sind unklar [BROWNLEE, 2001]. Unter physiologischen Bedingungen werden 2-5% der Glukose über den Hexosamin Weg abgebaut, während einer Hyperglykämie wird vermehrt Glukose in diesen Weg eingeschleust. Das Endprodukt des Hexosamin Stoffwechsels UDP-N-acetylglucosamin ist als Substrat für z.B. Transkriptionsfaktoren nötig und beeinflusst so die Genexpression wie etwa PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) oder TGF- β 1 (transforming growth factor), diese Veränderungen führen zu diabetischen Mikroangiopathien [ROLO und PALMEIRA, 2006]. Zusätzlich wird die NO-Synthese inhibiert und die Proteinkinase C aktiviert, dies verstärkt die vaskulären Schädigungen [BROWNLEE, 2001]. Es gilt als gesichert, dass eine Überexpression von GFAT (Abb. 4) Insulinresistenz im Tierversuch hervorruft, beim Menschen wird dies ebenfalls vermutet [BUSE, 2006].

2.1.4.2 Akutkomplikationen

Akute diabetische Komplikationen können unter anderem Schockzustände auslösen und somit akut lebensbedrohlich sein. Die beiden wichtigsten sind:

a. Hypoglykämie und hypoglykämischer Schock

Als Hypoglykämie bezeichnet man den Abfall des BZ unter den Normalbereich, wobei in der Literatur eine schwere Hypoglykämie mit einem BZ $<50\text{mg/dL}$ angegeben wird. Ursachen für eine Hypoglykämie sind ein absolut oder relativ zu hoher Insulinspiegel, der durch zu hohe Medikamentengabe, geringe Kohlenhydrataufnahme oder körperliche Anstrengung entstehen kann. Es besteht die Gefahr eines hypoglykämischen Schocks der durch Symptome wie Schwitzen, Zittern, Krämpfen und Bewusstlosigkeit gekennzeichnet ist [HIEN und BÖHM, 2005].

b. Diabetisches Koma („Coma diabeticum“)

Auslöser kann entweder eine Ketoazidose oder eine Hyperglykämie ohne Ketonkörperbildung sein [RIEDER et al., 2004]. Ursache ist meist ein absoluter Insulinmangel (DM-I, mangelnde Insulinsubstitution) und selten ein relativer Mangel (Überwiegen der antagonistischen Hormone) mit Symptomen wie Störungen des Sensoriums bis hin zum Koma [HIEN und BÖHM, 2005].

2.1.4.3 Spätkomplikationen

Die erhöhte Mortalität der Diabetiker ist vor allem den Folgeerkrankungen und hier besonders den Angiopathien zuzuschreiben. Bei DM-II sind bei ungenügender Diabeteseinstellung (unabhängig vom sonstigen Risikoprofil) Angiopathien häufig. Weitere Risikofaktoren wie Rauchen, Bluthochdruck oder Hyperlipidämie erhöhen das Risiko von vaskulären Folgeerkrankungen [MEHNERT et al., 2003].

Makroangiopathien manifestieren sich im Herz-Kreislauf-System d.h. betreffen die großen (makro) Gefäße und kommen bei Diabetikern gehäuft vor.

Mikroangiopathien verursachen die diabetes-typischen Komplikationen (Tab. 4) wie Neuropathien, Schäden an Augen bzw. Nephropathien und betreffen sehr kleine (mirko) Gefäße. Neuropathien ist die häufigste Spätkomplikation bei DM-II und hängt stark von der Dauer und Einstellung des Diabetes ab.

Das diabetische Fußsyndrom hat sowohl Mikro- als auch Makroangiopathien sowie neuropathische Störungen als Ursache [RIEDER et al., 2004].

Tab. 4 Diabetische Spätkomplikationen (mod. nach RIEDER et al., 2004)

Spätkomplikation	Manifestation	Ursache(n)
1. Makroangiopathie	koronare Herzerkrankung Schlaganfall Gefäßverschluss der unteren Extremitäten (Gangrän)	Atherosklerose
2. Mikroangiopathien		advanced glycosylation
Retinopathie und Makulopathie	diffuse Wandverdickungen an Auge und Augenhintergrund, reduziertes Sehvermögen bis zur Erblindung	(end)products (z. B. HbA _{1c}) → Schädigung extrazellulärer Proteine des Bindegewebes sowie intrazellulärer
Nephropathie (Glomerulosklerose)	Erhöhung des intraglomerulären Filtrationsdrucks, Verdickung der Basalmembranen, Mikroalbuminurie, Nephropathie mit Proteinurie, Hypertonie, Niereninsuffizienz	Strukturproteine (HbA _{1c} hat größere Affinität zu O ₂ als normales Hb → reduzierte Sauerstoffabgabe ins Gewebe → Retinopathie)
3. Neuropathie		in Nierenglomeruli, Retina, Augenlinse und Nerven reagiert
sensomotorische Neuropathie	symmetrische Missempfindungen, Taubheitsgefühle und Schmerzen in den unteren Extremitäten	Glucose zu Sorbit (Aldolasereduktase), das zu Fructose weiterreagiert (Sorbitoldehydrogenase) →
Diffuse motorische Polyneuropathie	generalisierte Muskelatrophie und –schwäche, meist ohne Schmerzen und Sensibilitätsstörungen	Fructoseakkumulation führt zu osmotischem Stress → Gewebeschädigung oxidativer Stress → Aktivierung der Proteinkinase C → Gefäßanomalien an Retina, Nieren, Herz
autonome Neuropathie	Störungen der Organe, die vom autonomen Nervensystem innerviert werden: Herz (Ruhetachykardie), Gastrointestinaltrakt (Motilitätsstörungen), Harnblase, männliche Geschlechtsorgane (erektile Dysfunktion)	
Diabetisches Fußsyndrom	Läsionen, Ulkusbildung, mangelndes Abheilen	Neuropathie und/oder periphere Durchblutungsstörungen

2.2 Radikalstoffwechsel und Oxidativer Stress

2.2.1 Freie Radikale

2.2.1.1 Definition

Freie Radikale sind hochreaktive Moleküle oder Ionen mit einem oder mehreren ungepaarten Elektronenpaaren oder gepaarten Elektronen mit antiparallelem Spin und können unabhängig („frei“) existieren. Da ein Atom- oder Molekülorbital mit nur einem Elektron besetzt ist, sind freie Radikale besonders reaktionsfreudig und versuchen anderen Molekülen Elektronen zu entreißen. Diese Reaktivität führt zu der Bildung weiterer Radikale und kann Kettenreaktion auslösen [ELSTNER, 1990; HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007].

2.2.1.2 Entstehung

Freie Radikale entstehen bei Verlust bzw. Gewinn eines Elektrons oder wenn eine covalente Bindung aufgebrochen wird (z.B. elektromagnetische Strahlung, Hitze) [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007] (Abb. 7).

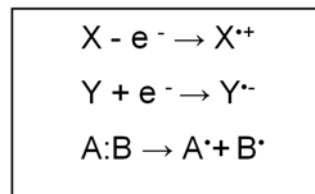


Abb. 7 Entstehung von Radikalen (mod. nach HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007)

Radikale können sowohl endogenen als auch exogenen Ursprungs sein. Als Beispiele für exogene Quellen wären organische Lösungsmittel, Umweltchemikalien, toxische Schwermetalle, Strahlungen (UV-, Röntgen-, γ - Strahlung), Ozon, radioaktive Nuklide, Medikamente (Antibiotika, Zytostatika, Xenobiotika etc.) oder Zigarettenrauch zu nennen.

Endogen entstehen freie Radikale unter anderem durch die mitochondriale Atmung, bei der Synthese von Eicosanoiden, im Zuge der Phagocytose („respiratory burst“), bei sportlichen Höchstleistungen, Detoxifikation über das Zytochrom P-450-System,

Peroxisomenreaktionen, Reperfusionsschäden bei ischämischen Gewebsbezirken sowie bei Reaktionen zahlreicher Enzyme und Coenzyme [OHLENSCHLÄGER, 2000; HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007].

2.2.1.3 Übersicht

Die drei radikalischen Hauptgruppen sind reaktive Sauerstoff- (ROS), Stickstoff- (RNS) und Schwefelverbindungen (RSS), wobei ROS die physiologisch bedeutendsten Verbindungen darstellen [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007]. Zu den wichtigsten Radikalen zählen das Superoxidanion-Radikal ($O_2^{\bullet-}$), das Hydroxyl-Radikal ($OH^{\bullet}$), das Stickoxid-Radikal ($NO^{\bullet}$) und Lipid-Peroxyl-Radikale ($LOO^{\bullet}$). Die bedeutendsten reaktiven Vorstufen von Radikalen, welche ebenfalls zu den ROS zählen, sind das Hydrogenperoxid (H_2O_2), Singulett-Sauerstoff (1O_2), hypochlorige Säure ($HOCl$) und Ozon (O_3) [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Superoxid wird auch als Primäres Radikal bezeichnet, da durch Interaktion mit anderen Molekülen weitere „sekundäre“ Radikale entstehen können (Abb. 8). Die Produktion von Superoxid findet vor allem in den Mitochondrien während der Atmungskette statt und wird mit verschiedensten Zellschädigungen in Verbindung gebracht [VALKO et al., 2007].

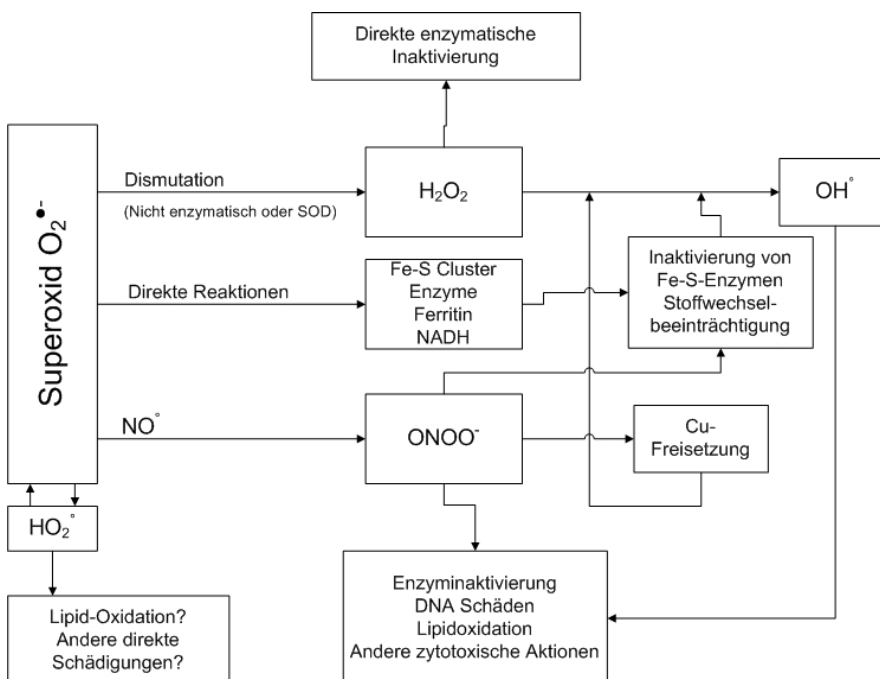


Abb. 8 Mechanismus der Superoxid-abhängigen Schädigung

(mod. nach HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007)

Sehr reaktive Radikale wie $\text{OH}^\bullet$ haben eine kurze Halbwertszeit und schädigen daher besonders das unmittelbare Gewebe, während weniger reaktive Radikale unmittelbar weniger Schaden anrichten, aber durch ihre längere Halbwertszeiten größere Wegstrecken zurücklegen können [OHLENSCHLÄGER, 2000].

2.2.1.4 Wirkung von freien Radikalen im menschlichen Organismus

Physiologisch

Freie Radikale sind Produkte des normalen zellulären Stoffwechsels und wichtig für die zelluläre Abwehr, die Induktion der mitogenen Antwort sowie zahlreiche intrazelluläre Prozesse [VALKO et al., 2007]. Eine weitere wichtige Aufgabe von Radikalen stellt die Signalübertragung mittels Modifikation der Zielproteine oder durch Veränderung des intrazellulären Redoxzustandes dar [BARTOSZ, 2009]. Das vom Körper produzierte Stickoxyd-Radikal ist das am besten untersuchte Beispiel und reguliert in geringen Konzentrationen (geregelt durch Hormone und Zytokine) u.a. den vaskulären Tonus und die Nervenfunktion. In hohen Konzentrationen werden ROS in der Abwehr von den Makrophagen und Neutrophilen genutzt [MAGDER, 2006]. ROS führen in höheren Konzentrationen zum Zelltod, was der Organismus für den programmierten Zelltod (Apoptose) nutzt [DRÖGE, 2002].

Pathologisch

Radikale können insbesondere in größeren Mengen bzw. bei ungenügender Inaktivierung Makromolekülstrukturen schädigen (Tab. 5). Die Folgen sind Mutationen und eine Veränderung des herkömmlichen Translations- und Transcriptions-Prozesses [MAGDER, 2006]. Des Weiteren kann die Zellkommunikation mittels gap-junctions bzw. die Signaltransduktion verändert werden [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007].

Die Einwirkungen freier Radikale akkumulieren sich im Laufe des Lebens und werden daher mit dem Alterungsprozess und der Entstehung zahlreicher Krankheiten wie Herzkreislauferkrankungen, Krebs oder Diabetes in Zusammenhang gebracht [RAHMAN, 2007].

Tab. 5 Pathogenetische Bedeutung freier Radikale und ihrer sekundären Produkte

[ELMADFA und LEITZMANN, 2004]

Angriffsort	Konsequenz
Proteine	Erhöhte Tumorgefahr Verminderte Enzymaktivität Zellschädigung
Lipide	Membranschädigung LDL-Oxidation Atherosklerose
DNA	Mutation
Kohlenhydrate	Veränderung der Rezeptoren Verringerte Viskosität der Gelenksflüssigkeit

2.2.2 Oxidativer Stress

2.2.2.1 Definition

Oxidation (Oxidbildung und/oder Elektronenentzug) ist ein Vorgang, der unter Strukturzerstörung Energie erzeugt. Der menschliche Körper oxidiert beispielsweise 1 Mol Glukose zu 38 Mol ATP (Adenosintriphosphat) – unter anaeroben Bedingungen können nur 2 Mol ATP gewonnen werden. Die biologische Oxidation ist somit notwendig für alle Lebensprinzipien wie Wachstum, Entwicklung, Zellteilung, Stoffwechsel, etc. Im gesunden Organismus sind oxidative Prozesse bzw. die Produktion von freien Radikalen mit antioxidativen Schutzsystemen ausbalanciert.

Oxidativer Stress stellt eine Imbalance zugunsten von prooxidativen Aktivitäten dar [OHLENSCHLÄGER, 2000] (Abb. 9).

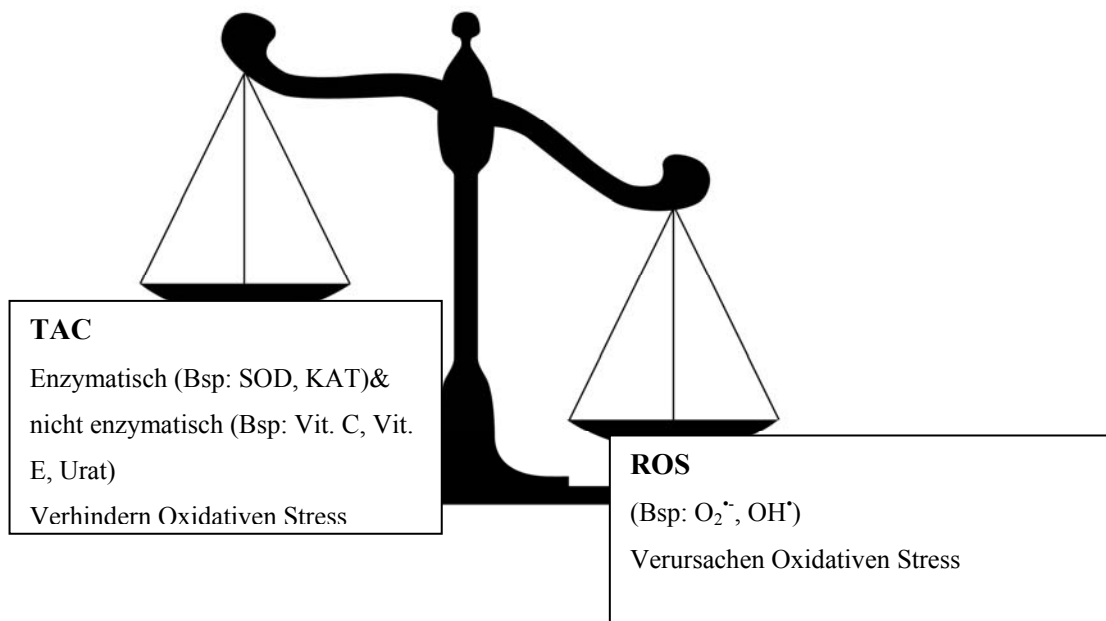


Abb. 9 Oxidativer Stress durch Ungleichgewicht zwischen TAC (total antioxidativ capacity) und ROS (mod. nach ELMADFA und LEITZMANN, 2004)

2.2.2.2 Entstehung

Oxidativer Stress entsteht einerseits durch die Abnahme bzw. den verminderten Schutz des antioxidativen Schutzsystems, d.h. antioxidativer Enzyme, nutritiver und endogener Antioxidantien oder anderer Cofaktoren. Andererseits wirken Umweltschadstoffe, Medikamente, Alkoholkonsum, Höhenstrahlung und Erkrankungen prooxidativ [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007]. Oxidativer Stress entsteht in Folge einer unzureichenden antioxidativen Kapazität, die die vermehrte Produktion an ROS/RNS nicht bewältigen kann [DALLE-DONNE et al., 2006].

2.2.2.3 Stress-Assoziierte Stoffwechsellage

Milder oxidativer Stress kann von Zellen toleriert werden, kann aber zu einer gesteigerten Proliferation führen und löst eine erhöhte Aktivität der antioxidativen Schutzsysteme aus. Oxidativer Stress führt zu Veränderungen und Schäden an Zellen und kann zum Zelltod (Nekrose und Apoptose) führen [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007]. Durch oxidativen Stress können zahlreiche Stoffwechselwege aktiviert werden. Zu diesen stress aktivierten Signalwege gehören unter anderem der

NF- κ B-Weg und zahlreiche Stresskinasen der MAPK-Familie (Mitogen aktivierte Proteinkinasen) wie JNK (c-Jun N-Terminale Kinase) oder p38 MAPK [BLOCH-DAMTI und BASHAN, 2005]. NF- κ B wird durch ROS aktiviert, vermittelt Entzündung und Zelltod und wird mit Diabetes und Atherosklerose assoziiert. Die Stresskinasen werden häufig durch Hyperglykämie induzierten Stress, sowie durch ROS, aber auch durch NF- κ B aktiviert und spielen eine große Rolle in der Entstehung und dem Krankheitsverlauf von Diabetes [EVANS et al., 2003].

2.2.2.4 Messmethoden

a. Direkte Detektion freier Radikale („trapping“)

Auf Grund der kurzen Halbwertszeit ist die direkte Detektion von freien Radikalen nur unter großem Aufwand möglich. Eine Möglichkeit stellt die Elektronenspinresonanztechnik (ESR) dar, allerdings können mit dieser Methode keine hochreaktiven sondern nur weniger reaktive Radikale direkt im lebenden Organismus erfasst werden.

Messmethoden, die zur direkten Erfassung freier Radikale eingesetzt werden, werden auch unter dem Begriff „trapping“ Methoden zusammengefasst. Bei diesen Analysen reagiert ein Radikal mit einem „trap-Molekül“ und bildet somit ein stabileres Produkt, welches mit entsprechenden Verfahren nachgewiesen werden kann [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007].

b. Indirekte Detektion freier Radikale („fingerprinting“)

Wenn ein freies Radikal ein Biomolekül angreift hinterlässt es einen einzigartigen chemischen „Fingerabdruck“ [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007]. Für klinische Studien ist die Erfassung der oxidativen Schädigung wichtig und es werden daher die Endprodukte der Oxidation von Biomolekülen wie Lipiden (z.B. Malondialdehyd, ein Produkt der Lipidperoxidation), Proteinen Kohlenhydraten oder DNA gemessen. Es stehen somit zahlreiche Biomarker zur Erfassung des Ausmaßes an oxidativem Stress zur Auswahl. Ein idealer Marker sollte den Grad der oxidativen Schädigung messen, eine frühe Diagnose der Krankheit ermöglichen, sowie deren Verlauf anzeigen und zusätzlich die Effektivität einer antioxidativen Therapie dokumentieren [DALLE-DONNE et al., 2006].

2.2.3 Antioxidative Schutzsysteme

2.2.3.1 Definition

Ein Antioxidans (auch Scavenger oder Radikalfänger genannt) ist jede beliebige Substanz, welche in geringer Konzentration im Vergleich zu dem oxidierbaren Substrat vorkommt und trotzdem signifikant die Oxidation dieses Substrats bremst bzw. verhindert. Antioxidantien werden sowohl bei technologischen (Produktion von Lebensmitteln, Polymeren, etc.) als auch biologischen (enzymatische und nicht-enzymatische Antioxidantien) Prozessen benötigt [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007].

2.2.3.2 Wirkungen

Antioxidantien dienen dem Körper als Schutz vor freien Radikalen und verhindern, „bremsen“ oder beenden radikalische Reaktionen [OHLENSCHLÄGER, 2000] (Tab. 6). Antioxidative Schutzmechanismen kontrollieren die erforderliche Produktion an Oxidantien und deren Elimination um oxidative Schäden zu vermeiden [GOODYEAR-BRUCH und PIERCE, 2002]. Dieser Schutz vor oxidativen Schädigungen setzt sich aus Präventiv- und Reparaturmechanismen sowie antioxidativer Abwehr zusammen [VALKO et al., 2007].

Tab. 6 Mechanismen der antioxidativen Schutzwirkung (mod. nach OHLENSCHLÄGER, 2000)

1. Abfangen („Scavengen“) von freien Radikalen unter Bildung neuer weniger reaktiven Radikalen
2. Reaktionen von Radikalen miteinander unter Bildung stabiler Endprodukte
3. Oxidation oder Reduktion von Radikalen via Elektronentransfer zu stabilen Endprodukten
4. Komplexierung bzw. Chelatierung zu Metallionen, um die radikalische Zersetzung von Hydroperoxiden zu verhindern
5. Enzymatische (nicht-radikalische) Reduktion von Hydroperoxiden direkt zu Alkoholen
6. Induktion und Erhöhung der Aktivität detoxifizierender Enzyme

Besonderen Einfluss auf die Reaktionen haben Hydrophylie bzw. Lipophylie der Antioxidantien.

Ein wichtiger Aspekt ist die synergistische Interaktion zwischen Antioxidantien (Abb. 10). So regeneriert beispielsweise Vitamin C das oxidierte Vitamin E und verstärkt so dessen antioxidativen Schutz. Dies wäre eine Erklärung für das Scheitern einiger Studien mit isolierter Gabe von Antioxidantien [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

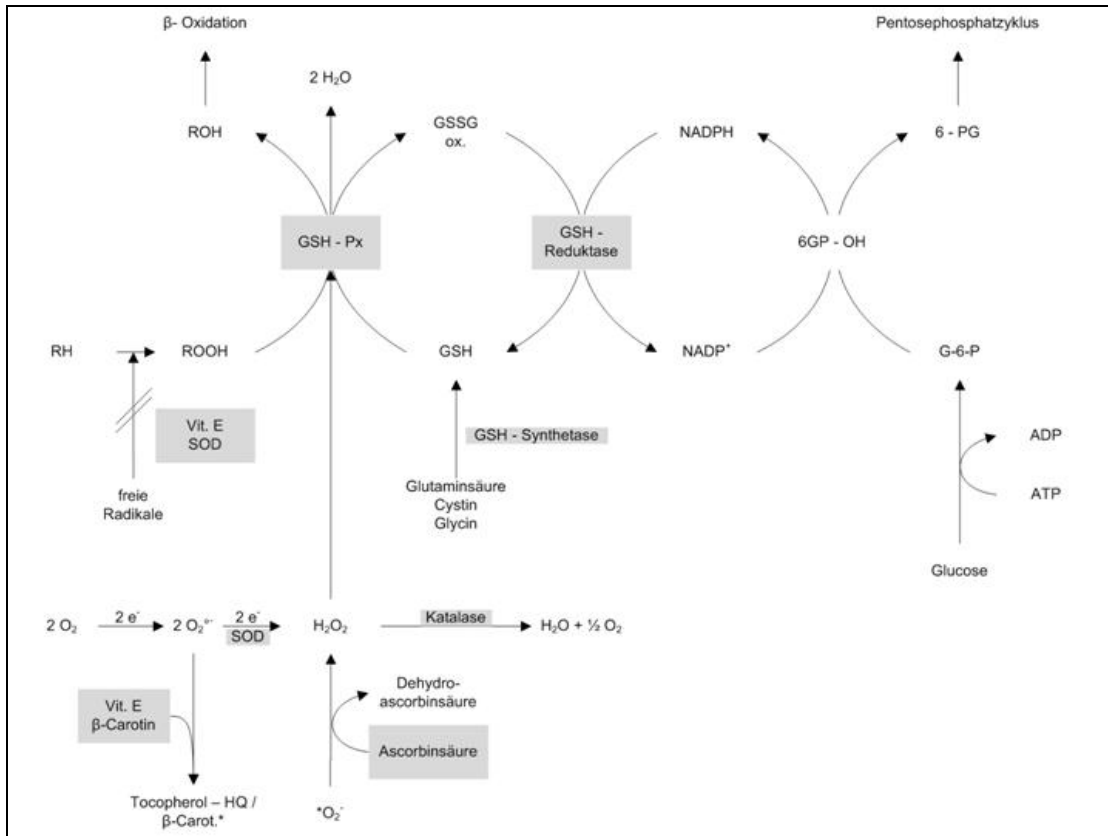


Abb. 10 Integrierte antioxidative Schutzsysteme der Zelle

(mod. nach ELMADFA und LEITZMANN, 2004)

2.2.3.3 Übersicht

Die häufigste Einteilung der Antioxidantien ist in enzymatische und nicht-enzymatische Antioxidantien.

a. Nieder- und mittelmolekulare nicht-enzymatische Antioxidantien

Die meisten nicht-enzymatischen Antioxidantien müssen über die Nahrung zugeführt werden und werden bei der Detoxifizierung von Radikalen selbst radikalisch, d.h. sie müssen von anderen Antioxidantien regeneriert werden [OHLENSCHLÄGER, 2000]. Die Effekte von einzelnen Antioxidantien sind *in vitro* und *in vivo* häufig

unterschiedlich [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007]. Eine Übersicht der häufigsten natürlichen nicht-enzymatischen Antioxidantien bietet Tab. 7. Zusätzlich haben einige Arzneimittel (z.B. Heterozyklen wie Babbiturate) eine antioxidative Wirkung und es existieren zahlreiche synthetische Scavenger (z.B. BHA (Butyliertes Hydroxyanisol), BHT (Butyl-Hydroxytoluen)) [OHLENSCHLÄGER, 2000].

Tab. 7 Übersicht nicht-enzymatischer Antioxidantien (mod. nach ELMADFA und LEITZMANN, 2004; EVANS und GOLDFINE, 2000; HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007; LEE et al., 2004)

Antioxidantien	Unterformen	Funktion
Vitamine		
Vitamin E (Tocopherol)		Wichtigstes lipophiles Antioxidans, Stabilisierung von $O_2^{\cdot-}$ und $OH^{\cdot}$
Vitamin C (Ascorbinsäure)		Wichtigstes hydrophiles Antioxidans, stabilisiert $O_2^{\cdot-}$ / $OH^{\cdot}$, Regeneration von Vitamin E, 1O_2 -Fänger
Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe		
Carotinoide	- β -Carotin - Lutein - Lycopin - Zeaxanthin	Reaktion mit ROS mittels Elektronentransfer, β -Carotin ist der wirksamster 1O_2 -Fänger
Polyphenole	- Flavonoide (z.B. Anthocyane) - Phenolsäuren (z.B. Kaffeesäure) - Stilbene (z.B. Reserveratrol)	Antioxidative Kapazität strukturabhängig, Flavonoide sind gute $OH^{\cdot}$ und $LOO^{\cdot}$ -Fänger, Regeneration von Vitamin E und Harnsäure-Radikalen
Bioorganische Moleküle des menschlichen Organismus		
Harnsäure		Unterdrückt Lipidperoxidation, Radikalfänger, Bindet Eisen- und Kupferionen
GSH (reduziertes Glutathion)		Vom Körper synthetisiert, fängt Radikale indem es zu GSSG (Glutathiondisulfid) oxidiert wird
Coenzym Q (Ubichinon)		Unterdrückt Lipidperoxidation, sehr wirksamer Radikalfänger
Taurin		Membranstabilisierung, Schutz vor Lipidperoxidation
α -Liponsäure		effektiver Radikalfänger, Regeneration von GSH, Vitamin C und E, Reparatur von oxidiertem Protein, Komplexbildung von Metallionen

b. Enzymatische Antioxidantien (antioxidative Enzyme)

Antioxidative Enzyme besitzen relativ hohe Reaktionsgeschwindigkeiten und werden bei der Detoxifikation selbst nicht radikalisch. Sie sind jedoch nur begrenzt vorhanden und zusätzlich abhängig von der Biosynthesekapazität [OHLENSCHLÄGER, 2000]. Die wichtigsten enzymatischen Antioxidantien kommen in allen Zellen, und dort vor allem in den Mitochondrien, vor. Sie benötigen für ihre Funktion bestimmte Mineralstoffe [HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007] (Tab. 8).

Tab. 8 Übersicht der wichtigsten enzymatischen Antioxidantien

(mod. nach HALLIWELL und GUTTERIDGE, 2007)

Enzym	Reaktion	Cofaktoren
Superoxid-Dismutase (SOD)	$2 \text{O}_2^{\cdot -} + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$	Kupfer&Zink(CuZn-SOD) Oder Mangan (Mn-SOD)
Katalasen (KAT)	$2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$	Eisen
Glutathion-Peroxidase (GSH-Px)	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{GSH} \rightarrow \text{GSSG} + 2 \text{H}_2\text{O}$ $(\text{LOOH} + 2 \text{GSH} \rightarrow \text{GSSG} + \text{H}_2\text{O} + \text{LOH})$	Selen

Weitere wichtige Enzyme: Glutathion-Reduktase ($\text{GSSG} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{GSH} + \text{NADP}^+$), Glutathion-S-Transferasen und Enzyme, die Reduktionsäquivalente bereitstellen wie NADPH-liefernde Enzyme [OHLENSCHLÄGER, 2000].

c. Antioxidantien in Lebensmitteln

Besonders viele Farb- und Geschmacksstoffe haben ein antioxidatives Potential, daher sind Obst, Gemüse, Kräuter und Gewürze besonders gute Quellen an Antioxidantien [LEE et al., 2004]. Aber auch viele Getränke sind aufgrund ihres hohen Anteils an Polyphenolen reich an Antioxidantien: Rotwein, Tee und Kaffee [OVASKAINEN et al., 2008; PEREIRA et al., 2006].

Gute Vitamin E Quellen sind pflanzliche Öle und Nüsse. Lebensmittel enthalten jedoch nicht nur Antioxidantien, sondern eine Vielzahl an Inhaltsstoffe, die das antioxidative Potential beeinflussen [RICE-EVANS und MILLER, 1995]. Antioxidantiengehalte in Lebensmittel können stark schwanken und sind von vielen Faktoren (Sorte, Anbau, Klima, Verarbeitung, Lagerung, etc.) abhängig. Zusätzlich reichert die

Lebensmittelindustrie häufig aus technologischen Gründen mit Antioxidantien an z.B. um die Haltbarkeit zu verlängern, gleichzeitig werden vielfach auch gezielt angereicherte Produkte erzeugt und in Hinblick auf einen zusätzlichen gesundheitlichen Nutzen geworben [LINDLEY, 1998].

3 Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von Diabetes Mellitus II

3.1 Insulinresistenz und oxidativer Stress

Oxidativer Stress begünstigt die Entstehung von Insulinresistenz sowohl bei gesunden Menschen mit normaler Glukosetoleranz, als auch bei Diabetikern (besonders unter diabetischen Umständen wie Hyperglykämie und Hyperlipidämie) [KANETO et al., 2006].

3.1.1 Entstehung von Insulinresistenz

3.1.1.1 Allgemeine und zelluläre Aspekte

Insulinresistenz ist durch eine mangelnde Reaktion des Gewebes (v.a. Muskulatur, Leber & Fettgewebe) auf Insulin gekennzeichnet und stellt eine Komponente des Metabolischen Syndroms dar [CERIELLO und MOTZ, 2004]. Die Ursache der Resistenz ist bislang nicht völlig geklärt, aber neben einer genetischen Komponente werden zahlreiche Faktoren wie Hyperglykämie, Hyperinsulinämie, Hormone (z.B. Schwangerschaft), freie Fettsäuren, diversen Zytokine und oxidativer Stress diskutiert. Als gesichert gilt jedoch ein Zusammenhang mit Adipositas [GUAL et al., 2005; SHULMAN, 2000].

Auf zellulärer Ebene ist bei Insulinresistenz mit einer „down“-Regulation der Insulinsignalkaskade und/oder des insulinabhängigen Glukosetransporter GLUT-4 assoziiert [BLOCH-DAMTI und BASHAN, 2005].

Die **Insulinsignalkaskade** wird durch Bindung des Insulins an die extrazelluläre α -Untereinheit des Insulinrezeptor (IR), der zur Familie der Tyrosinkinase-Rezeptoren gehört, ausgelöst. In Folge kommt es zu einer Konformationsänderung durch Phosphorylierung spezifischer Tyrosylreste der transmembranen/intrazellulären β -Untereinheit des Rezeptors und somit zu einer Aktivierung der Kinaseaktivität. Über SH2-Domänen (Sarc-Homologie 2) dockt ein als Insulinrezeptor-Substrat (IRS)

bezeichnetes Protein, von dem 4 Formen (IRS-1 bis IRS-4) bekannt sind, an den aktivierten IR an, wodurch spezifische Tyrosylreste des IRS phosphoryliert werden. Infolge kommt es neben dem Andocken von spezifischen Proteinen an die Phosphotyrosinreste des IRS, zu der Aktivierung zahlreicher Kinasen unter anderem MAP-Kinasen und PI₃-Kinasen (Phosphatidyl-Inositol). Dies führt zu der bekannten Wirkung von Insulin, d.h. einem gesteigerten Glukosestoffwechsel in Muskel- und Fettzellen durch Glukoseaufnahme der Zellen mittels PI₃-Kinase vermittelter Translokation von GLUT-4 in die Plasmamembran [LÖFFLER, 2008; MEHNERT et al., 2003].

IRS-1 spielt eine große Rolle bei der Insulin-Signaltransduktion und somit bei der Entstehung von Insulinresistenz. Von besonderer Bedeutung ist der Serin-Rest, da er die IRS-1-Funktion dual reguliert. So wird bei Serin-Phosphorylierung über PKB-Aktivierung, die IRS-1 Funktion erhöht, während die Serin-Phosphorylierung über PKC, JNK und andere einen negativen Feedback-Kreislauf bildet und damit die Funktion vermindert [GUAL et al., 2005] (Abb. 11).

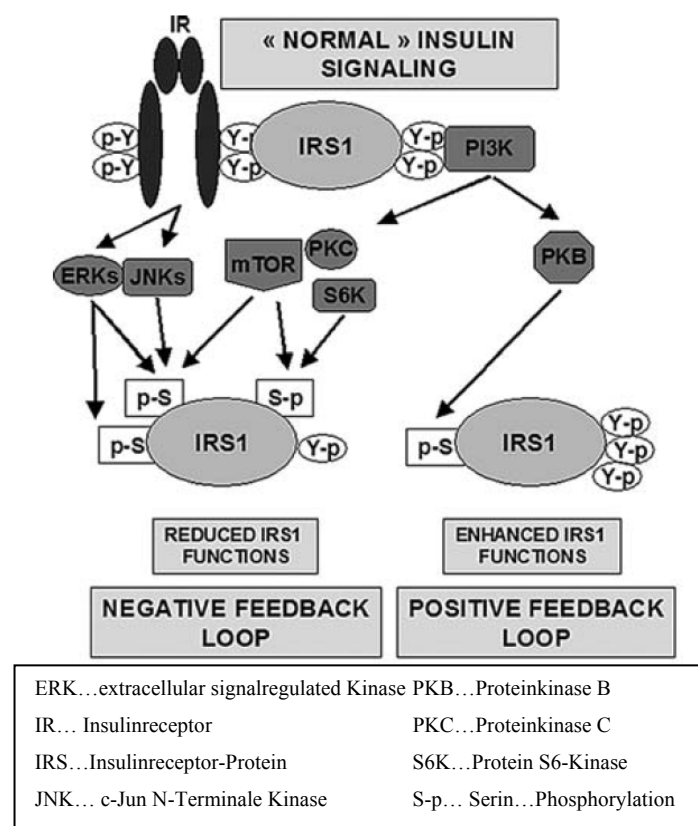


Abb. 11 Normale Insulinsignalkaskade [GUAL et al., 2005].

Die Insulinsignalkaskade kann durch verschiedene Faktoren „down“-reguliert werden: Zytokine (z.B.: TNF α), chronische Hyperinsulinämie, oxidativen Stress, Aktivierung des Hexosamin Stoffwechselwegs, erhöhten Durchfluss an freien Fettsäuren (FFA – free fatty acids) und/oder Glukose. Zusätzlich kann der GLUT-4 durch verschiedene Serin-/Threonin-Kinasen wie die PKC oder Glykogensynthasekinase 3 (GSK 3) beeinflusst werden, was zu einer verminderten Insulinwirkung führt [BLOCH-DAMTI und BASHAN, 2005].

3.1.2 Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von Insulinresistenz

ROS im Allgemeinen und H₂O₂ im Speziellen beeinträchtigen die Insulinsignalkaskade und somit die insulinabhängigen metabolischen Aktivitäten. Ein physiologischer Einfluss von ROS hat, wie eine Aktivierung des Glukosetransports durch NO oder H₂O₂ im Muskel, insulinähnliche Effekte. Es haben jedoch viele Studien gezeigt, dass oxidativer Stress mit einer verminderten Empfindlichkeit und Wirkung von Insulin einhergeht [BLOCH-DAMTI und BASHAN, 2005]. H₂O₂ verhindert beispielsweise die Phosphorylierung der Tyrosylreste von IRS-1 und stört damit die insulinabhängige Signalkaskade [NISHIKAWA und ARAKI, 2007]. Zahlreiche Studienergebnisse verdeutlichen, dass oxidativer Stress die Glukose-Aufnahme in Adipozyten und L6-Muskelzellen stört. So werden unter anderem die Translokation von GLUT-4 und die Aktivierung von PI₃-Kinase durch ROS beeinträchtigt [RÖSEN und BELLIN, 2004].

Während *in vitro* ein Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und Insulinresistenz als sehr wahrscheinlich gilt, ist dies *in vivo* zwar anzunehmen, aber auf Grund des schwierigen direkten Nachweises von ROS, bislang noch nicht endgültig belegt [BERNEBURG et al., 2006]. Viele der mit Insulinresistenz assoziierten Kinasen (JNK, IKK, PKC p38 MAPK) werden durch freie Radikale aktiviert [EVANS, 2007]. Auf Grund der komplexen Stoffwechselwege dürften viele Einflüsse eine Rolle spielen z.B.: Menge, Form, Quelle und Expositionsdauer von ROS, Antioxidantien und Vitaminstatus, etc. [BERNEBURG et al., 2006]. Einen wichtigen Hinweis auf einen Zusammenhang von ROS und Insulinresistenz liefern Studien mit Antioxidantien [WRIGHT und SUTHERLAND, 2008] (siehe Kapitel 3.3.).

3.1.2.1 Energiesubstrate

Bei Überernährung d.h. wenn die Kalorienaufnahme den Energieverbrauch übersteigt, erzeugt die substratinduzierte Steigerung der Citratzyklus-Aktivität vermehrt mitochondriales NADH (mNADH) und ROS. Um sich vor schädlichen Effekten zu schützen steigert die Zelle die antioxidativen Kapazitäten und versucht die Bildung von ROS zu vermindern. Weniger mNADH wird unter anderem durch eine Blockade der insulinabhängigen Nährstoffaufnahme und der damit verminderten Substratzufuhr in den Citratzyklus gebildet [CERIELLO und MOTZ, 2004].

Während ein Zusammenhang zwischen freien Fettsäuren und Insulinresistenz als gesichert gilt, ist die Rolle von Kohlenhydraten noch umstritten [LAVILLE und NAZARE, 2009].

a) Freie Fettsäuren (FFA)

Erhöhte freie Fettsäuren im Plasma sind mit Übergewicht und Diabetes assoziiert und reduzieren die Insulinempfindlichkeit und die Glukoseaufnahme der Muskeln [BODEN und SHULMAN, 2002].

Bereits 1963 wurde die **Randle Hypothese** aufgestellt, welche davon ausgeht, dass eine gesteigerte Fettoxidation zu Insulinresistenz führt. Randle et al. konnten zeigen, dass *in vitro* Glukose und Fettsäuren um die Oxidation konkurrieren. Den Mechanismus der Insulinresistenz erklärten sie mit einem intramitochondrialen Anstieg von acetyl CoA/CoA (Coenzym A) und NADH/NAD⁺, mit anschließender Inaktivierung der Pyruvat-Dehydrogenase, was folglich die Citrat-Konzentrationen erhöht. Dies hemmt die Phosphofructokinase, was eine Akkumulation von Glukose-6-Phosphat nach sich zieht, wodurch die Hexokinase II Aktivität unterdrückt wird. Dadurch steigt die Intrazelluläre Glukosekonzentration und sinkt die Glukose-Aufnahme [RANDLE et al., 1963; SHULMAN, 2000; GUAL et al., 2005] (Abb. 12).

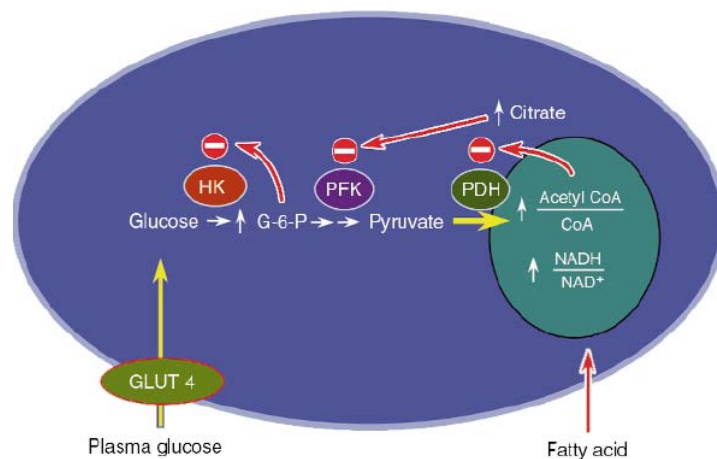


Abb. 12 Schematische Darstellung der Randle Hypothese [SHULMAN, 2000]

FFA begünstigen über verschiedene Stoffwechselwege die Entstehung einer Insulinresistenz, so beeinflussen Lipide nicht nur Glukosetransporter (besonders GLUT-4), sondern aktivieren v.a. den negativen Feedbackmechanismus von Insulin (Abb. 11). Der genaue Mechanismus dieser neuen Theorie ist noch nicht vollständig geklärt [BERNEBURG et al., 2006; RAGEHB et al., 2009]. Shulman und sein Team konnten in mehreren Studien mittels NMR Spektroskopie nachweisen, dass es durch Erhöhung der Plasma-Fettsäuren anstatt eines Anstiegs von Glukose-6-Phosphat (Randle-Theorie) zu einem Abfall kam. Weiters wurde durch Fettsäuren keine Tyrosin-Phosphorylierung sowie PI₃K-Aktivierung ausgelöst [GUAL et al., 2005; SHULMAN, 2000]. Neuere Studien gehen von einer IRS-1 Serin-Phosphorylierung durch FFA als Pathomechanismus der Insulinresistenz aus. Vermutet wird hauptsächlich eine Aktivierung von **PKC** (negativ Feedbackmechanismus) durch FFA, was die Kinasen **JNK** und **IKK** (inhibitory proteinkB Kinase) aktiviert, die wie PKC selbst das Serin des IRS-1 phosphorylieren [GAO et al., 2004] (Abb. 13).

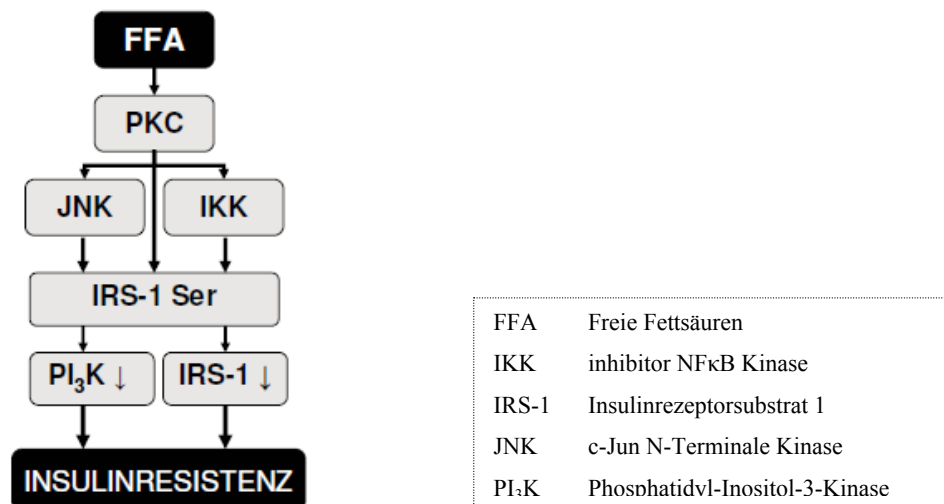


Abb. 13 Signalwege der IRS-1 Hemmung durch FFA (mod. nach GAO et al., 2004)

Eine Suppression des JNK-Stoffwechselwegs verbesserte im Tierversuch die Insulinresistenz und könnte ein therapeutischer Ansatz sein. Aktiviert wird der JNK Stoffwechselweg unter anderem durch ROS, FFA und TNF- α [KANETO et al. 2006]. In adipösen Mäusen wurden erhöhte Werte von PKC-Isoformen (z.B. PKC θ) gemessen, dies wäre eine Erklärung, warum Übergewicht ein Risikofaktor für Insulinresistenz ist [GAO et al., 2004]. *In vitro* konnte ein signifikanter Anstieg der Aktivität verschiedener PKC-Isoformen festgestellt werden (Bsp: PKC α/β = 631% durch Ölsäure). Die Insulin-Signalkaskade ist sehr komplex und es ist anzunehmen, dass neben JNK und IKK noch zahlreiche weiteren Stresskinasen (z.B. p38MAPK) durch FFA (bzw. deren Metabolite) aktiviert werden [RAGEHB et al., 2009].

Weiters dürften FFA auch in direktem Zusammenhang mit oxidativem Stress stehen. So wurden nach einer Infusion mit FFA bei gesunden Probanden erhöhte Malondialdehyd-Werte (ein Produkt der Lipidperoxidation), sowie ein verminderter Glutathion-Status gemessen. Zusätzlich aktivieren FFA den **NFκB-Weg** wahrscheinlich über PKC θ . NFκB ist ein wichtiger Transkriptionsfaktor für Zellproliferation, Immunantwort und Apoptose und reguliert die Genexpression von antioxidativ wirksamen Enzymen sowie zahlreichen Produkten, die mit den Komplikationen von DM-II assoziiert sind, dazu gehören unter anderem RAGE, TNF- α , IL-1 und VEGF (vascular endothelial growth factor) [EVANS et al., 2002].

b) Glukose

Oxidativer Stress infolge von Hyperglykämie wird durch Aktivierung verschiedener Stoffwechselwege (JNK, NFκB, p38MAPK, etc.), die u.a. Insulinresistenz verursachen, ausgelöst [EVANS et al., 2003]. So konnte beispielsweise eine verstärkte Aktivierung von NFκB in Muskelzellen (L6GLUT4-IR) durch hohe Glukosedosen (20 mmol/5 d) nachgewiesen werden, welche jedoch durch das Antioxidans α -Liponsäure (LA) vermindert werden konnte. In Fibroblasten konnte hingegen keine Aktivierung von NFκB durch hohe Glukosedosen und somit auch kein Effekt durch LA festgestellt werden [EVANS et al., 2005]. Eine hohe Glukose-Exposition (auch bei kurzer Dauer, d.h. ~ 6h) induzierte *in vivo* eine verminderte Insulin-Empfindlichkeit um ~25% und es konnten vermehrt Produkte der Lipidperoxidation und Protein-Carbonyle gemessen werden. Dies deutet auf einen Zusammenhang zwischen Hyperglykämie, oxidativem Stress und Insulinresistenz hin [HABER et al., 2003].

c) Fruktose

Fruktose wurde auf Grund der geringen postprandialen Hyperglykämie verstärkt in der Kost von Diabetikern empfohlen, allerdings erhöht Fruktose den Plasmalipid- und Triglyceridspiegel und vermindert wahrscheinlich die Insulinempfindlichkeit [LAVILLE und NAZARE, 2009]. Eine Fruktose-reiche Diät induziert im Tierversuch Insulinresistenz und erhöht TNF- α im Skelettmuskel, weshalb der Stellenwert dieses Zuckers in Bezug auf Insulinresistenz und oxidativen Stress als durchaus kritisch betrachtet werden muss [WEI et al., 2008].

3.1.2.2 Zytokine

Zytokine sind extrazelluläre Wachstums- und Differenzierungsfaktoren, die lokal Wachstum und Differenzierung von Zellen regulieren. Dazu zählen Interleukine, Interferone und Chemokine [LÖFFLER, 2008]. Eine Verbindung zwischen chronischer Entzündung und Insulinresistenz ist bekannt [WEI et al., 2008]. Bei einer Überproduktion Insulin-desensibilisierender Zytokine kommt es zu Insulinresistenz [GAO et al., 2004].

a) Tumornekrosefaktor α (TNF- α)

TNF- α gehört zur Familie der proinflammatorischen Interleukine (Immunabwehr, Entzündung, Apoptose), hat einen Rezeptor mit assoziierten Tyrosinkinasen und löst die Freisetzung von Mediatoren wie Prostaglandinen und Thromboxanen aus [LÖFFLER, 2008]. In Skelettmuskelzellen von Diabetikern und auch in diabetischen Tiermodellen wurde ein erhöhter Gehalt an TNF- α nachgewiesen [WEI et al., 2008]. Besonders Fettzellen, so genannte 3T3-L1-Adipozyten (3T3: 3-tägige Übertragung, Inokulum 3×10^5 Zellen), reagieren bei Behandlung mit TNF- α innerhalb weniger Tage vermindert auf Insulin ($\sim 50\%$) [HOUSTIS et al., 2006]. In einigen Studien wurde gezeigt, dass TNF- α die mitochondrialen ROS-Produktion steigert. Die molekulare Basis für die TNF- α -induzierte Insulinresistenz dürfte jedoch die Unterdrückung der insulin-stimulierten Tyrosin-Phosphorylierung und Stimulierung der Serin-Phosphorylierung des IRS-1 durch TNF- α sein [NISHIKAWA und ARAKI, 2007]. Durch eine bestimmte Serin-Phosphorylierung an Ser⁶³², welche Rapamycin-sensitiv (Indikator, dass mTOR (mammalian target of Rapamycin), beteiligt) ist, kann die Hauptbindungsstelle von PI₃K verändert werden und somit die Interaktion zwischen IRS-1 und PI₃K moduliert werden [GUAL et al., 2005].

Zusätzlich aktiviert eine TNF- α -induzierte ROS-Produktion die **Apoptosesignal-regulierende Kinase 1** (ASK 1, eine MAPKK), welche wiederum die JNK und p38 Signalwege aktiviert [NISHIKAWA und ARAKI, 2007].

b) Interleukin 6 (IL-6)

IL-6 hat sowohl immunmodulierende als auch proinflammatorische Eigenschaften [LÖFFLER, 2008]. Durch ROS kommt es zu einer Zunahme der Expression von IL-6, die kontrovers in Verbindung mit Insulinresistenz diskutiert wird. Einerseits verbessert IL-6 den Insulin Sensibilisierungseffekt und steigert die Glukoseaufnahme in den Muskel (es konnten erhöhte IL-6-Werte nach Training (verbessert Insulinwirkung) gemessen werden), andererseits bewirken hohe IL-6-Konzentrationen *in vivo* bei Mäusen Defekte in der Aktivität des IRS-1 und der IP₃K. Weiters konnten erhöhte IL-6-Level auch bei Diabetikern und adipösen Personen gemessen werden [WEI et al., 2008].

3.1.2.3 Insulin

Zusätzlich zur Tyrosin-Phosphorylierung von IRS-1 phosphoryliert Insulin auch den Serin-Anteil, um IRS-1 vor den Tyrosin Phosphatasen zu schützen und die aktive phosphorylierte Form von IRS-1 aufrechtzuerhalten. Insulin agiert dabei indirekt über die Aktivierung von JNK, PKC und mTOR, einem Enzym, das Wachstum, Proliferation und Motilität regelt [GUAL et al., 2005]. Sowohl Human- als auch Tierstudien haben gezeigt, dass Insulin selbst (endogenen oder exogenen Ursprungs) einen Defekt der Insulinwirkung auslöst [SHAFRIR et al., 1999].

3.2 β -Zell-Dysfunktion und Oxidativer Stress

3.2.1 Allgemeine Aspekte der β -Zell-Dysfunktion

In den meisten Fällen von DM-II dürfte eine Insulinresistenz das primäre Ereignis in der Entstehung der Krankheit sein und eine β -Zell-Dysfunktion mit einer verminderten Insulinsekretion erst im Laufe der Zeit auftreten [MEHNERT et al., 2003]. Eine Insulinresistenz kompensiert der Körper mit Insulinfreisetzung um erhöhte BZ-Werte zu vermeiden, wobei es in Folge zu einer Hyperinsulinämie kommt. Ist der Pankreas nicht mehr in der Lage die Insulinresistenz mit Insulinsekretion auszugleichen, kommt es vorerst zu einer verminderten Glukosetoleranz. Die β -Zell-Dysfunktion scheint das ausschlaggebende Event in der Entstehung von DM-II zu sein und bedingt in weiterer Folge meist eine Hyperglykämie. Interessanterweise ist eine Verminderung der β -Zellfunktion nicht beschränkt auf Personen mit hohen postprandialen BZ-Werten, sondern wird auch bei nicht-diabetischen BZ-Werten nachgewiesen [BONARA, 2008]. Eine ständige Stimulation mit Glukose ohne Hyperglykämie führt zur so genannten β -Zell-Erschöpfung. Die Insulinsekretion ist hier auf Grund des Abbaus der Insulinspeicher nicht mehr möglich, aber es liegt kein Defekt der Insulinsynthese vor [ROBERTSON et al., 2003].

Ein qualitativer Marker für die β -Zell-Dysfunktion ist ein erhöhter Ratio Proinsulin (im ER (Endoplasmatisches Retikulum) gespeicherte Form, durch Proteasen in aktive Form umgewandelt) zu Insulin, ein quantitativer Nachweis des Defekts ist so aber nicht

möglich [MARCHETTI et al., 2008]. Von einer β -Zell-Dysfunktion hin zu einem β -Zelltod vergehen oft Jahre, je nach metabolischer Kontrolle [LENZEN, 2008].

Eine genetische Beteiligung an β -Zell-Dysfunktion gilt als gesichert, die verantwortlichen Gene sind jedoch bis jetzt noch nicht genau identifiziert (diskutiert werden verschiedene Transkriptionsfaktoren, Moleküle der Insulinsignalkaskade, etc.). Als Ursache der β -Zell-Dysfunktion wird eine Kombination der genetischen Komponente mit zahlreichen Faktoren wie erhöhter Konzentration an Glukose und/oder Fettsäuren gesehen. Die ROS-Produktion durch „Substratstress“ (Gluco- und/oder Lipotoxizität) zählt zu den häufigsten Risikofaktoren für β -Zell-Apoptose [MARCHETTI et al., 2008] (Abb. 14).

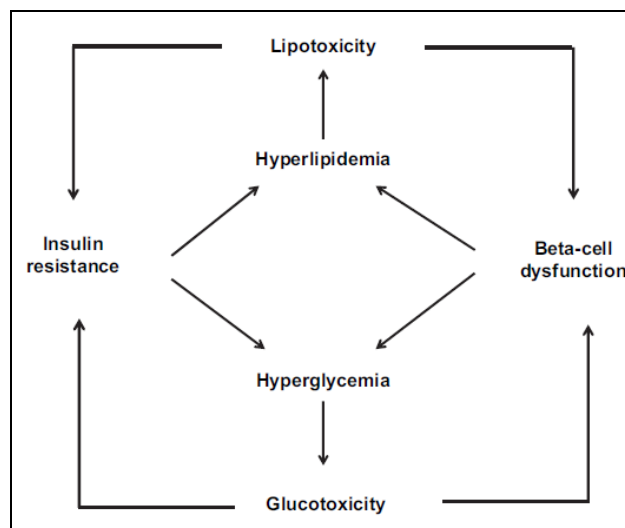


Abb. 14. „Prädiabetischer Teufelskreis“ [BONARA, 2008]

Gesteigerte Ablagerung von IAPP (islet amyloid polypeptide) in den Inselzellen wird ebenfalls mit β -Zell-Dysfunktion bzw. β -Zelltod assoziiert. Funktionelle Defekte der Inselzellen sind begleitet von reduzierter mRNA Expression von Insulin, GLUT-1, GLUT-2 und Glukokinase. All diese Veränderungen sind assoziiert mit oxidativem Stress [MARCHETTI et al., 2008].

3.2.2 Einfluss von oxidativem Stress auf die β -Zell-Dysfunktion

Das intrazelluläre Milieu der β -Zellen des Pankreas ist reich an Glukose (Energie-Metabolismus) und Sauerstoff (Insulinproduktion) und durch die geringen

enzymatischen antioxidativen Kapazitäten für oxidativen Stress besonders anfällig [LENZEN, 2008]. Im Gegensatz zu anderen Zellen (z.B. Skelettmuskel, Niere, etc.) konnte in den Inselzellen keine Steigerung der antioxidativen Aktivitäten bei hohen Glukose Konzentrationen gemessen werden, jedoch war der zelluläre Stress erhöht [ROBERTSON et al., 2004]. Einen besonderen Effekt nicht nur in der Entstehung von Insulinresistenz, sondern auch der β -Zell-Dysfunktion dürften die erhöhten Plasmalevels der Substrate Glukose und Fettsäuren haben. Man spricht in diesem Zusammenhang von Gluco- oder Lipotoxizität bzw. eine Kombination der beiden [POITOUT und ROBERTSON, 2008].

3.2.2.1 Glukotoxizität

Der negative Effekt von Überstimulation mit Glukose auf die β -Zellen wird schon lange diskutiert. Die genauen biochemischen Mechanismen der Glukotoxizität sind bis jetzt jedoch noch nicht bekannt [POITOUT und ROBERTSON, 2008]. Eine einheitliche Definition für Glukotoxizität existiert nicht. Sie kann als nicht physiologische und potentiell irreversible Schädigung durch chronische Exposition supraphysiologischer Glukosekonzentrationen charakterisiert werden [ROBERTSON et al., 2003].

Bei Hyperglykämie expremiert die β -Zelle vermehrt GLUT-2, verstärkt somit die Glukoseaufnahme und ist dadurch besonders hohen Glukosekonzentrationen ausgesetzt [KAJIMOTO und KANETO, 2004].

Normalerweise wird Glukose über verschiedene Zwischenschritte als Pyruvat im Citratzyklus verstoffwechselt, dabei entstehen neben ATP auch ROS in physiologischer Konzentration. Ist Glukose jedoch im Überschuss vorhanden werden alternative Wege aktiviert, die vermehrt ROS bilden: Autooxidation (v.a. von Glycerinaldehyd), Endiol und α -Ketoaldehyd Formation, oxidative Phosphorylation, Glukosamin und Hexosamin Metabolismus, Sorbit Metabolismus und PKC-Aktivierung durch Dihydroxyaceton und Diacylglycerol [POITOUT und ROBERTSON, 2008] (Abb. 15).

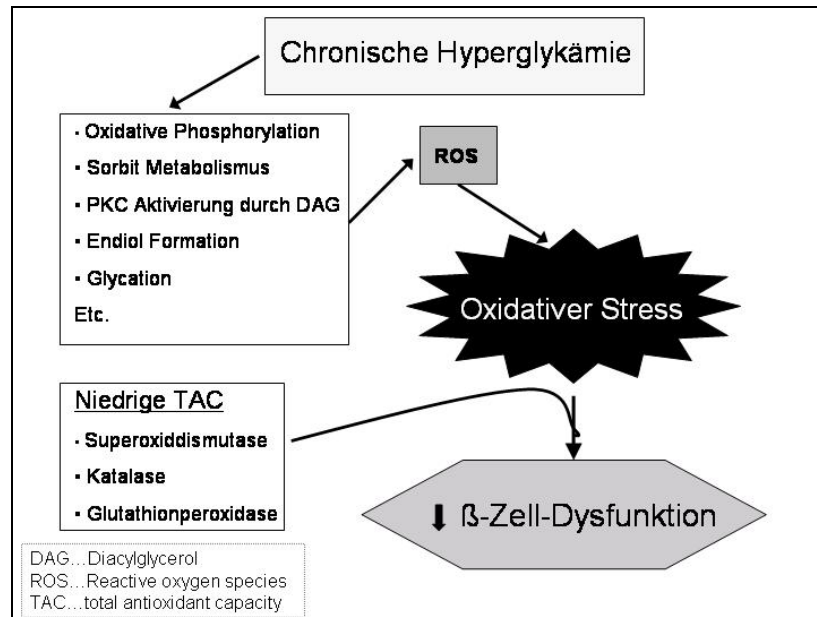


Abb. 15 Schematische Darstellung der Glukotoxizität

(mod. nach POITOUT und ROBERTSON, 2008)

Im Tierversuch konnte bei Hyperglykämie eine doppelte so hohe mitochondriale $O_2^{\cdot-}$ Produktion gemessen werden [FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005]. Besteht dieser Zustand über einen längeren Zeitraum, resultiert dies in einer Überstimulation von UCP 2 (uncoupling protein 2). Unter physiologischen Umständen schützt UCP 2 Zellen vor oxidativem Stress indem es die mitochondriale ROS-Produktion hemmt und verbessert die Glukose-induzierte Insulinsekretion. Bei Überstimulation unterbricht UCP 2 den zellulären Energiemetabolismus und reduziert so die Insulinsekretion [NEWSHOLME et al., 2009].

Insulinsekretion

Bei Patienten mit DM-II konnte durch Reduzierung der Hyperglykämie die Insulinsekretion verbessert werden. Bei gesunden Probanden löste eine dreitägige Infusion mit Glukose in hoher Dosis (12,6 mMol) verminderte Insulinfreisetzung aus [EVANS et al., 2002].

Die Glukose-induzierte Insulinsekretion wirkt selbst an der gesteigerten ROS-Produktion mit: Glukose und Fettsäuren führen zu einer vermehrten ATP-Bildung, einer erhöhten zytoplasmatischen Ca^{2+} Konzentrationen und einer Verringerung von ADP. Infolge werden die K^+ -Tunnel geschlossen, die Zellmembran depolarisiert und die

Ca^{2+} -Tunnel geöffnet, was die Insulinexozytose auslöst [FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005] (Abb. 16).

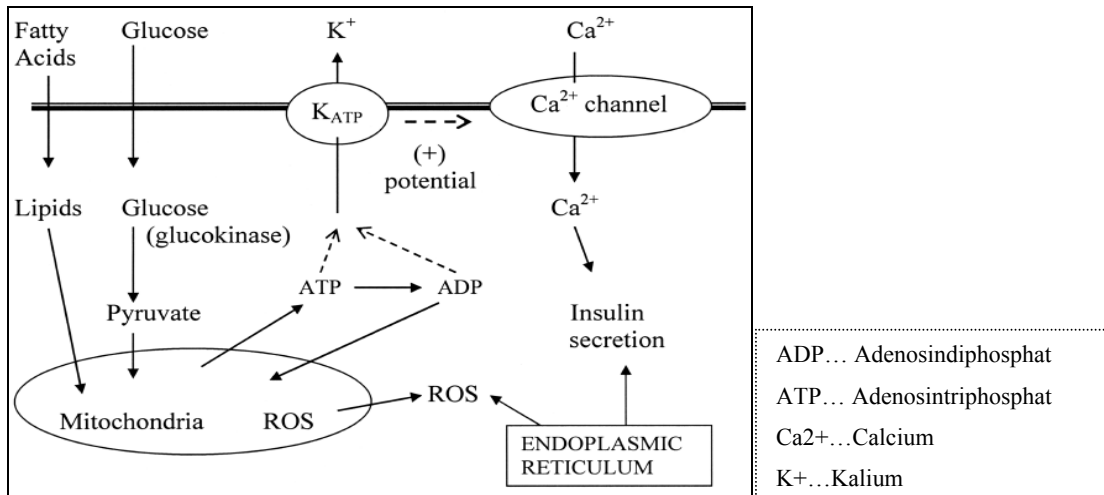


Abb. 16 . Biochemische Wege der Insulinsekretion [FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005]

Da für die Insulinsekretion ATP nötig ist und bei Insulinresistenz vermehrt Insulin benötigt wird, ist das prädiabetische Stadium durch erhöhte metabolische Rate gekennzeichnet. Diese kann an unterschiedlichen Stellen zu einer vermehrten ROS-Bildung führen: ein erhöhter glycolytischer Durchfluss, eine verminderte ADP-Konzentration, erhöhte intrazelluläre Ca^{2+} -Werte, sowie eine vermehrte Insulinbiosynthese [FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005; LENZEN, 2008]. Ca^{2+} steigert beispielsweise via PKC-Aktivierung die NOX (NADPH Oxidase) abhängige ROS-Bildung [NEWSHOLME et al., 2009]. GAPDH (wandelt Glukose-6-Phosphat in Pyruvat um) ist besonders empfindlich auf oxidative Modifikationen. Eine Suppression wurde sowohl durch hohe Glukose-Konzentrationen als auch durch H_2O_2 festgestellt und daraus resultiert wiederum eine unterdrückte Insulinsekretion [NISHIKAWA und ARAKI, 2007].

In vitro konnte jedoch gezeigt werden, dass es durch mitochondrial gebildete ROS zu einer gesteigerten Glukose-induzierten Insulinsekretion kommt und diese somit eine wichtige Rolle bei der Entstehung der β -Zelldysfunktion spielen [NEWSHOLME et al., 2009]. Oxidativer Stress, der bei Hyperglykämie über verschiedene Stoffwechselwege entsteht (Nichtenzymatische Glykosylierung, Atmungskette, Hexosamin Stoffwechselweg, etc.), könnte somit die gesamte Toxizität von Glukose erklären [KAJIMOTO und KANETO, 2004] (Abb. 17).

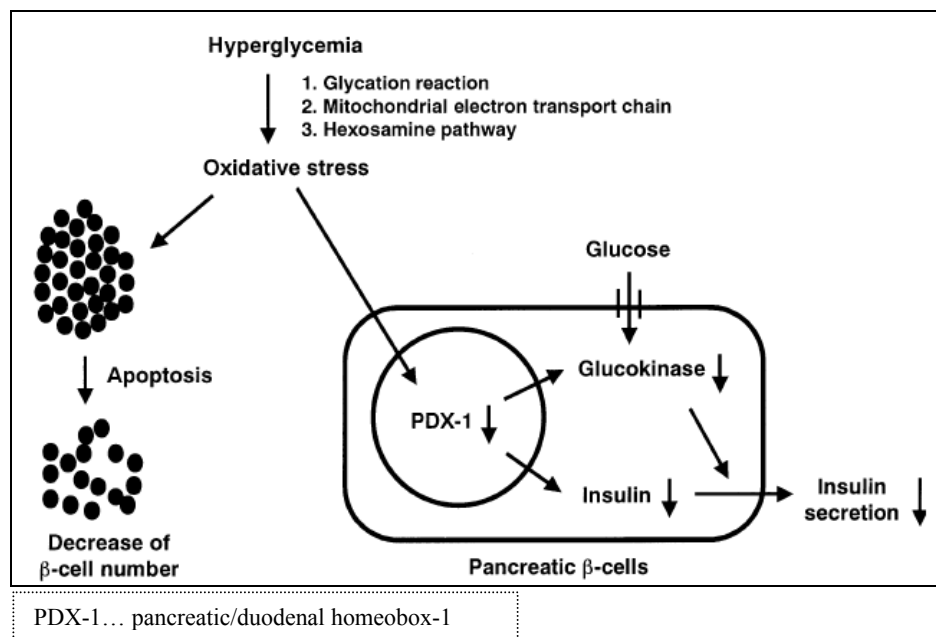


Abb. 17 Möglicher molekularer Mechanismus der Glukotoxizität bei Diabetes

[KAJIMOTO und KANETO, 2004]

Genexpression

In vitro (HIT-T15 Zelllinie) wurde gezeigt, dass die Insulin-Genexpression, Insulingehalt und Glukose-induzierte Insulinsekretion bei β -Zellen mit hohen Glukosegaben (11,1 mmol) nach 3-12 Monaten im Vergleich zur Kontrollgruppe (0,8 mmol Glukose) stark beeinträchtigt war. Dieser Effekt konnte durch einen Wechsel auf ein glukosearmes Medium rückgängig gemacht werden, aber nur wenn die Dauer der Glukosetoxizität beschränkt war (weniger als 5-10 Wochen). Die Untersuchung der Medien mit hoher Glukosekonzentration zeigte auch eine Minderung der Insulin-Promotor-Aktivität und der Bindungsaktivität der Insulin-Promotor-Transkriptionsfaktoren: PDX-1 (pancreatic/duodenal homeobox-1) und MafA (mammalian homologue of avian A) [POITOUT und ROBERTSON, 2008]. PDX-1 ist im Pankreas und Duodenum ausgebildet und für die Pankreasentwicklung, β -Zell-Differenzierung und β -Zell-Funktion zuständig. MafA regelt ebenfalls die Pankreasentwicklung, sowie die Insulin-Genexpression [KAJIMOTO und KANETO, 2004]. MafA wird nicht nur früher als PDX-1 durch erhöhte Glukose beeinträchtigt, sondern die verminderte Aktivität bzw. Expression von MafA könnte die Hauptursache für eine veränderte Insulin-Genexpression sein [POITOUT und ROBERTSON, 2008]. Ein Zusammenhang mit oxidativem Stress wird vermutet, da Antioxidantien eine

verminderte DNA-Expression von PDX-1 und MafA durch hohe Glukosekonzentrationen verhindern können. Weiters konnte festgestellt werden, dass die PDX-1-DNA-Bindungsaktivität durch die Stresskinase JNK (aktiviert durch Hyperglykämie), die eine Translokation von PDX-1 aus dem Zellkern ins Cytoplasma bewirkt, (wobei der Transkriptionsfaktor FOXO-1 (Forkhead box O1) als wichtiger Mediator angesehen wird), vermindert ist [KANETO et al., 2007].

Die Hinweise der Zellstudien auf eine direkte Toxizität von Glukose sind jedoch umstritten v.a. da die Definition von Toxizität unterschiedlich ausgelegt wird [EVANS et al., 2002].

β-Zell-Apoptose

Sobald Hyperglykämie manifest wird, verschlechtert sich die β-Zell-Funktion fortschreitend: Glukose-induzierte Insulinsekretion wird weiter beeinträchtigt und die Degeneration der β-Zellen wird evident, oft begleitet von einer verminderten Zahl an β-Zellen [KANETO et al., 1999]. Ein Verlust der β-Zellmasse ist bei Diabetikern häufig und *in vitro* konnte ein Zusammenhang mit erhöhter Glukose festgestellt werden: Bei Langerhans'schen Inseln, die mit entsprechend hoher Glukosekonzentration (16,7mMol) kultiviert wurden, war die Apoptoserate signifikant erhöht [POITOUT und ROBERTSON, 2008].

3.2.2.2 Lipotoxizität

Da DM-II mit viszeralem Übergewicht und Hyperlipidämie assoziiert wird, stehen Fettsäuren im Verdacht die Entstehung der Krankheit zu begünstigen. Unter physiologischen Umständen sind Fettsäuren Energielieferanten für die β-Zelle, aber sie wirken toxisch bei chronisch erhöhten Plasmawerten. Lipotoxizität wird ähnlich wie die Glukotoxizität mit verminderter Insulinsekretion und erhöhtem β-Zelltod assoziiert [ROBERTSON et al., 2004]. Die verschiedenen Fettsäuren haben unterschiedliche Wirkungen auf die β-Zellen z.B. wirkt Palmitinsäure toxischer als Ölsäure [MARCHETTI et al., 2008]. Im Gegensatz zur Glukotoxizität scheinen FFA keinen Einfluss auf die Insulin-Genexpression zu haben. Der Mechanismus ihrer Toxizität ist bis jetzt noch nicht geklärt, aber die vorhanden Daten deuten auf einen Zusammenhang mit oxidativem Stress hin [OPRESCU et al., 2007]. Diskutiert wird eine erhöhte

Fettsäure-Oxidation bei gleichzeitig reduzierter Glukose-Oxidation (siehe Kapitel 3.1.1.2.1), wodurch es zu einer vermehrten mitochondriale ROS-Bildung kommt. In einigen Studien wurde eine erniedrigte Glukose-Metabolismusrate bei entsprechenden Stoffwechsellagen gemessen. Zudem werden von FFA gebildete DAG und Monoacylglycerol mit der chronischen Stimulierung von NOX, welche $O_2^{\cdot-}$ und H_2O_2 bildet, assoziiert [NEWSHOLME et al., 2009; LUPI et al., 2002].

Aus dem Fettgewebe werden neben FFA auch Zytokine ($TNF-\alpha$, IL-6, IL-1) freigesetzt, die nicht nur Insulinresistenz induzieren, sondern auch einen hemmenden Effekt auf die β -Zell-Funktion haben bzw. toxisch wirken [LUPI und DEL PRATO, 2008]. Auch eine Insulinresistenz der β -Zellen durch erhöhte FFA-Werte wäre möglich. Vermehrter Fettkonsum wurde in einer Studie mit Mäusen mit β -Zelldysfunktion assoziiert, da es zu einer Translokation von Insel-Amyloid kam [BODEN und SHULMAN, 2002].

Insulinsekretion

Eine Reduzierung der FFA-Plasmawerte verbessert bei DM-II die Insulinsekretion. Der genaue Zusammenhang zwischen FFA und einer verminderten Insulinsekretion ist derzeit noch unklar [LUPI et al., 2002]. Im Tierversuch konnte mittels Lipid-Infusion gezeigt werden, dass chronisch erhöhte FFA-Konzentrationen toxisch wirken und es bei akut erhöhten Konzentrationen (unter 3h) hingegen zu einer gesteigerten Insulinsekretion kam [BODEN und SHULMAN, 2002]. Die Ergebnisse von Zellstudien deuten ebenfalls auf eine gestörte bzw. verminderte Funktion der β -Zellen durch eine dosisabhängige Lipotoxizität hin: reduzierte Insulin-Freisetzung, Suppression der Proinsulin Biosynthese, verminderte Insulin-Speicher, etc. [LUPI et al., 2002].

Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von einigen Humanstudien: Bei gesunden Probanden löste eine Lipid-Infusion über 48h löste eine um 50% höhere Insulinsekretion im Vergleich zur Kontrollgruppe (niedrige FFA-Konzentration) aus, interessanterweise würde die erhöhte Insulinsekretion genau die durch FFA induzierte Insulinresistenz kompensieren [BODEN und SHULMAN, 2002]. Eine andere Studie zeigte, dass eine viertägige Lipidinfusion bei genetisch prädispositionierten Probanden die Glukose-induzierte Insulinsekretion hemmt, bei Probanden ohne Prädisposition war die Insulinsekretion sogar gesteigert [POITOUT und ROBERTSON, 2008].

In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass Antioxidantien eine verminderte Insulinsekretion durch FFA verbessern bzw. verhindern konnten. Zusätzlich wurde bei erhöhten FFA-Plasma-Konzentrationen vermehrt oxidativer Stress in den Inselzellen gemessen. Der genaue Mechanismus ist noch unklar. Oxidativer Stress hemmt jedoch die Glukose-Oxidation und führt zu einer Abnahme der ATP-Bildung durch Aktivierung von UCP 2 in den β -Zellen und führt so zu einer verminderten Insulinsekretion [OPRESCU et al., 2007].

β -Zell-Apoptose

Gesättigte Fettsäuren erweisen sich *in vitro* als zelltoxisch, während ungesättigte Fettsäuren protektiv wirken [POITOUT und ROBERTSON, 2008]. In einer Studie mit humanen Inselzellen war die Sterberate nach 48h in der Interventionsgruppe (2,0 mmol/L FFA) im Vergleich zur Kontrollgruppe um das Dreifache erhöht und begleitet von einer für Apoptose typischen Veränderung der β -Zellen. FFA aktivieren verschiedene Apoptose-Effektoren, vor allem die klassischen Caspase Proteasen, bei deren Unterdrückung eine verminderte Sterblichkeit gemessen werden kann [LUPI et al., 2002]. Die genauen Mechanismen der Apoptose sind noch unklar, aber es wird eine Beteiligung von verschiedenen Faktoren vermutet (Abb.): Aktivierung von NF κ B durch Ceramid-Produktion, Up-Regulierung von iNOS (induzierbare NO-Synthase) durch NF κ B, vermehrte NO-Synthese, vermehrte freie Radikalbildung und DNA-Schädigung, Aktivierung von PKC, etc. [LUPI et al., 2002; KHARROUBI et al., 2004] (Abb. 18).

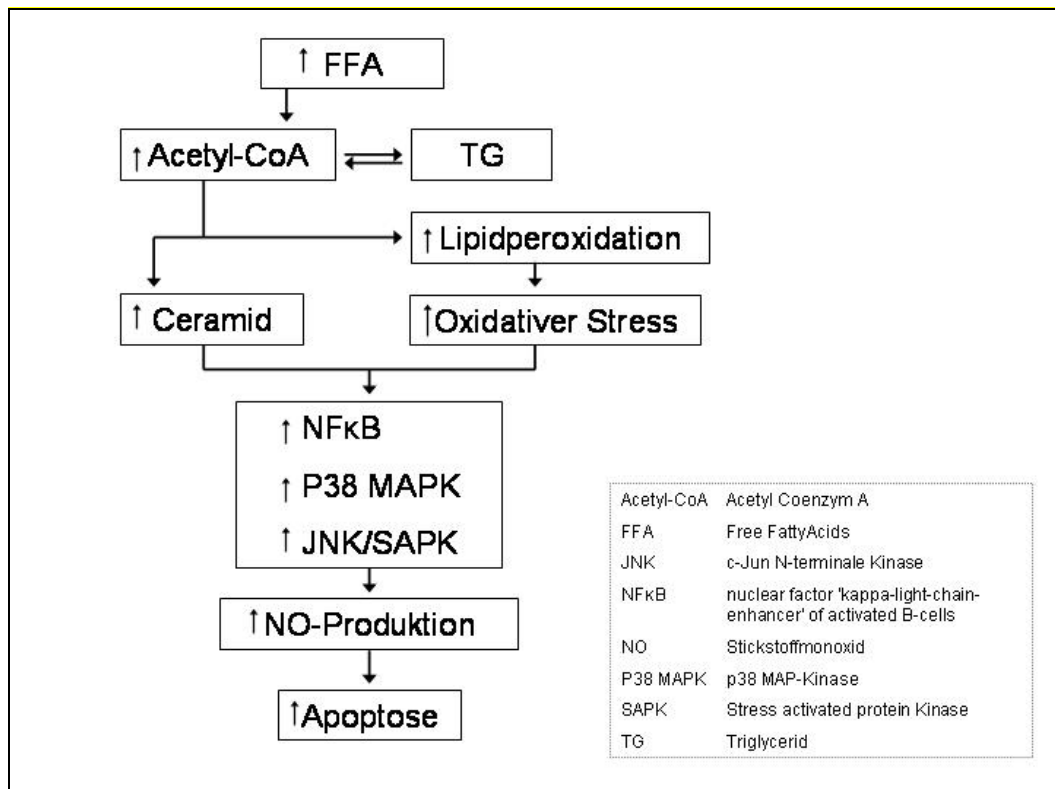


Abb. 18 Schematische Darstellung der Lipotoxizität assoziierten Apoptose

(mod. nach EVANS et al., 2002)

3.2.2.3 Gluko-Lipotoxizität

Bei DM-II sind sowohl Glukose- als auch FFA-Plasmawerte erhöht und deren Kombination gilt als besonders toxisch für die β -Zellen [EVANS et al., 2003]. Die Abgrenzung zwischen Gluko- und Lipotoxizität fehlt in vielen Studien, deshalb ist es schwierig diese drei Begriffe genau zu trennen [POITOUT und ROBERTSON, 2008]. Eine Theorie besagt sogar, dass erhöhte FFA-Konzentrationen bei physiologischen Glukosekonzentrationen vollständig oxidiert werden und für die β -Zellen nicht toxisch wirken. Sind sowohl Glukose als auch FFA erhöht, kommt es zur Akkumulation von Metaboliten (Malonyl-CoA, LC-CoA), welche die Glukose-induzierte Insulinsekretion und die Insulin-Genexpression beeinträchtigen [POITOUT und ROBERTSON, 2002]. Neuere Studien haben herausgefunden, dass der Cholesterin-Metabolismus ebenfalls eine wichtige Rolle spielt. Oxidiertes LDL induziert β -Zelltod und vermindert die Insulin-Genexpression [POITOUT und ROBERTSON, 2008].

Insulin-Genexpression

In vitro konnte gezeigt werden, dass Palmitinsäure nur bei hohen Glukosekonzentrationen Auswirkungen auf die Insulin-Genexpression hatte: Insulingehalt und Insulin mRNA Level waren erniedrigt [MANCO et al., 2004]. Der genaue Stoffwechselweg ist noch unklar. Eine zentrale Rolle spielt die *de novo* Ceramid-Synthese, für welche Palmitat als Substrat dient und eine Hemmung dieser Synthese schützt vor einer Abnahme der Insulin mRNA. Weiters nimmt die Bindungsaktivität für MafA und PDX-1 durch Ceramid ab, wobei von Ceramid beeinflusste Kinasen (MAPK, JNK, PI₃K, PKB, etc.) von Bedeutung sein dürften [POITOUT und ROBERTSON, 2008].

β-Zell-Apoptose

Eine Triglyceridakkumulation in den β-Zellen konnte bislang nur bei hohen Glukose- und FFA-Konzentrationen beobachtet werden. Erhöhte Triglycerid-Gehalte scheinen selbst nicht toxisch, dürften jedoch ein Marker für die Lipotoxizität sein [POITOUT und ROBERTSON, 2008].

3.3 Einfluss von Antioxidantien auf die Entstehung auf Diabetes Mellitus II

Es sprechen viele Indizien für einen Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und der Entstehung von DM-II. Daher werden große Hoffnungen auf die Wirkung von Antioxidantien in der Prävention von Diabetes gesetzt. Jedoch konnten in den meisten Studien mit Antioxidantien unter Miteinbeziehung aller Risikofaktoren bzw. Life-Style-Faktoren bislang nur wenig signifikante Zusammenhänge zwischen der Entstehung von DM-II und Antioxidantien aufgezeigt werden und ein Nutzen von Antioxidantien in Form von Supplementen ist bis jetzt noch fraglich.

3.3.1 Antioxidantien in der Prävention von Diabetes Mellitus II

3.3.1.1 Antioxidantien-reiche Lebensmittel

Die „EPIC-Norfolk-Studie“ (European Prospective Investigation of Cancer) untersuchte u.a. den Zusammenhang zwischen HbA_{1c} und **Obst- und Gemüsekonsum**. Dabei zeigte sich, dass Personen, die selbst angaben kein bzw. kaum Obst und Gemüse zu essen deutlich höhere HbA_{1c} –Werte hatten als jene mit einem höheren Obst- und Gemüseverzehr [SARGEANT et al., 2001]. Auch eine prospektive Studie mit 64.227 Frauen in Shanghai assoziierte hohen Gemüsekonsum, erhoben mittels FFQ (food frequency questionnaire), mit vermindertem Diabetesrisiko [VILLEGAS et al., 2008]. Hoher Obst- und Gemüsekonsum ist nicht nur mit einer hohen Antioxidantienaufnahme verbunden, sondern generell mit einem gesunden Lebensstil assoziiert.

Größeres Aufsehen erregten daher Studien, die hohen **Kaffeekonsum** mit geringerem Diabetesrisiko in Verbindung brachten. In der „Iowa Women’s Health Study“ wurde sowohl Koffein-haltiger als auch entkoffeinierter Kaffee invers mit dem DM-II-Risiko assoziiert. Sechs oder mehr Tassen Kaffee pro Tag verminderten das Risiko um 22%, dieser Effekt wird neben Magnesium hauptsächlich mit dem hohen Antioxidantiengehalt in Kaffee erklärt [PEREIRA et al., 2006].

Kakao ist reich an Flavonoiden und eine Studie mit dunkler Schokolade zeigte bei gesunden Probanden, die jeden Tag 100 g davon konsumierten, verringerte Blutdruckwerte und eine verbesserte Insulin-Empfindlichkeit [GRASSI et al., 2005].

3.3.1.2 Epidemiologische Studien

In der „Finish Mobile Clinic Health Examination Survey“ wurden zwischen 1967-1972 2.285 Männer und 2.019 Frauen mittels „Diet History“ über ihre Ernährungsgewohnheiten befragt und die Aufnahme von Vitamin C und Vitamin E kalkuliert. 383 Personen entwickelten während des „Follow-Up“ (23 Jahre) Diabetes, diese waren im Durchschnitt älter, übergewichtiger und hatten meist einen diabetischen Verwandten. Die Antioxidantien-Aufnahme der Probanden variierte nur gering und die Vitamin C-Aufnahme korrelierte nicht mit dem Diabetesrisiko, allerdings war die Gesamt-**Vitamin E**- und Gesamt-Carotinoid-Aufnahme mit einem reduziertem

Diabetesrisiko assoziiert [MONTONEN et al., 2004]. In den Ergebnissen der „IRAS“-Studie (Insulin Resistance and Atherosclerosis Study) korrelierte die Aufnahme von Vitamin E hingegen nicht mit dem Diabetesrisiko. Hohe Plasma- α -Tocopherol-Level zeigen jedoch vielfach einen signifikant protektiven Effekt. Eine zusätzliche Vitamin E-Aufnahme aus Supplementen zeigte allerdings keinen schützenden Einfluss [MAYER-DAVIS et al., 2002].

In Finnland wurden die Plasmawerte von α -Tocopherol, β -Carotin und **Retinol** bei 106 Type II Diabetikern und 201 gesunden Probanden untersucht. Für Retinol war kein Zusammenhang mit der Entstehung der Krankheit ersichtlich. α -Tocopherol und β -Carotin waren hingegen invers mit DM-II assoziiert, allerdings verschwand diese Assoziation, wenn die Risikofaktoren Cholesterinwerte, Übergewicht, Rauchen und Bluthochdruck mit einbezogen wurden [REUNANEN et al., 1998]. In der „ULSAM“-Studie (Uppsala Longitudinal Study of Adult Men) wurde nach einem „Follow-Up“ von 27 Jahren ebenfalls ein protektiver Effekt von α -Tocopherol und β -Carotin hinsichtlich DM-II festgestellt, dieser war jedoch unabhängig von Lebensstil und metabolischen Faktoren [ÄRNLÖV et al., 2009].

Die **Vitamin-C** Plasmalevel sind bei DM-II im Vergleich zu Gesunden signifikant geringer [CHEN et al., 2006]. Im Zuge der „EPIC-Norfolk-Studie“ wurden auch die Plasma-Vitamin C-Werte von 25.639 gesunden Probanden erhoben, nach einem „Follow-up“ von 12 Jahren entwickelten 735 Personen Diabetes. Niedrige Plasma-Vitamin C-Werte waren noch stärker als niedriger Obst- und Gemüsekonsum mit einem gesteigerten Diabetesrisiko assoziiert [HARDING et al., 2008].

Die NHANES III Studie („Third National Health and Nutrition Examination Survey“) untersuchte u.a. fünf **Carotinoide** (α -Carotin, β -Carotin, Cryptoxanthin, Lutein und Lycopin) im Serum von 1.665 Probanden und zusätzlich wurde ein OGTT durchgeführt. Den stärksten Zusammenhang zeigten β -Carotin und Lycopin, die eine lineare Relation mit dem Grad der Glukosetoleranz-Abnormalitäten aufwiesen [FORD et al., 1999]. Carotinoide gelten jedoch auch als Indikator für eine Obst- und Gemüse-reiche Ernährung und der Carotinoid-Status muss daher differenziert beurteilt werden [YLÖNEN et al., 2003].

3.3.1.3 Klinische Studien

In einer groß angelegten doppel-blinden, Placebo-kontrollierten Studie (22.071 gesunde Männer über 12 Jahre) wurden in der Interventionsgruppe jeden zweiten Tag 50 mg **β -Carotin** verabreicht. Es konnte kein signifikanter Unterschied zur Placebogruppe in der Häufigkeit des DM-II festgestellt werden [LIU et al., 1999]. In einer ähnlichen Studie wurden 29133 männliche Raucher in vier Gruppen eingeteilt (50 mg **α -Tocopherol**, 20 mg β -Carotin, beides zusammen oder Placebo täglich über 5-8 Jahre) und nach einem Follow-Up von 12 Jahren die Inzidenz von DM-II erhoben. Dabei zeigte sich, dass weder die Ausgangskonzentrationen der Antioxidantien noch eine der Supplementierungen einen Effekt auf das Auftreten von Diabetes hatte [KATAJA-TUOMOLA et al., 2008]. Im Zuge der „Women’s Health Study“ (doppel-blind, placebo-kontrolliert, 19.347 gesunde Frauen) wurden einer Probandengruppe 600 IU Vitamin E jeden zweiten Tag verabreicht. Das Diabetesrisiko wurde damit nicht signifikant um ~ 5% gesenkt [LIU et al., 2006].

3.3.2 Einfluss von Antioxidantien auf Sekretion und Wirkung von Insulin

3.3.2.1 Epidemiologische Studien

Studien belegen, dass der Plasmaspiegel an **Carotinoiden** bei Männern mit erhöhtem DM-II-Risiko invers mit den Nüchtern-BZ-Werten assoziiert ist. Der Zusammenhang zwischen der β -Carotin-Plasmakonzentration und Insulinresistenz ist dabei umgekehrt proportional [YLÖNEN et al., 2003]. Auch die „SU.VI.MAX.“-Studie (Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants) fand einen Zusammenhang der Plasmawerte an β -Carotin und der Entstehung von DM-II: Höhere β -Carotin-Plasmawerte waren mit niedrigeren Nüchtern-BZ-Werten assoziiert, allerdings auch mit höherem Obst- und Gemüsekonsum verbunden [CZERNICHOW et al., 2006].

Vitamin E zeigte im Zuge der „IRAS“-Studie keinen Zusammenhang mit Insulinsekretion oder -empfindlichkeit. **α -Tocopherol** wurde hingegen mit einer Verbesserung von Insulinresistenz und Insulinwirkung assoziiert [COSTACOU et al., 2008].

3.3.2.2 In vitro Versuche

α -Liponsäure (ALA) wird als eines der vielversprechendsten Antioxidantien im Zusammenhang mit der Prävention von Diabetes gesehen. *In vitro* bewahrt ALA die intrazelluläre Redoxbalance (hauptsächlich als Cofaktor für endogene Antioxidantien z.B. Glutathion) und blockiert zahlreiche Kinasen, die an der Entstehung von Insulinresistenz beteiligt sind [EVANS, 2007].

Neben der ALA erwiesen sich auch einige **Polyphenole** (u.a. Catechin, Quercetin) erwiesen sich *in vitro* (β -Zellen) bei oxidativem Stress als zellschützend [LAPIDOT et al., 2002].

3.3.2.3 Tierversuche

In verschiedenen diabetischen Tiermodellen wurden Nager (obese diabetic mice bzw. Zucker diabetic fatty rats) unter glukotoxischen Bedingungen mit Antioxidantien (N-Acetyl-L-Cystein (**NAC**) plus **Vitamin C und E**) gefüttert. Die Antioxidantienbehandlung war in diesen Versuchen erfolgreich: Bewahrung der Glukose-induzierten Insulinsekretion, moderate Verbesserung der Glukosetoleranz, verminderte Insulinresistenz, signifikanter Erhalt der β -Zellmasse, Aufrechterhaltung des Insulingehalts und der Insulin mRNA [KANETO et al., 2007; WRIGHT und SUTHERLAND, 2008]. In einer früheren Studie erwiesen sich Vitamin C und E nur in Kombination mit NAC in einem diabetischen Tiermodell als erfolgreich: Erhalt der β -Zellmasse und -funktion, erhöhter Insulingehalt und PDX-1 war im Nukleus der Inselzellen nachweisbar. Bei nicht-diabetischen Ratten konnte hingegen kein Effekt festgestellt werden [KANETO et al., 1999].

Eine fettreiche Diät löst bei Ratten vermehrt IRS-1-Serin-Phosphorylierung, verminderte Insulin-abhängige IRS-1-Tyrosin-Phosphorylierung, vermehrte JNK-Aktivierung und eine verminderte Insulin-Empfindlichkeit aus. Bei gleichzeitiger Antioxidantienfütterung (Vitamin C, Vitamin E und ALA) konnten in einer Studie diese negativen Effekte verhindert werden und die Insulinwirkung verbesserte sich [VINAYAGAMOORTHY et al., 2008].

Unter hyperglykämischen Bedingungen kommt es bei Ratten zu Insulinresistenz, diese konnte durch Infusionen von **NAC** bzw. **Taurin** verhindert werden und zusätzlich

wurden im Vergleich zur Kontrollgruppe (Hyperglykämie ohne Antioxidantien) geringere Insulinwerte und damit verminderte Gefahr einer Hyperinsulinämie, sowie geringere ROS-Gehalte gemessen [HABER et al., 2003].

In Insulinresistenz-Tiermodellen wurde durch Verabreichung von **ALA** im Skelettmuskel weniger oxidativer Stress, verbesserte Glukosetoleranz, sowie verbesserte Glukoseaufnahme festgestellt. Diese Effekte waren assoziiert mit gesteigerten Gehalten an IRS-1 und PI₃K sowie einer verringerten intrazellulären Lipidakkumulationen [WRIGHT und SUTHERLAND, 2008].

Durch eine Überexpression an **antioxidativen Enzymen** in den Inselzellen von transgenetic mice konnte die Toxizität von Hyperglykämie und Hyperlipidämie verhindert werden [EVANS et al., 2002].

3.3.2.4 Klinische Studien

In der französischen „SU.VI.MAX“-Studie (doppel-blind, Placebo-kontrolliert) bekam die Interventionsgruppe täglich eine Supplementation mit einer Mischung verschiedener Antioxidantien (120 mg Vitamin C, 30 mg Vitamin E, 6 mg β -Carotin, 100 μ g Selen und 20 mg Zink) verabreicht. Nach einer Interventionsperiode von 7,5 Jahren konnte hinsichtlich der Nüchtern-BZ-Werte kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe (Placebo) festgestellt werden [CZERNICHOW et al., 2006].

Mittels einer vierwöchigen, Placebo-kontrollierten Studie mit hochdosiertem **Vitamin C** (800 mg/d) konnte der erniedrigte Plasma-Vitamin C-Spiegel von Typ 2 Diabetikern zwar wesentlich angehoben werden, jedoch waren die Ergebnisse geringer als erwartet. Durch die Supplementation konnte keine signifikante Änderung der Nüchtern-BZ-Werte und auch keine Verbesserung der Insulinresistenz erzielt werden [CHEN et al., 2006]. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu anderen Studien (kurzer Untersuchungszeitraum) eine Verbesserung der Insulinempfindlichkeit aufzeigen [WRIGHT und SUTHERLAND, 2008].

Bereits Anfang der 90'er zeigten Studien mit hochdosiertem **Vitamin E** (900 mg/d für 4 Monate) positive Ergebnisse bei DM-II-Patienten: verbesserte Insulinwirkung, Reduzierung von Markern des oxidativen Stresses und zusätzlich fand eine signifikante Reduktion zahlreicher Parameter, welche mit diabetischen Komplikationen assoziiert sind, statt: HbA_{1c}, Triglyceride, freie Fettsäuren, Gesamtcholesterin und LDL-

Cholesterin. Diese Effekte wurden bei den teilnehmenden gesunden Probanden nicht als signifikant erfasst [PAOLISSO et al., 1993]. Die Ergebnisse sind allerdings umstritten, u.a. werden die geringe Probandenzahl (10 Gesunde, 15 mit DM-II) und die relativ kurze Studiendauer kritisiert [EVANS, 2007]. Eine ähnliche Studie (Supplementation von 800 IU Vitamin E/d) mit 80 übergewichtigen Probanden geht jedoch hinsichtlich der Resultate bezüglich oxidativem Stress und verbesserter Insulinwirkung konform. Zusätzlich verminderte Gabe von Vitamin E die Plasmakonzentrationen an ALT (Alanin-Aminotransferase), einem Risikofaktor für DM-II. Es konnten jedoch keine signifikanten Veränderung der Cholesterinwerte, HbA_{1c}-Level oder Zytokine (IL-6, TNF- α) festgestellt werden [MANNING et al., 2004].

Eine parenterale Infusion mit 1.000 mg **ALA** verbesserte in einer Studie die Glukoseaufnahme der Skelettmuskelzellen und sorgte für eine 50% Steigerung der Glukose-Verwendung. Weiters zeigen ähnliche Studien eine verbesserte Insulinwirkung durch Verabreichung von ALA [WRIGHT und SUTHERLAND, 2008]. Bei Patienten mit DM-II verbesserte eine intravenöse ALA-Infusion die Insulin-Empfindlichkeit, wohingegen orale ALA-Einnahme bislang kaum Nutzen zeigte [EVANS und GOLDFINE, 2000].

4 Oxidativer Stress und Antioxidantien im Krankheitsverlauf von Diabetes Mellitus II

4.1 Entstehung von oxidativem Stress durch diabetische Stoffwechsellage

DM-II ist eine Stoffwechselkrankheit, die durch erhöhte Blutglukosekonzentrationen und Abnormalitäten im Lipidstoffwechsel charakterisiert ist. In zahlreichen Studien konnte bei Diabetikern im Vergleich zu Stoffwechselgesunden ein erhöhtes Level an oxidativen Stressparametern gemessen werden [FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005]. Endogen gebildete freie Radikale können enzymatischen (NOS, NAD(P)H Oxidase, Xanthin Oxidase) oder nicht-enzymatischen (FFA, Hyperglykämie, etc.) Ursprungs sein [SCHULTZ JOHANSEN et al., 2005] (Abb. 19). Hyperglykämie ist bei DM-II die Hauptursache für oxidativen Stress.

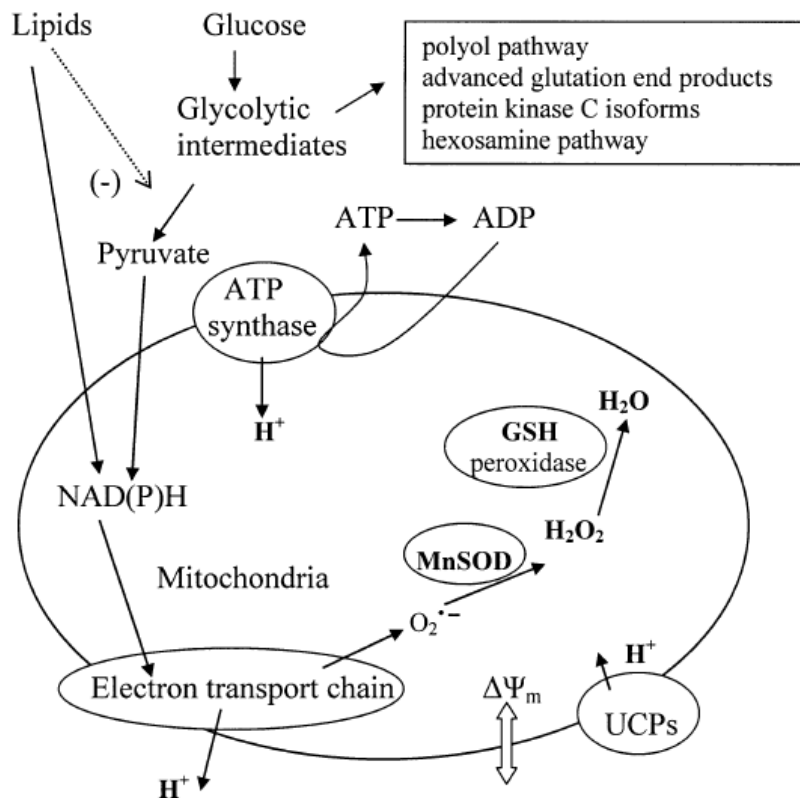


Abb. 19 Bildung und Wirkung von freien Radikalen durch Glukose und Lipiden [FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005].

Die Bildung von ROS ist bei Diabetikern erhöht und besonders bei jenen Personen mit geringer glykämischer Kontrolle [MOKINI et al, 2010]. Durch die exzessive Produktion von ROS und die Überaktivierung der aktivierten Stoffwechselwege kommt es zu Schäden an Makromolekülen und der Genexpression [KING und LOEKEN, 2004]. Neben der ROS-Produktion begünstigt die diabetische Stoffwechsellage auch die Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen, die die Progression von Folgekrankheiten zusätzlich begünstigen [CERIELLO und MOTZ, 2004].

4.1.1 Einfluss von Hyperglykämie auf die Entstehung von oxidativem Stress

Die hyperglykämische Stoffwechsellage gilt seit geraumer Zeit als Hauptursache von diabetischen Folgekrankheiten und kann über verschiedene Mechanismen zu oxidativem Stress führen. Da sich diese Vorgänge allerdings als sehr komplex erweisen, ist ein Zusammenhang mit Hyperglykämie nicht immer eindeutig zuordenbar [KING und LOEKEN, 2004]. Das Ausmaß der Radikalbildung und der Hyperglykämie-

induzierten Schädigung hängt von Glukosekonzentration und Expositionsdauer bzw. der antioxidativen Kapazität ab. Akute Hyperglykämie zeigt bei Probanden keine eindeutige Zunahme von oxidativem Stress [CHOI et al., 2008]. Die akuten Effekte dürften bei ausreichender TAC ausgeglichen werden [CERIELLO, 2003]. Zellen, die durch Hyperglykämie geschädigt werden, weisen meist einen Mangel der „Down-Regulierung“ des Glukosetransports auf. Die folgende intrazelluläre Hyperglykämie scheint der Auslöser für die Aktivierung verschiedener Stoffwechselwege zu sein, die zu einer gesteigerten ROS-Produktion führen [NISHIKAWA et al., 2000; SCOTT und KING, 2004]. Diabetische Tiermodelle zeigen, dass chronische Hyperglykämie zu einer vermehrten ROS-Bildung führt, wobei der Ursprung dieser Radikale jedoch nicht eindeutig festgestellt werden konnte [BUSIK et al., 2008].

4.1.1.1 Direkte Radikalbildung durch Hyperglykämie

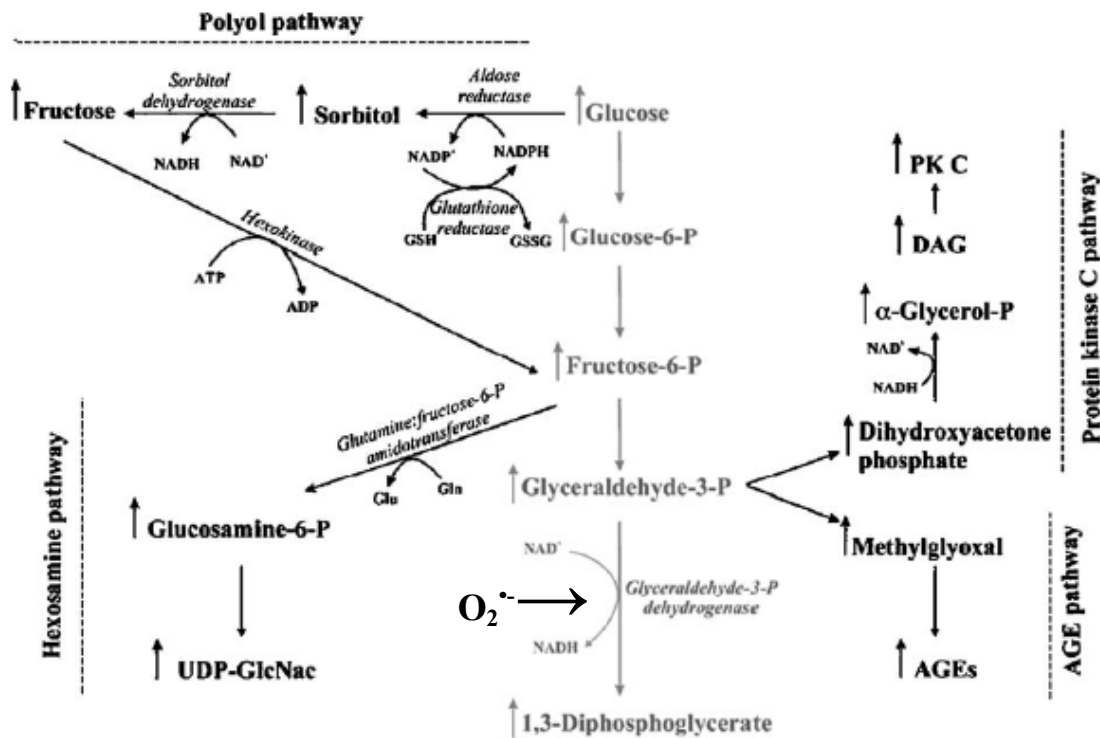
a. Glukose-Autoxidation

Seit Anfang der 90'er ist bekannt, dass Autoxidation von freier Glukose unter Anwesenheit von Übergangsmetallen stattfindet, dabei wird O_2 reduziert und es entsteht $O_2^{\cdot-}$ bzw. in weiterer Folge H_2O_2 . In Gegenwart von Übergangsmetallen kann in Folge auch das hochreaktive $\cdot OH$ entstehen [RÖSEN et al., 2001; BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2000].

b. Mitochondriale ROS-Bildung

Intrazelluläre Hyperglykämie (bedingt durch Mangel an „down“-Regulierung des Glukosetransporters) erzeugt eine Überproduktion von NADH und FAD (Flavin-Adenin-Dinucleotid) [JAY et al., 2006]. Die Zunahme von NADH induziert einen Anstieg des Protonengradienten in der inneren Mitochondrienmembran, der zu einer Blockade des Komplex III der Atmungskette führt und es wird vermehrt $O_2^{\cdot-}$ gebildet [CHOI et al., 2008]. In den vaskulären Zellen kann die NADPH Oxidase unabhängig vom mitochondrialen Metabolismus aktiviert werden, daher sind diese Zellen oxidativem Stress besonders ausgesetzt [SON, 2007]. Mitochondriale $O_2^{\cdot-}$ -Produktion steigert ebenso wie Hyperglykämie die *de novo* DAG-Synthese und trägt damit zur PKC-Aktivierung bei [JAY et al., 2006]. Hyperglykämie-induzierte $O_2^{\cdot-}$ -Produktion senkt signifikant die Aktivität von Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase

(GAPDH) und führt damit zu einer Anhäufung der Substrate der Hyperglykämie-abhängigen Stoffwechselwege. Bei der Hemmung von GAPDH dürfte auch die Glukose-induzierte Aktivierung von PARP und die Depletion NAD^+ eine wichtige Rolle spielen [BROWNLEE, 2001; NISHIKAWA et al., 2000] (Abb. 20). *In vitro* konnte unter hyperglykämischen Bedingungen durch eine Hemmung der mitochondrialen $\text{O}_2^{\cdot-}$ -Produktion (durch z.B.: Inhibitor des Elektronentransport) die Zunahme der PKC-Aktivität, die AGE-Bildung, die Aktivierung des Polyol-Stoffwechsels und die NF- κ B-Aktivierung unterdrückt werden [KING und LOEKEN, 2004]. Demzufolge könnte die durch Hyperglykämie ausgelöste mitochondriale ROS-Überproduktion zu einer Kaskade an Folgereaktionen führen [NISHIKAWA und ARAKI, 2007].



ADP...Adenosindiphosphat	GSH...Glutathion
AGEs...Advanced Glycosylation End Product	GSSG...Glutathiondisulfid
ATP...Adenosintriphosphat	NAD^+/NADH ...Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
DAG...Diacylglycerol	$\text{NADP}^+/\text{NADPH}$... Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
Gln...Glutamin	$\text{O}_2^{\cdot-}$...Superoxidanion
Glu...Glutamat	PKC...Proteinkinase C
UDP-Glc-NAc...Uridindiphospho-N-acetylglucosamin	

Abb. 20 . Hyperglykämie-induzierte Stoffwechselwege und der Einfluss des Superoxid-Radikals
(mod. nach ROLO und PALMEIRA, 2006)

4.1.1.2 Indirekte Radikalbildung durch verschiedene Stoffwechselwege

a. Aktivierung von Proteinkinase C

Hyperglykämie aktiviert PKC über verschiedene Mechanismen inklusive *de novo* DAG-Synthese, Aktivierung von Phospholipase C und Hemmung der DAG-Kinase [KING und LOEKEN, 2004]. *In vitro* wurde gezeigt, dass der DAG-Gehalt durch hohe Glukosekonzentrationen ansteigt und auch bei Diabetikern wurden erhöhte DAG-Level im Gewebe gemessen. Freie Radikale führen zu einem Anstieg an DAG und folglich zu einer gesteigerten PKC-Aktivierung [EVCIMEN und KING, 2007]. ROS können PKC auch direkt über die regulatorische Domäne aktivieren [VINCENT et al., 2004]. PKC spielt eine bedeutende Rolle in der Aktivierung von phagozytischen und nicht-phagozytischen NADPH Oxidasen und somit in der nachfolgenden ROS-Bildung [MOKINI et al., 2010]. In Folge der ROS-Bildung wird die GAPDH-Aktivität weiter gehemmt und die Glukose-abhängigen Stoffwechselwege noch mehr aktiviert. *In vivo* verlangsamt die Verwendung von spezifischen PKC-Hemmern die Progression von vaskulären Komplikationen und es werden signifikant weniger ROS gebildet [KING und LOEKEN, 2004; VINCENT et al., 2004] (siehe Kapitel 2.1.4.1).

b. Aktivierung des Polyolstoffwechselwegs

Hyperglykämie aktiviert das Enzym Aldosereduktase, welches NADPH abhängig ist. NADPH fehlt bei erhöhter Aktivität des Polyolstoffwechsels in der Regeneration von Glutathion, der Aktivierung von KAT und in der Synthese von NO. Der Polyolstoffwechsel trägt damit indirekt zur Entstehung von oxidativem Stress bei [JAY et al., 2006]. Die Anhäufung von Sorbit führt nicht nur zu einem osmotischen Ungleichgewicht, sondern dieser osmotische Stress führt ebenfalls zur Bildung von oxidativem Stress [VINCENT et al., 2004]. Das Enzym Sorbitdehydrogenase oxidiert Sorbit zu Fruktose und als Nebenprodukt entsteht dabei NADH, welches zur $O_2^{\bullet-}$ -Produktion beiträgt (siehe Kapitel 4.1.1.1) [JAY et al., 2006]. Zusätzlich führt die Aktivierung von Aldosereduktase zu einem Anstieg an DAG und somit zur verstärkten Aktivierung von PKC [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008]. Weiters werden Stresskinasen wie JNK oder p38 MAPK durch Sorbit aktiviert [EVANS et al., 2002].

c. Bildung von AGE

Die ROS-Bildung ist assoziiert mit einem begleitenden Anstieg intrazellulärer AGE-Bildung [BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2000]. AGEs werden durch nicht-enzymatische Reaktionen unter Katalyse von Übergangsmetallen oder in Folge der Autoxidation von Glukose gebildet und verursachen dabei einen Anstieg von ROS bzw. sie wirken selbst als Radikale [BROWNLEE, 2001; KING und LOEKEN, 2004]. AGEs werden daher auch als Biomarker für oxidativen Stress herangezogen [ARONSON und RAYFIELD, 2002]. Die Bindung von AGE an die RAGE löst eine Kaskade an Signaltransduktion-Ereignissen (MAPKs, NF- κ B, Activating Protein-1 (AP-1), etc.) aus. In Folge kommt es zur Bildung von freien Radikalen und es werden verschiedene Entzündungsmediatoren ausgeschüttet [SCOTT und KING, 2004; VINCENT et al., 2004]. Eine entscheidende Rolle spielt dabei die Aktivierung von NADPH-Oxidasen und redoxempfindlichen Transkriptionsfaktoren [JAY et al., 2006].

d. Hexosamin-Stoffwechselweg

Glukosamin-6-Phosphat, ein Produkt des Hexosamin-Stoffwechsels, hemmt das Enzym Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, welches mit der NADP⁺ Reduktion gekoppelt ist und in Folge kommt es zu einer weiteren Abnahme von NADPH [KING und LOEKEN, 2004]. *In vitro* führt die Aktivierung des Hexosamin-Stoffwechselwegs zu einer ROS-Zunahme sowie der Aktivierung von NF- κ B [EVANS et al., 2002].

e. NF- κ B

Die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B durch Hyperglykämie, ROS oder andere Faktoren wird als initialer Signaleffekt gesehen. In Folge nehmen PKC-Aktivität, AGE-Bildung sowie Sorbit-Konzentrationen zu und der erhöhte NF- κ B-Aktivität führt nicht nur zu schädigenden Entzündungen, sondern trägt auch indirekt zur ROS-Produktion bei [EVANS et al., 2003] (siehe Kapitel 2.2.2.3).

f. Stresskinasen

JNK, SAPK und p38 MAPK sind bei DM-II die wichtigsten Stresskinasen und werden durch alle Faktoren, die zu oxidativem Stress führen ausgelöst. Sie beeinflussen unter anderem Zellwachstum, Entzündung, Apoptose und sie werden mit verminderter

Superoxid-Dismutase-Expression assoziiert [EVANS et al., 2002] (siehe Kapitel 2.2.2.3).

4.1.2 Einfluss von Lipiden auf die Entstehung von oxidativem Stress

FFA wirken hauptsächlich an der Entstehung von Insulinresistenz (siehe Kapitel 3.1.1.2.1) und β -Zell-Dysfunktion (siehe Kapitel 3.2.2.2) mit [RACHEK et al., 2007]. Erhöhte FFA-Plasmalevel führen über den Zitratzyklus zu einer Überproduktion von NAD^+ , welche eine gesteigerte mitochondriale $\text{O}_2^{\bullet-}$ -Produktion zur Folge hat [SON, 2007]. Tiermodelle zeigen, dass Übergewicht mit einem erhöhten Plasmalevel von FFA assoziiert ist, was wiederum eine gesteigerte ROS-Produktion zur Folge haben und zu einer endothelialen Dysfunktion führen kann [CHINEN et al., 2007] (Abb. 21).

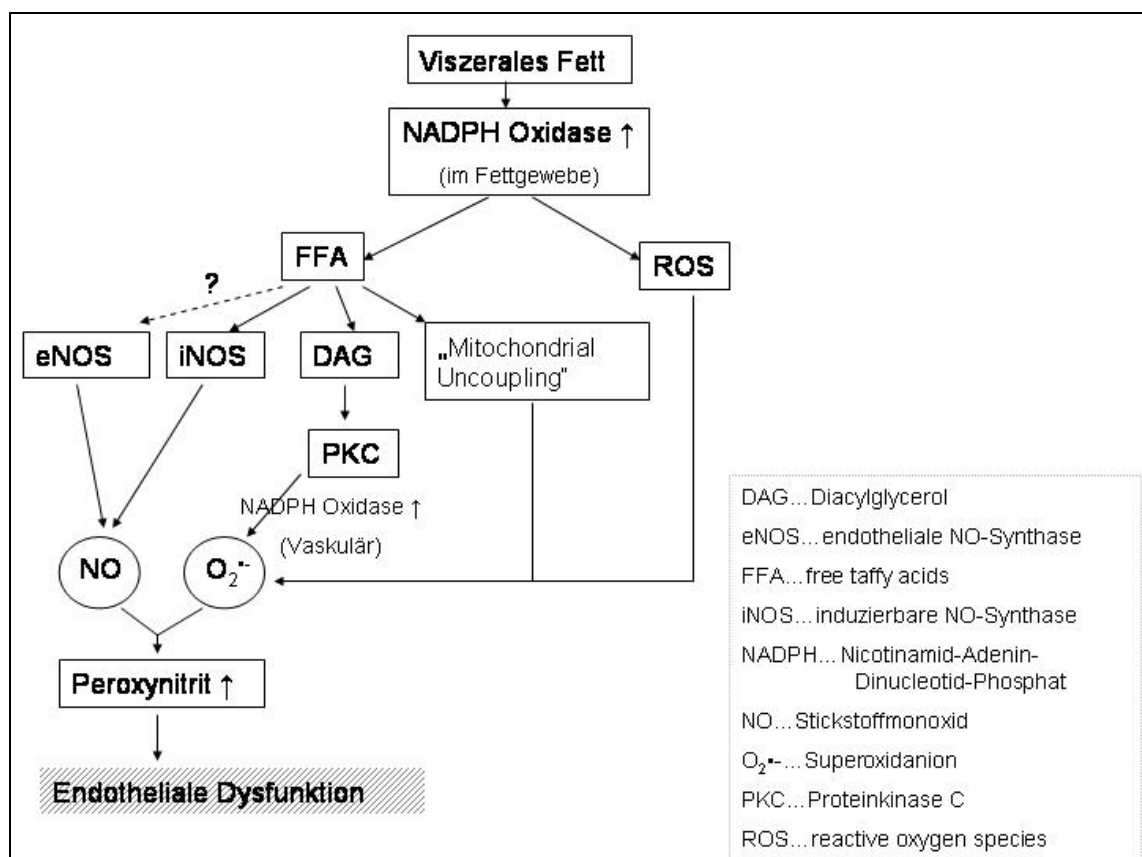


Abb. 21 FFA induzierte Radikalbildung und Entstehung der endothelialen Dysfunktion

(Mod. nach CHINEN et al., 2007)

In vitro wurde gezeigt, dass durch Palmitinsäure die Aktivität von iNOS gesteigert wird, woraus ein Anstieg an NO resultiert, welches mit $O_2^{\cdot-}$ zu dem hochreaktiven Peroxynitrit reagiert, das wiederum DNA-Schäden und Apoptose hervorrufen kann [RACHEK et al., 2007]. FFA führen wie Hyperglykämie zu einer gesteigerten PKC-Aktivierung und einer Abnahme der NF- κ B-Inhibition [KING und LOEKEN, 2004]. Zudem zeigen Studien, dass es durch FFA-Infusionen bei Probanden zu einer Glutathion-Abnahme und einer Zunahme von Lipidperoxiden kommt. Plasmawerte von Leptin, einem von Adipozyten produzierten Hormon, sind bei DM-II erhöht. Leptin ist mit kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert und führt *in vitro* zu einem ROS-Anstieg [SCOTT und KING, 2004; JAY et al., 2006].

4.1.3 Einfluss von Insulin auf die Entstehung von oxidativem Stress

Einige Studien assoziieren Hyperinsulinämie mit vermehrter ROS-Bildung, der molekulare Mechanismus ist jedoch noch unklar und es häufen sich Studien, die Insulin mit vermindertem oxidativen Stress assoziieren. Im diabetischen Tiermodell konnte jedoch gezeigt werden, dass es durch Hyperglykämie allein zu signifikant mehr oxidativem Stress kommt als in Kombination mit Hyperinsulinämie [KYSELOVA et al., 2002]. In einer klinischen Studie wurde festgestellt, dass DM-II-Patienten durch Insulintherapie verminderten oxidativen Stress (im Vergleich zu Studienbeginn) aufwiesen. Dies wird auf geringere Exposition von supraphysiologischen Glukosekonzentrationen und damit eine verminderte ROS-Bildung zurückgeführt [MONNIER et al., 2010]. *In vivo* wurde mittels Clampuntersuchung (hyperinsulinämisch, euglykämisch) gezeigt, dass Insulin das GSH/GSSG Verhältnis verbessert und Insulin somit direkt intrazellulären oxidativen Stress vermindert [ZOUREK et al., 2008]. Patienten mit intensiver Insulintherapie hatten in einer Studie einen um 2% niedrigeren HbA_{1c} als jene mit konventioneller Therapie und zudem traten diabetische Komplikationen signifikant weniger auf [NISHIKAWA et al., 2000].

4.2 Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von diabetischen Folgekrankheiten

ROS und der intrazelluläre Redoxzustand spielen eine zentrale Rolle in der Entstehung von diabetischen Komplikationen. Bei ungenügender antioxidativer Kapazität kommt es nicht nur zu einer Schädigung von Membranen (Lipidperoxidation), sondern es verändern sich auch die Struktur und Funktion der betroffenen Zellen [RÖSEN und BELLIN, 2004]. Neben dem Einfluss von oxidativem Stress, Hyperglykämie und Entzündungsvorgängen ist die genetische Prädisposition für die Entstehung von diabetischen Folgekrankheiten von besonderer Bedeutung [POP-BUSUI et al., 2006] (siehe Kapitel 2.1.4.3).

4.2.1 Direkter Einfluss von oxidativem Stress auf diabetische Folgeerkrankungen

Bei DM-II findet durch Hyperglykämie und den veränderten Redoxstatus vermehrt die **Oxidation von LDL-Cholesterin** (oxLDL) statt. OxLDL gilt als Risikofaktor für Atherosklerose und führt über Aktivierung von NADPH-Oxidasen zur weiteren ROS-Produktion [JAY et al., 2006]. OxLDL bindet an speziellen Rezeptoren an der Makrophagenoberfläche, welche in Folge oxLDL vermehrt aufnehmen und zu Schaumzellen mutieren [SORG, 2004]. OxLDL neigt zudem zur Aggregation, stimuliert in großen Gefäßen die Monozyten-Adhäsion und trägt mit diesen Vorgängen zur Plaquebildung bei [HAMMES, 2003; LIPINSKI, 2000]. OxLDL vermindert zudem die Vasorelaxtion [CAI und HARRISON, 2000].

Hyperglykämie induziert über verschiedene Mechanismen (u.a. oxidativer Stress und NF- κ B) die Ausschüttung von zahlreichen **Entzündungsfaktoren** wie C-reaktives Protein oder diversen Zytokinen welche mit der Entstehung von Atherosklerose in Verbindung gebracht werden. Während der Entzündung aktivierte Leukozyten verursachen zudem einen weiteren ROS-Anstieg [LIPINSKI, 2000; ESPOSITO et al., 2002; STENTZ et al., 2004]. Oxidativer Stress fördert die Adhäsion von Entzündungszellen am Endothel und trägt so zusätzlich zur Entstehung von vaskulären Komplikationen bei [TANIYAMA und GRIENDLING, 2003].

Der Haupteffekte von ROS in den Endothelzellen ist eine **verminderte Vasorelaxation** und damit steigt das Risiko einer **Hypertonie** [TANIYAMA und GRIENDLING, 2003]. ROS aktivieren die Cyclooxygenase-2 (COX-2), welche vasokonstriktive Faktoren (Thromboxan A₂, Prostacyclin, etc.) freisetzt und zusätzlich zur Bildung von oxidativem Stress beiträgt [POP-BUSUI et al., 2006].

O₂^{•-} reagiert mit NO zu Peroxynitrit und vermindert dadurch die Bioverfügbarkeit von **NO** (früher auch als Endothelium-derived relaxing factor bezeichnet) [CAI und HARRISON, 2000]. NO hat auch noch andere vasoprotektive Wirkungen wie die Verringerung der Adhäsion von Leukozyten und Thrombozyten am Endothel. Peroxynitrit ist hingegen ein hochreaktives Radikal, welches eine Kaskade von Oxidations-Reaktionen nach sich zieht [SCHULTZ JOHANSEN et al, 2005]. Zusätzlich verstärkt Peroxynitrit die Aktivierung von PKC und NFκB [SZABO, 2009]. Die endotheliale NO-Synthase (eNOS) wird durch mitochondrial gebildetes Superoxid, Peroxynitrit, Hyperglykämie und PKC gehemmt bzw. modifiziert und in Folge kommt es zur Gefäßkonstriktion [CERIELLO, 2003; MOKINI et al., 2010].

Bei einer akuten Hyperglykämie wird hingegen die eNOS gesteigert und es kommt zur Vasorelaxation [CHOI et al., 2008] (Abb. 22).

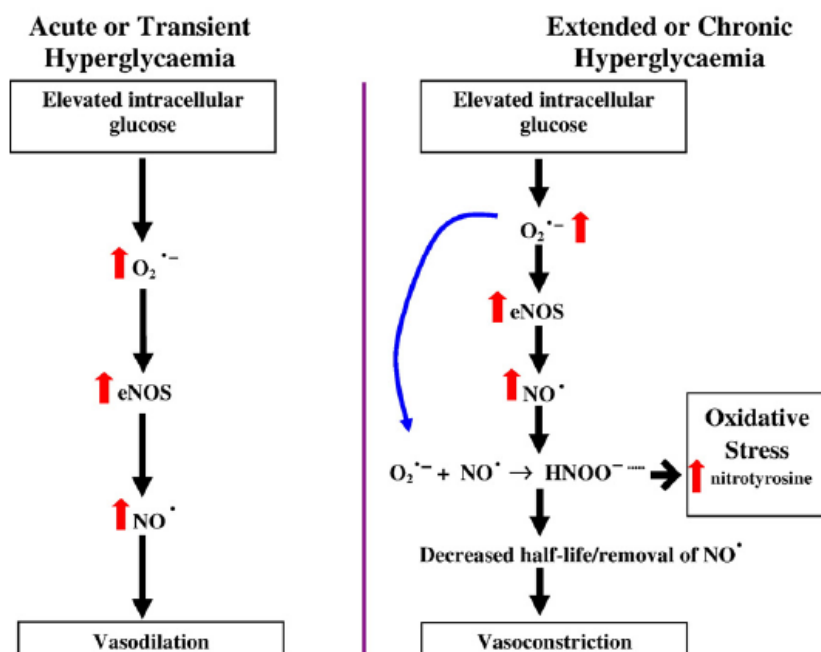


Abb. 22 Wirkung von Hyperglykämie-induzierter Superoxid-Produktion auf die Synthese von Stickstoffmonoxid [CHOI et al., 2008]

Die „**Entkoppelte**“ **eNOS** trägt massiv zur Entstehung von oxidativem Stress bei. Dieses Enzym wird auch als Peroxynitrit-Generator bezeichnet, da es sowohl NO als auch $O_2^{\cdot -}$ produzieren kann [CAI und HARRISON, 2000]. *In vivo* wurde gezeigt, dass es durch intrazelluläre ROS oder Hyperglykämie zum Entkoppeln des Enzyms kommen kann [SZABO, 2009; RÖSEN et al., 2001]. Auch Peroxynitrit trägt zum „Entkoppeln“ von eNOS bei indem es den Cofaktor Tetrahydrobiopterin (BH_4) oxidiert [SON, 2007].

PARP (Poly-ADP-Ribose-Polymerase) ist ein in sensorischen Nerven- und Endothelzellen vorkommendes Enzym, das durch Hyperglykämie und ROS aktiviert werden kann [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008]. PARP hemmt das Enzym GADPH (Abb. 20), führt damit zur Aktivierung sämtlicher mit diabetischen Folgekrankheiten assoziierter Stoffwechselwege und könnte somit als früher Marker für diabetische Komplikationen gesehen werden [SZABO, 2009]. Durch Überstimulation kommt es zu Veränderungen in der Genexpression, einem Anstieg an ROS, Depletion von NAD^+ , gesteigerter PKC-Aktivierung und AGE-Bildung. Verstärkte PARP-Aktivierung führt zu neurovaskulären Abnormalitäten, die die Entstehung einer diabetischen Neuropathie begünstigen [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008].

Angiotensin-II wirkt vasokonstriktiv und spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung von Nephropathie, Neuropathie und Retinopathie [BROWNLEE, 2001; SZABO, 2009]. Angiotensin-II induziert Hypertonie, Hypercholesterinämie und Hyperglykämie und ist durch eine gesteigerte NADH/NADPH Oxidase-Aktivität mit oxidativem Stress assoziiert [CAI und HARRISON, 2000]. Zudem verstärkt Angiotensin-II die Peroxynitrit-Bildung wie auch die PARP-Aktivierung [SZABO, 2009].

Durch ROS-induzierte **Apoptose** kommt es zu einem Verlust an Endothelzellen, welcher die Bildung von Koagulaten und Atherosklerose fördert [TANIYAMA und GRIENDLING, 2003]. ROS und oxLDL schädigen zusätzlich die Zellen der glatten Muskulatur und führen so zu Gewebsläsionen, die das Risiko einer vaskulären Erkrankung verstärken [JAY et al., 2006]. Die Apoptose ist auch an der Pathogenese von mikrovaskulären Erkrankungen wie Retinopathie und Neuropathie beteiligt und wird neben ROS durch zahlreiche andere Stress-assoziierte Faktoren (z.B.: NF- κ B) ausgelöst [POP-BUSUI et al., 2006].

Zusätzlich ist die **Angiogenese** bei Diabetikern beeinträchtigt, da unter anderem Proliferation und Migration von Endothelzellen durch ROS gestört sind [MOKINI et al., 2010].

Zu **Plaquebildung** kommt es durch ROS-induzierte Zunahme der Expression zahlreicher Adhäsionsmoleküle inklusive VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) und ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1), welche Monozyten bzw. Makrophagen in die Gefäßwand anlocken. TNF- α und IL-1 induzierte Genexpression von ICAM-1 und VCAM-1 kann durch Antioxidantien unterdrückt werden [MOKINI et al., 2010; TANIYAMA und GRIENDLING, 2003]. Aktivierte Monozyten tragen zudem unter hyperglykämischen Bedingungen zur ROS-Bildung bei indem sie vermehrt NF- κ B und PKC aktivieren [JAY et al., 2006].

Durch oxidativen Stress kommt es zu **Veränderungen der glatten Muskulatur** wie gesteigertem Wachstum (Hypertrophie), Migration und Änderungen der Kontraktion. Zusätzlich wird die Produktion von Metalloproteinasen durch ROS verstärkt. In Folge es kommt es zu Plaquestabilisierung bzw. – Loslösung und somit zum erhöhten Risiko für Gefäßverschlüsse [MOKINI et al., 2010].

ROS induzieren eine **Strukturmodifikation von Fibrinogen**, die eine verminderte Löslichkeit des Fibrinogen sowie die Bildung des unlöslichen FLM (Fibrin-Like Material) zur Folge hat [LIPINSKI, 2000].

4.2.2 Indirekter Einfluss von oxidativem Stress auf diabetische Folgeerkrankungen

Die Konzentration von DAG und folglich die **PKC**-Aktivierung ist bei Diabetikern besonders in vaskulären Geweben inklusive Retina, Aorta, Herz und renalen Glomeruli erhöht [SPITALER und GRAIER, 2002]. Durch die PKC-Aktivierung kommt es zu Veränderungen, die kardiovaskuläre Erkrankungen fördern (Verdickung der Basalmembran, verminderte Vasorelaxtion, Veränderungen der vaskuläre Permeabilität, Angiogenese, Zellwachstum und Enzym-Aktivität z.B. Na⁺-K⁺-ATPase) [EVCIMEN und KING, 2007; SZABO, 2009]. Überstimulation von PKC führt zur Überexpression zahlreicher Faktoren (VEGF, PAI-1, TGF- β , NF- κ B, etc.), die die Entstehung von

oxidativem Stress, Entzündungsprozessen und Angiopathien fördern [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008] (Abb. 23).

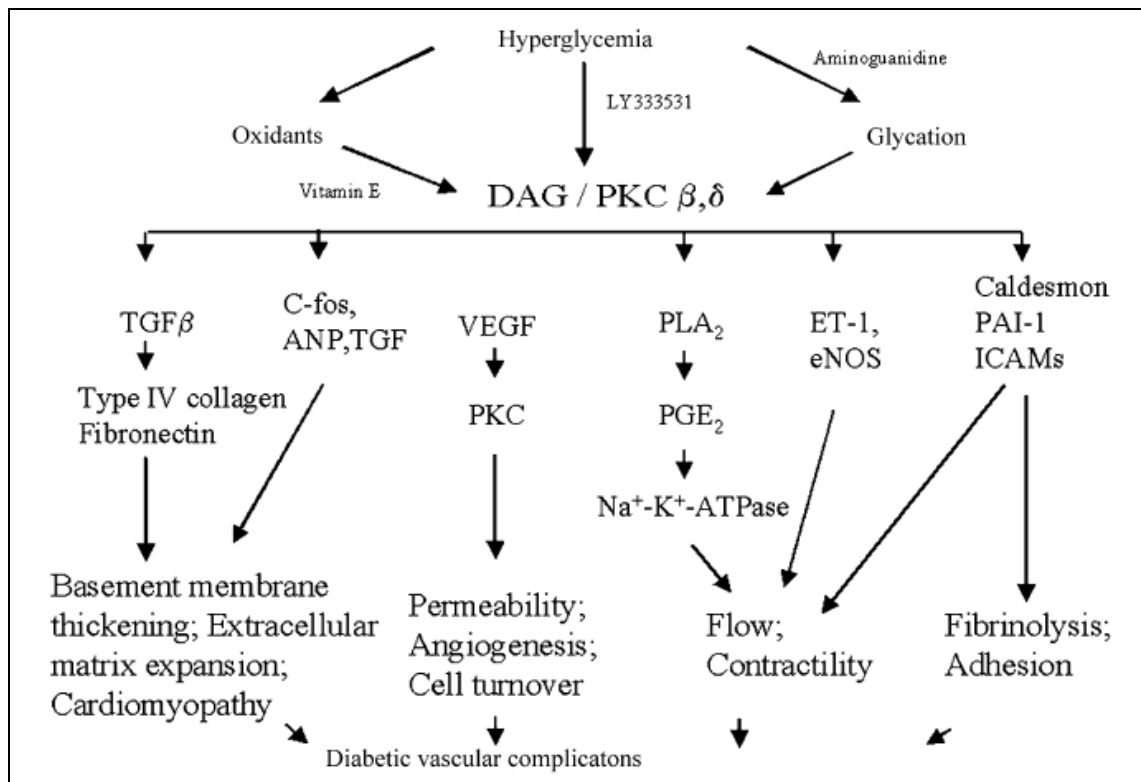


Abb. 23 Physiologische Effekte und zelluläre Mechanismen einer PKC-Aktivierung

[EVCIMEN und KING, 2007]

Der durch Sorbit-Anhäufung induzierte osmotische Stress wird ebenso mit vaskulären Komplikationen in Verbindung gebracht. Eine Hemmung des Enzyms Aldosereduktase (**Polystoffwechselweg**) zeigte im diabetischen Tiermodell eine signifikante Senkung der Entstehung von diabetischen Komplikationen [SZABO, 2009].

AGEs sind auf unterschiedlichsten Weg Promotoren von Arteriosklerose (Abb. 6): LDL-Modifikationen, verstärkte Kollagenvernetzung, verminderte NO-Synthese, Zytokin-Freisetzung (TNF- α , IL-1, etc.), Anlockung von Monozyten und Makrophagen, Induktion der zellulären Proliferation, endotheliale Dysfunktion, gesteigerte Expression von Adhäsionsmolekülen, NF κ B-Aktivierung und gesteigertem intrazellulären oxidativen Stress [ARONSON und RAYFIELD, 2002]. Zusätzlich erhöhen AGEs die Expression von VCAM-1 und die Permeabilität des Endothels [JAY et al., 2006]. AGEs werden auch als Marker für oxidativen Stress und diabetische kardiovaskuläre Erkrankungen herangezogen [EVANS et al., 2002].

Das Endprodukt des **Hexosamin**-Stoffwechselwegs UDP-Glc-NAc beeinflusst die Genexpression von PAI-1 und TGF- β 1 [ROLO und PALMEIRA, 2006]. Durch die erhöhte Ausschüttung von PAI-1 und damit erniedrigter Fibrinolyse sind das Embolie-Risiko und damit die Wahrscheinlichkeit eines Herzinfarkts erhöht. Durch Überexpression an TGF- β 1 kommt es zur Stimulierung der Kollagenproduktion und einer Suppression der Mitogenese der Mesangialzellen [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008].

NF- κ B regelt die Genexpression und damit die Ausschüttung zahlreicher mit kardiovaskulären Erkrankungen verbundenen Faktoren wie z.B.: VEGF, Adhäsionsmoleküle und proinflammatorischen Zytokinen (z.B.: TNF- α , IL-1) [EVANS et al., 2002; SPITALER und GRAIER, 2002]. Zudem führt die NF- κ B-Aktivierung zu Apoptose in Endothelzellen [KOWLURU und CHAN, 2007].

4.2.3 Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von vaskulären Erkrankungen

Das Herzkreislauferkrankungs-Risiko ist für Diabetiker um das Vier- bis Fünffache höher als für Nicht-Diabetiker und kardiovaskuläre Ereignisse sind die häufigste Todesursache bei DM-II. Neben Bluthochdruck und Dyslipidämie ist vor allem der diabetische Status an sich ein unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung von Herzkreislauferkrankungen [RAHIMI et al., 2005; HU et al., 2002].

Das zentrale Ziel der Prävention von Herzkreislauferkrankungen ist die Vermeidung des Hauptrisikofaktors Hyperglykämie und der damit verbundenen mitochondrialen ROS-Produktion [NISHIKAWA et al., 2007]. In zahlreichen prospektiven Langzeitstudien wurde gezeigt, dass glykämische Kontrolle als Prädiktor für Angiopathien dient. Vaskuläre Endothelzellen sind wichtige Angriffsziele von hyperglykämischen Schädigungen, der Mechanismus ist bis jetzt jedoch noch nicht vollständig geklärt [CERIELLO, 2003]. Bei DM-Probanden konnte durch BZ-Normalisierung mittels Insulintherapie das Vorkommen von oxidativem Stress, Lipidperoxiden und proinflammatorischen Zytokinen und damit das kardiovaskuläre Risiko deutlich gesenkt werden [STENTZ et al., 2004]. Hyperinsulinämie gilt als unabhängiger Risikofaktor für Angiopathien, da diese mit erhöhtem Blutdruck (u.a. verstärkt Insulin die Na⁺-

Rückresorption in der Niere) assoziiert ist [GIUGLIANO et al., 1995; TIWARI et al., 2007].

Es gibt ausreichend Hinweise, dass oxidativer Stress eine entscheidende Rolle in der Entstehung von vaskulären Erkrankungen spielt. Die genauen Quellen und Signalkaskaden der freien Radikale sind dabei noch nicht vollständig geklärt [SPITALER und GRAIER, 2002; SORG, 2004]. Die Bildung von ROS und der intrazelluläre Redoxzustand sind von großer Bedeutung für die Entstehung von endothelialer Dysfunktion und in Folge für die Entwicklung von Gefäßkrankheiten [RÖSEN und BELLIN, 2004].

Bei Patienten mit diabetischen Folgeerkrankungen können im Vergleich zu jenen ohne Komplikationen signifikant höhere Werte für intrazellulären oxidativen Stress gemessen werden [NISHIKAWA und ARAKI, 2007]. Besonders die Oxidation von Proteinen und Lipiden ist mit der Pathogenese von Mikro- und Makroangiopathien assoziiert [RAMAKRISHNA und JAILKHANI, 2008]. Das Endothel ist besonders gefährdet, da Endothelzellen im Gegensatz zu anderen Zellen bei hyperglykämischer Stoffwechsellage nicht in der Lage sind Glukose in den Extrazellulärraum zu transportieren und es in Folge vermehrt zur Bildung von ROS kommt. Endothelzellen mit geringen endogenen antioxidativen Kapazitäten (wie es bei DM-II der Fall ist) sind somit extrem empfindlich gegenüber oxidativem Stress [SZABO, 2009].

In makrovaskulären (nicht jedoch in mikrovaskulären) Endothelzellen führt erhöhter FFA-Flux aus den Adipozyten zu erhöhtem oxidativem Stress bzw. zu einer gesteigerten Fettsäuren-Oxidation [FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005]. Die ROS-Produktion im Endothel stammt hauptsächlich aus zwei Quellen: 1. Aktivierung der NADPH Oxidase durch Hyperglykämie bzw. verschiedene Stoffwechselwege (PKC, AGE, etc.) und 2. „Entkoppelte“ eNOS (Kap. 4.2.1.1.) [SON, 2007]. Auf molekularer Ebene kommt es durch oxidativen Stress zu zahlreichen Ereignissen, welche die Pathogenese und Progression von Angiopathien fördern [MOKINI et al., 2010]

(Abb. 24).

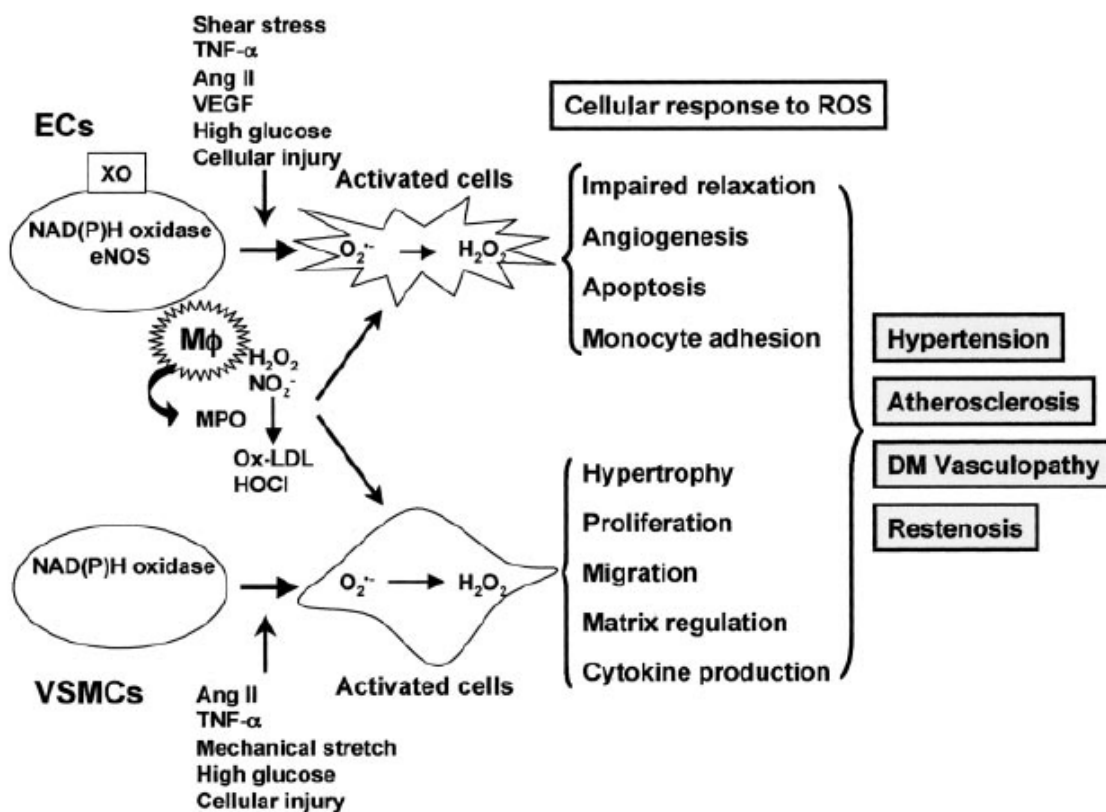


Abb. 24 Molekularer Mechanismus der vaskulären Komplikationen [TANIYAMA und GRIENDLING, 2003]

4.2.4 Einfluss von oxidativem Stress auf spezielle diabetische Komplikationen

4.2.4.1 Mikrovaskuläre Erkrankungen

Mikrovaskuläre Erkrankungen werden nur unter diabetischen Zuständen beobachtet und sind direkt mit Hyperglykämie assoziiert. Der genaue molekulare Mechanismus der Entstehung von Mikroangiopathien ist noch nicht aufgeklärt [RÖSEN et al., 2001]. Oxidativer Stress könnte an die Entstehung von Mikroangiopathien beteiligt sein, jedoch treten diese nicht bei anderen mit oxidativem Stress assoziierten Erkrankungen (z.B. Alterung) auf und *in vitro* konnte kein Zusammenhang zwischen O₂^{•-} und der Entstehung von mikrovaskulären Erkrankungen festgestellt werden [SCOTT und KING, 2004; KING und LOEKEN, 2004]. Ein Marker von oxidativem Stress (8-Hydroxydeoxyguanosin (8-OHdG) ist bei Patienten mit diabetischer Retinopathie und

Nephropathie jedoch signifikant erhöht und korreliert eng mit dem HbA_{1c} [NISHIKAWA et al., 2007]. Oxidativer Stress dürfte somit zwar beteiligt, aber nicht der primäre Auslöser von mikrovaskulären Komplikationen sein [EVANS et al., 2002] (Abb. 25).

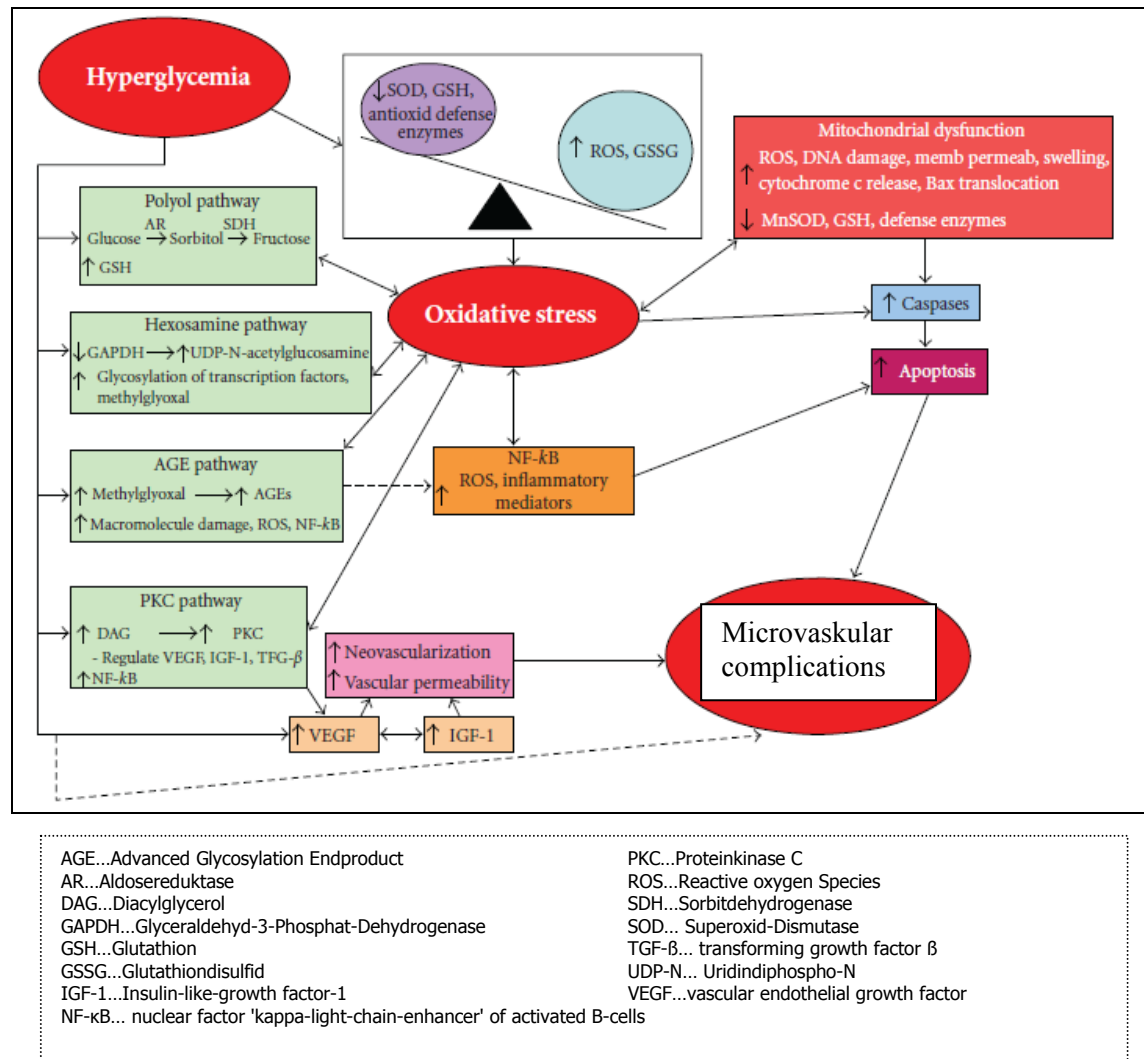


Abb. 25 Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung von Mikrovaskulären Komplikationen
(mod. nach KOWLURU und CHAN, 2007)

VEGF ist ein wichtiger Faktor der Angiogenese, dürfte der Initiator der diabetischen Retinopathie sein und wird auch mit Nephropathie sowie Neuropathie assoziiert. Die VEGF-Expression kann durch Antioxidantiengabe nachweislich unterdrückt werden [EVANS et al., 2002]. AGEs initiieren ebenfalls mikrovaskuläre Komplikationen [ROLO und PALMEIRA, 2006]. PKC-Hemmer zeigten im diabetischen Tiermodell,

dass die Entstehung von Nephropathie und Retinopathie unterdrückt werden konnte [BROWNLEE, 2001].

a. Nephropathie

Diabetische Nephropathie ist gekennzeichnet durch Proteinurie und führt häufig dazu, dass DM-Patienten zu Dialyse-Patienten werden. In der Therapie ist vor allem die Blutzucker- und Blutdruckkontrolle essentiell [MEHNERT et al., 2003].

ROS führen zu DNA-Schäden, die zur Entstehung von diabetischer Nephropathie führen können und werden auch als primäre Mediatoren in der Pathogenese gesehen [HA und KIM, 1999; SON, 2007]. Hyperglykämie führt *in vitro* in glomerulären Mesangialzellen direkt zu einem Anstieg von $\text{OH}^\bullet$ und zu einer vermehrten Lipidperoxidation. Indirekt wirken hohe Glukosekonzentrationen über Aktivierung von PKC, MAPK und Zytokine am Entzündungsgeschehen und der Entstehung von oxidativem Stress mit [RAHIMI et al., 2005]. AGE Interaktion mit RAGE führt zu einem Anstieg von ROS und gilt als unabhängiger Risikofaktor für diabetische Nephropathie [HA und KIM, 1999].

Bei diabetischer Nephropathie kommt es zu einer erhöhten glomerulären Filtrationsrate, einem Anstieg des renalen Blutflusses und in Folge steigt der glomeruläre Filtrationsdruck, welcher das Nierengewebe weiter schädigt [EVCIMEN und KING, 2007]. Angiotensin II ist unter anderem für den Blutdruckanstieg verantwortlich und ist begleitet von oxidativem Stress [TANIYAMA und GRIENDLING, 2003]. ROS lösen eine Signaltransduktionskaskade aus, die zu einer vermehrten Expression von Genen und Proteinen führt, die mit Nephropathie assoziiert sind [LEE et al., 2003]. Im Frühstadium der diabetischen Glomerulopathie führen ROS zu einer PGE_2 -Überproduktion (Prostaglandin E_2) durch Aktivierung der $\text{NF}\kappa\text{B}$ -abhängigen COX-2 in den mesangialen Zellen [MOKINI et al., 2010]. PGE_2 spielt eine wichtige Rolle in der Regulation des Nierenblutdrucks und ist ein wichtiger Entzündungsfaktor [NISHIKAWA und ARAKI, 2007]. $\text{NF}\kappa\text{B}$ führt zu einer Monozyten-Infiltration, welche maßgeblich an der Pathogenese beteiligt ist. ROS führen zudem zu einer „Up-Regulierung“ von TGF- β und Fibronektin, welche sich in der extrazellulären Matrix der Niere einlagern - dieser Vorgang ist ein typisches Kennzeichen der diabetischen Nephropathie [LEE et al., 2003].

b. Retinopathie

Die Retina ist besonders reich an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, hat die höchste Sauerstoffaufnahme aller Gewebe und es findet vermehrt Glukoseoxidation statt. Die Retina ist daher besonders gefährdet für die Entstehung von oxidativem Stress und unter hyperglykämischen Bedingungen wird in den retinalen Endothelzellen vermehrt ROS gemessen. Werden diese Zellen *in vitro* supraphysiologischen Glukosekonzentrationen ausgesetzt, erweisen sich die antioxidativen Systeme (SOD, GSH-Px, KAT und GSH) als insuffizient [KOWLURU und CHAN, 2007; MOKINI et al., 2010]. Ein initiales Ereignis in der Progression von diabetischer Retinopathie ist die vermutlich NF- κ B-induzierte Apoptose von retinalen Kapillarzellen. Die Hauptursache der Retinopathie ist jedoch die passive Diffusion von Glukose in das Linsengewebe, wodurch der Polyolstoffwechsel aktiviert wird und es zur Akkumulation von Polyolen kommt, da diese nicht diffundieren können. In Folge kommt es zu osmotischem und oxidativem Stress, welcher zur Entstehung der diabetischen Retinopathie führen [RAHIMI et al., 2005]. Weiters ist die AGE-Akkumulation im retinalen Gewebe eng mit diabetischer Retinopathie assoziiert. Sie führt über NF- κ B und ROS zur Kapillarzell-Apoptose [KOWLURU und CHAN, 2007]. Vermehrte Zytokin-Ausschüttung (IL-1, IL-8, TNF- α) durch oxidativen Stress führt zu Leukozyten Aktivierung, welche ebenfalls an der Entstehung der Retinopathie beteiligt sind [BUSIK et al., 2008]. Zytokine führen zudem indirekt über PGE₂ zur Veränderung von VEGF-abhängigen Permeabilität und Angiogenese [KOWLURU und CHAN, 2007].

4.2.4.2 Neuropathie

Die Hälfte aller Typ II Diabetiker erkrankt im Laufe des Lebens an Neuropathien [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008]. Das Risiko für diabetische Neuropathien steigt mit der Krankheitsdauer und ist abhängig von der glykämischen Kontrolle [VINCENT et al., 2004]. Betroffen ist hauptsächlich das periphere Nervensystem hier jedoch sowohl das autonome als auch das somatische Nervensystem. Durch Beeinträchtigung des autonomen Nervensystems auftretende Herzrhythmusstörungen können bei Diabetikern zum akuten Herztod führen [WADA und YAGIHASHI, 2005]. Ein weiterer wichtiger Aspekt der diabetischen Polyneuropathie ist die verminderte Regenerationsfähigkeit der Nervenfasern bei Diabetikern [RÖSEN et al., 2001] -

metabolische und oxidative Insulte bewirken häufig eine rasche Veränderung von Gliazellen [RAHIMI et al., 2005]. Eine ROS-abhängige Nervendysfunktion bei Diabetikern scheint durch neurovaskuläre Defekte verursacht zu sein, welche mit einer Mikroangiopathie-bedingten Hypoxie assoziiert ist [MOKINI et al., 2010; WADA und YAGIHASHI, 2005]. Axone reagieren besonders empfindlich auf Hyperglykämie, da sie durch ihre Nähe zum Blutfluss hohen Konzentrationen ausgesetzt sind und viele ROS-empfindliche Mitochondrien hat [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008]. Weiters schädigen ROS direkt Neurone und Schwann-Zellen [CAMERON und COTTER, 1999].

Durch erhöhte Glukosekonzentrationen im Gewebe wird die **AGE-Bildung** im peripheren Nervengewebe gefördert. AGEs verursachen Struktur und Funktionsveränderungen durch Proteinmodifikation im peripheren Nervengewebe davon betroffen sind unter anderem Kollagen, Endothelzellen der Gefäße, Schwann-Zellen und Axone [WADA und YAGIHASHI, 2005]. **RAGE**-Aktivierung durch extrazelluläre AGEs führt im diabetischen Tiermodell zur Entstehung und Fortschreiten der diabetischen Neuropathie und zusätzlich werden zahlreiche Faktoren aktiviert, die zu oxidativem Stress führen (PKC, NF- κ B, NADPH Oxidase) [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008].

Der Anstieg von Sorbit und Fruktose durch den **Polyol**-Stoffwechselweg ist assoziiert mit einer Dysregulierung von PKC und Na⁺-K⁺-ATPase woraus zusätzlich eine Beeinträchtigung der Nervenfunktion resultiert [WADA und YAGIHASHI, 2005]. Patienten eines Genotypes mit einer hoher Expression von Aldosereduktase neigen dazu, früher diabetische Neuropathien zu entwickeln [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008].

Durch die gesteigerte Expression von PAI-1 (**Hexosamin**-Stoffwechsel) kommt es zu einer Ischämie von Nerven und zusätzlich wird die Nervenregeneration durch PAI-1 blockiert. Bei Diabetikern (sowohl Typ I als auch II) mit Neuropathien wurden in verschiedenen Studien erhöhte Serumlevel an PAI-1 und TGF- β festgestellt [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008].

PKC hat kaum direkten Einfluss auf die Entstehung von Neuropathien, ist jedoch an Mikro- und Makroangiopathien und somit indirekt auch an der Entstehung der diabetischen Neuropathie beteiligt [VINCENT et al., 2004]. Eine PKC-Hemmung

zeigte im diabetischen Tiermodell eine Verbesserung der Nerven-Dysfunktion [POP-BUSUI et al., 2006].

Verstärkte **PARP**-Aktivierung führt zu neurovaskulären Abnormalitäten, die die Entstehung einer diabetischen Neuropathie begünstigen [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008].

Im Blut von Patienten mit diabetischer Neuropathie sind verschiedene **Entzündungsmediatoren** (TNF- α , IL-6, COX-2, C-reaktives Protein, etc.) vermehrt vorhanden und diese Faktoren werden mit der Entstehung der Neuropathie assoziiert. Aktivierte Endothelzellen in Nervenzellen locken Entzündungszellen an, dies führt zu einer lokalen Zytokin- und ROS-Produktion. Durch Überstimulation von NF- κ B werden Neurone und Blutgefäße anfälliger für mangelhafte Durchblutung. Durch NF- κ B werden Makrophagen aktiviert, dies führt zur weiteren Zytokin- und ROS-Bildung sowie zur Schädigung von Nerven und Gefäßen [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008].

4.2.4.3 Diabetisches Fußsyndrom

Die Ursache des diabetischen Fußsyndrom ist in 40% der Fälle eine Neuropathie und in 20% eine Angiopathie, wobei häufig erst eine Kombination zur Entstehung führt [MEHNERT et al., 2003]. Gegenwärtig ist die einzige Behandlung die Glukosekontrolle und eine sorgfältige Fußpflege [FIGUEROA-ROMERO et al., 2008]. In einer Studie hatten Patienten mit diabetischem Fußsyndrom signifikant höhere Lipidperoxid- und 8-OHdG-Werte im Vergleich zu Gesunden und DM-II-Patienten ohne Komplikationen. Zusätzlich wurde eine verminderte Aktivität von SOD festgestellt [BOLAJOKO et al., 2008].

4.3 Antioxidantien in der Therapie von Diabetes Mellitus II

Viele Studien bei Diabetikern oder in diabetischen Tiermodellen wurden durchgeführt, um herauszufinden ob eine Therapie mit Antioxidantien die Entstehung von Folgekrankheiten verhindern bzw. verzögern kann. In diabetischen Tiermodellen waren die Verhinderung von oxidativem Stress und eine Prävention von diabetischen vaskulären Erkrankungen durch den gezielten Einsatz von Antioxidantien erfolgreich.

Humanstudien lieferten bislang allerdings widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der Effektivität von Antioxidantien in der Diabetestherapie [SON, 2007]. Studienergebnisse, welche keine positive Wirkung von Antioxidantien erkennen ließen, könnten mitunter durch Probanden mit mangelhaftem Antioxidantienstatus, welche daher nicht signifikant von der Antioxidantiengabe profitierten, verfälscht worden sein [JAY et al., 2006]. Eine andere mögliche Erklärung für das Scheitern der Antioxidantientherapien ist, dass herkömmliche Antioxidantien ROS nur stöchiometrisch neutralisieren können, wohingegen die ROS-Produktion ein kontinuierlicher Prozess wodurch es zur Akkumulation und oxidativen Schädigungen kommt. Die Entwicklung eines Antioxidans, das kontinuierlich arbeitet wie ein Enzym und direkt in den Mitochondrien wirkt, scheint erforderlich [BROWNLEE, 2001; FRIDLYAND und PHILIPSON, 2005]. Einige Mineralstoffe wie Zink, Magnesium und Selen zeigen auf Grund ihrer Wirkung als Cofaktoren von enzymatischen Antioxidantien Nutzen in der Therapie von Diabetes [KOWULURO und CHAN, 2007]. Andere Versuche ergaben jedoch keinen positiven Effekte, sondern sogar negative Auswirkung einer Zink bzw. Selen Supplementierung bei Diabetikern [BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2000; STRANGES et al., 2007]. Einige der gängigsten Medikamente in der Diabetestherapie (Metformin, Sulfonylharystoff, Thiazolidindion, etc.) zeigen ebenfalls antioxidative Wirkungen [CHOI et al., 2008].

Ein aktueller Forschungsansatz ist die Hemmung der Hyperglykämie-induzierten Stoffwechselwege wie AGE-Bildung, PKC- und Polyolstoffwechsel [BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2000].

4.3.1 Allgemeine Wirkung von Antioxidantien

In Vitro – Versuche: In Endothelzellen konnte durch Verabreichung von **Vitamin C** und **E** die Entstehung von oxidativem Stress unter supraphysiologischen Dextrosekonzentrationen verhindert werden. Die Antioxidantiengabe hatte jedoch keinen Einfluss auf die Entstehung von Stress im endoplasmatischem Retikulum [SHEIKH-ALI et al., 2010]. Weiters zeigte sich, dass die Vitamin E – Aufnahme in die

Erythrozytenmembran unter hyperglykämischen Bedingungen gestört ist [VINCENT et al., 2004].

Darüber hinaus ergaben verschiedene *in vitro* Modelle positive Effekte von **ALA**: Modulation des Glukose-Metabolismus bei Insulinresistenz, Schutz vor oxidativem Stress und verbesserte Insulinwirkung [HENRIKSEN, 2006].

Tierversuche: Eine Kombination aus **Vitamin C** und **E** erzielt im diabetischen Tiermodell eine Normalisierung zahlreicher Parameter von oxidativem Stress, u.a. der Lipidperoxidation und des NF- κ B. Der genaue Mechanismus ist unklar, aber es wird vermutet, dass insbesondere Vitamin C die DAG-Gehalte durch Aktivierung der DAG-Kinase senkt und somit von maßgeblicher Bedeutung für den Effekt ist [SCOTT und KING, 2004]. Es konnte jedoch auch durch alleinige **Vitamin E** – Verabreichung der Lipidstoffwechsel und die Lipidperoxidation bei diabetischen Ratten normalisiert werden [VINCENT et al., 2004].

ALA verbessert bei diabetischen Ratten zahlreiche Parameter von oxidativem Stress (8-OHdG, Malondialdehyd, etc.) sowie den Antioxidantien-Status (SOD und Vitamin C) und besitzt das Potential morphologische Veränderungen der Gefäße zu verhindern [BALKIS-BUDIN et al., 2009]. Eine Kombination von ALA und Bewegung wirkt sich signifikant günstig auf die Insulinwirkung und Blutzuckernormalisierung bei Diabetes aus [HENRIKSEN, 2006].

Das **Polyphenol** Butein hemmte bei einem Versuch mit Ratten das Enzym Aldosereduktase und somit die Aktivierung des Polyolstoffwechsels (siehe Kapitel 4.1.1.2) [DEMBINSKA-KIEC, et al., 2008].

Taurin ist ein direkter HOCl-Fänger und konnte im Tierversuch die AGE-Bildung reduzieren sowie die ROS-Produktion positiv modulieren [SCHAFFER et al., 2009].

Klinische Studien: Bei Diabetikern werden häufig niedrigere Level an Antioxidantien als bei Gesunden gemessen. Die häufigsten Defizite sind bei Vitamin C, Glutathion und SOD zu finden, aber auch der Status von Vitamin E, KAT und GSH-Px ist bei Diabetikern vielfach signifikant erniedrigt [RAHIMI et al., 2005; RAMAKRISHNA und JAILKHANI, 2008].

Die am häufigsten untersuchten Antioxidantien sind **Vitamin C** und **E**, welche in einigen Studien (besonders in hohen Dosen) Marker von oxidativem Stress und Lipidperoxidation senken konnten [RAHIMI et al., 2005]. Jedoch weist eine Metaanalyse daraufhin, dass hochdosiertes Vitamin E (<400IU/d) den positiven Effekt umkehren und die Mortalität steigern könnte [JAY et al., 2006]. Weiters konnte gezeigt werden, dass alleine durch regelmäßige glykämische Kontrolle zwar eine signifikante Reduktion von oxidativem Stress, jedoch keine Normalisierung des Redoxstoffwechsels erzielt werden kann. Durch zusätzliche Vitamin E-Gabe wurde der Serumstatus dieses Vitamins normalisiert, die Malondialdehydlevel gesenkt und die GSH-Aktivität gesteigert; die oxidativen Stress-Parameter waren im Vergleich zu Gesunden jedoch weiterhin erhöht [SHARMA et al., 2000].

Obwohl in einer Studie mit **Vitamin C** (1 g/d für 4 Monate) ein Anstieg von intrazellulärem GSH, eine Verbesserung des Vitamin C-Status und eine Senkung von Plasma ROS-Werten bei Diabetikern festgestellt werden konnte, erzielte alleinige Vitamin C-Supplementierung in den meisten Studien bislang nur beschränkten therapeutischen Nutzen bei Diabetikern [PAOLISSO et al., 1995; VINCENT et al., 2004; POP-BUSUI et al., 2006].

4.3.2 Spezielle Krankheitsbilder

4.3.2.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen

In Vitro – Versuche: **Polyphenole** induzieren in vitro Vasorelaxation indem sie die Bioverfügbarkeit von NO steigern und vasokonstriktive Faktoren (z.B.:Endothelin-1) hemmen [DEMBINSKA-KIEC et al., 2008].

Tierversuche: Durch Verabreichung von **Vitamin C** (200mg/kg KG/d) konnte bei diabetischen Ratten das Lipidprofil (Triglyceride, Cholesteringehalt, LDL-Cholesterin) signifikant verbessert werden [OWU et al., 2006].

Vitamin E normalisiert nicht nur den Lipidstoffwechsel, sondern senkte in Tiermodellen auch das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen [MEAGHER und RADER, 2001].

In einem Versuch mit diabetischen Ratten konnte **β -Carotin** die Entstehung von Atherosklerose effektiv verhindern [MEAGHER und RADER, 2001].

Polyphenole verhinderten in einem diabetischen Tiermodell die Plaquebildung indem sie oxidativen Stress verminderten und den Lipidstoffwechsel positiv modulierten. Polyphenole (z.B.: Resveratrol, Quercetin) wirken indem sie die Expression von Zytokinen (TNF- α , IL-6, etc.) und Adhäsionsmolekülen (ICAM, VCAM, etc.) hemmen, entzündungshemmend [DEMBINSKA-KIEC et al., 2008]. Resveratrol (2,5 mg/kg KG/d) zeigte bereits in verschiedenen diabetischen Tiermodellen eine protektive Wirkung hinsichtlich vaskulärer Komplikationen da es die Aktivität von Mn-SOD steigerte und den Blutzucker senkte. Zusätzlich konnte Resveratrol die post-ischämische Herz-Dysfunktion verbessern [HILL, 2008].

Carnitin wirkt als intrazellulärer O₂⁻-Fänger und verbessert die mitochondriale Funktion. Im diabetischen Tiermodell konnte durch Verabreichung von Carnitin die Herzfunktion, die Funktion peripherer Nerven und der vaskuläre Blutfluss normalisiert werden [CERIELLO, 2003].

Klinische Studien: Bei Probanden mit gestörter Glukosetoleranz und DM-II erwies sich eine 15-tägige hochdosierte (> UL) Antioxidantien-Therapie (600g/d N-Acetylcystein, 300g/d Vitamin E und 250mg/d Vitamin C) als erfolgreich in der Senkung von postprandialem oxidativen Stress und zahlreicher Marker der endothelialen Dysfunktion (VCAM-1, etc.) [NERI et al., 2005]. In der doppelblinden, Placebo-kontrollierten POPADAD-Studie (prevention of progression of arterial disease and diabetes) wurde Aspirin (100 mg/d) und/oder eine Antioxidantienmischung (α -Tocopherol 200 mg, Vitamin C 100 mg, Zinksulfat 10 mg, etc.) an 1246 Patienten mit DM mit hohem kardiovaskulären Risiko verabreicht. Weder für Aspirin noch für die eingesetzte Antioxidantienmischung konnte eine Assoziation mit kardiovaskulären Ereignissen festgestellt werden [BELCH et al., 2008]. Vitamin C (200mg/d) und E (150mg/d) senkten in Kombination mit Zink und Magnesium in einer Studie mit Diabetikern den Blutdruck und verbesserten das Lipidprofil (Anstieg von HDL) [FARVID et al., 2004; FARVID et al., 2004a].

In der randomisierten, Placebo-kontrollierten HOPE-Studie (Heart Outcomes Prevention Evaluation) welche an 3654 Personen mit DM-II durchgeführt wurde, hatte

eine **Vitamin E**-Supplementierung (400 IU/d für 4,5 Jahre) keinen Einfluss auf kardiovaskuläre Ereignisse und diabetische Nephropathie [LONN et al., 2002]. Die CHAOS (Cambridge Heart Antioxidant Study) und die SPACE (Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease) Studien liefern Hinweise darauf, dass Vitamin E (800 IU/d) die kardiovaskuläre Funktion bei Diabetikern verbessert [STEPHENS et al., 1996; BOAZ et al., 2000]. Pharmakologische Vitamin E-Dosen (900 mg/d für 4 Monate) verbesserten bei Probanden mit DM-II die Insulinwirkung, verminderten oxidativen Stress (GSSG/GSH Verhältnis sank um 47%) und verbesserten die Mikroviskosität der roten Blutkörperchen [PAOLISSO et al., 1993]. In einer weiteren Studie (doppelblind, Placebo-kontrolliert, DM-I & -II) in der den Probanden hochdosiertes Vitamin E (1800 IU/d für 12 Monate) verabreicht wurde, zeigte sich in der Interventionsgruppe allerdings eine Verschlechterung der Vasodilatation des Endothels, des systolischen Blutdrucks und es kam zu einem Anstieg von C-reaktiven Protein [ECONOMIDES et al., 2005].

Vitamin C steigert die NO-Produktion in Endothelzellen indem es den Cofaktor BH₄ stabilisiert [SCHULTZ JOHANSEN et al., 2005]. In der Studie von Chen et al. konnte keine Verbesserung der endothelialen Dysfunktion durch Vitamin C erzielt werden und auch andere Studien fanden keinen Zusammenhang zwischen Vitamin C – Status bzw. Aufnahme und dem kardiovaskulären Risiko [MAYER-DAVIS et al., 1997; CHEN et al., 2006]. Im Zuge der Iowa's Women Health Study wurde unter anderem die Vitamin C-Aufnahme bei Diabetikerinnen erhoben und eine Korrelation zwischen hoher Vitamin C-Aufnahme aus Supplementen und gesteigertem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse bzw. Mortalität gefunden. Eine Erklärung hierfür könnten die prooxidative Eigenschaft von Vitamin C in hohen Konzentrationen sein [LEE et al., 2004].

Orale **Coenzym Q₁₀**-Supplementierung (200mg/d für 12 Wochen) verbesserte in einer Studie mit DM-II den Blutdruck und den HbA_{1c}, diese Effekte waren jedoch nicht mit der Senkung von oxidativem Stress assoziiert [HODGSON et al., 2002]. In einer weiteren Studie wurde zusätzlich die endotheliale Dysfunktion bei Diabetikern verbessert. Diese Verbesserung war durch die Senkung des lokalen vaskulären oxidativen Stresses bedingt [HAMILTON et al., 2009].

BH₄-Supplementation verbesserte bei Probanden die endotheliale Vasodilatation. Die Ursache dürfte die Cofaktor-Funktion von BH₄ bei der eNOS sein [JAY et al., 2006].

Orale Supplementierung mit **NAC** (600mg/d) und **L-Arginin** (1200mg/d) verbesserten in einer 6-monatigen Studie bei Diabetikern Bluthochdruck und endotheliale Dysfunktion durch gesteigerte Bioverfügbarkeit von NO [MARTINA et al., 2008].

Einige Humanstudien zeigen, dass **Polyphenole** zu einer verbesserten endothelialen Funktion beitragen können [DEMBINSKA-KIEC et al., 2008]. In einer Studie mit Rotwein (118mL/d für 1 Jahr) verbesserten sich die Herzfunktion und das Ausmaß des oxidativen Stresses bei 115 Probanden mit DM-II; diese Effekte werden dem antioxidativem Inhaltsstoff Resveratrol zugeschrieben [HILL, 2008].

4.3.2.2 Mikrovaskuläre Erkrankungen

Tierversuche: In einigen diabetischen Tiermodellen verbesserten sich kardiovaskuläre Abnormalitäten wie endotheliale Dysfunktion, Permeabilität, Vasorelaxtion, Blutfluss und Nervenleitgeschwindigkeit durch Verabreichung von **Vitamin C** und **E** [SCOTT und KING, 2004].

Klinische Studien: In einer Studie erwies sich eine Dosis von 600 mg/d **ALA** unabhängig vom Blutzuckerspiegel als positiv bei Diabetikern mit endothelialer Dysfunktion [RÖSEN et al., 2001]. So verbessert ALA die Mikrozirkulation und vermindert oxidativen Stress bei Patienten mit DM-II [POP-BUSUI et al., 2006]. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass akute ALA-Infusionen zu einer Verbesserung der NO-vermittelten Vasodilatation führen [ZIEGLER et al., 2004]

Nephropathie

In vitro-Versuche: In einer Studie mit Mesangialzellen blockierten sowohl **Vitamin C** als auch **Vitamin E** den Hyperglykämie-induzierten Anstieg von PKC, TGF β und die Synthese von Kollagen sowie Fibronectin. Die TGF- β vermittelte Matrixprotein-Synthese konnte durch die Antioxidantiengabe allerdings nicht unterdrückt werden [STUDER et al., 1997].

Tierversuche: Die Fütterung diabetischer Ratten mit **Vitamin C** (10g/kg KG/d) und **Vitamin E** (200mg/kg KG/d) ergab keinen signifikant positiven Einfluss dieser Antioxidantien auf den renalen Blutdruck und die Kreatinin-Clearance. Der Anstieg von

TGF- β und die gesteigerte Albumin-Clearance konnte durch die Antioxidantien-Gabe jedoch unterdrückt werden und das glomeruläre Volumen nahm signifikant zu [CRAVEN et al., 1997].

Orale **Taurin**-Verabreichung bei Ratten reduziert nachweislich die oxidative Schädigung in den Nieren der Tiere durch Verminderung von Lipidperoxidation und AGE-Akkumulation [RUHE und MC DONALD, 2001].

Klinische Studien: **Vitamin C** (1250 mg/d) und **E** (680 IU/d) konnten auch in Humanstudien über 4 Wochen verabreicht die Albumin-Clearance senken [GAEDE et al., 2001]. Vitamin E verhinderte zusätzlich in verschiedenen Studien glomeruläre Hyperfiltration, Albuminurie, renale PKC-Aktivität, glomeruläre Hypertrophie und TGF- β Akkumulierung [HA und KIM, 1999]. In der Studie von Farvid et al. konnte durch kombinierte Verabreichung von Vitamin C, E und Mineralstoffen nicht nur eine Blutdrucksenkung, sondern auch eine Verbesserung der glomerulären Funktion, jedoch nicht der tubulären Funktion, erzielt werden [FARVID et al., 2005].

Weiters zeigte sich in diversen Studien, dass **ALA** eine signifikante Senkung der Albuminurie, einem Marker für Nephropathie, begünstigt [RÖSEN et al., 2001].

Retinopathie

Tierversuche: **ALA** erwies sich auch bei diabetischer Retinopathie als günstig: vermindert Lipidperoxidation und oxidativem Stress (8-OHdG), Hemmung der NF- κ B-Aktivierung, geringere Apoptoserate und eine Verbesserung des NAD⁺/NADH Verhältnisses. Im diabetischen Tiermodell konnte ALA die Entstehung von Retinopathie verhindern [KOWLURU und CHAN, 2007]. Eine Verbesserung des retinalen Blutflusses konnte mit ALA-Supplementierung im Gegensatz zu **Vitamin C und E** jedoch nicht erreicht werden [SCOTT und KING, 2004]. Die Kombination von Vitamin C und E erzielte in einigen Studien eine signifikante Reduktion der Entstehung von Retinopathien, in anderen zeigten sich keine protektiven Effekte. Besonders in Kombination von NAC, β -Carotin und Selen konnte im diabetischen Tiermodell die PKC-Aktivität und ROS-Bildung in der Retina unterdrückt werden [KOWLURU und CHAN, 2007].

Verschiedene **Curcumin-Derivate** zeigten bei Ratten und Affen eine protektive Wirkung in der Katarakt-Prophylaxe. Curcumin steigert die GSH-Px-Aktivität und wirkt zusätzlich als Radikalfänger [OSAWA und KATO, 2005].

Benfotiamin, ein fettlösliches Thiamin-Derivat, konnte bei diabetischen Ratten die Entstehung von Retinopathie durch Hemmung von PKC, AGE-Bildung und des Hexosamin-Stoffwechselwegs unterdrücken [KOWLURU und CHAN, 2007].

Klinische Studien: Einige Medikamente mit antioxidativer Wirkung (Dihydroxybenzensulfonat, Pycnogenol) werden gezielt zur Therapie von diabetischer Retinopathie erfolgreich eingesetzt [KOWLURU und CHAN, 2007].

4.3.2.3 Neuropathie

Tierversuche: Bei jungen diabetischen Ratten konnten durch **Vitamin E** - Gabe Verbesserungen in Wachstum und Regeneration von Nerven erzielt werden. Zudem wurden die Nervenleitgeschwindigkeit und der Blutfluss durch die Supplementation in den Nerven verbessert [CAMERON und COTTER, 1999; SON; 2007].

ALA unterstützte bei einer 6-wöchigen Supplementation bei Ratten den Erhalt des Antioxidantienstatus, die periphere Nervenleitung und den Blutfluss. [POP-BUSUI et al., 2006].

Klinische Studien: **ALA** wird seit Jahrzehnten in der Therapie von diabetischer Neuropathie verwendet [EVANS und GOLDFINE, 2000]. In klinischen Studien wurden mittels ALA deutlich verminderte oxidative Stressmarker in den Neuronen und einen Anstieg des Blutflusses erzielt. In den Placebo-kontrollierten, doppel-blinden ALADIN-Studien (Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy) wurde 900 Patienten mit diabetischer Neuropathie ALA sowohl intravenös (100 – 600 mg/d für 3 Wochen) als auch oral (600 – 1800 mg/d für weitere 6 Monate) verabreicht. Die Symptome (Schmerzen, Taubheitsgefühl, Brennen, Parästhesien) verbesserten sich nach der intravenösen ALA Behandlung bei der Interventionsgruppe signifikant. Nach Studienende zeigten sich allerdings kaum Unterschiede hinsichtlich der Symptomverbesserung bei den Probanden. Der NIS (Neuropathy Impairment Score),

welcher alle klinisch relevante Nervenfunktionen zusammenfasst, wurde jedoch stabilisiert [ZIEGLER et al., 1999; RÖSEN et al., 2001]. Auch andere Studien mit kurzer Interventionszeit (3-6 Wochen) konnten signifikante Besserung der Symptome sowohl bei oraler als auch intravenöser Verabreichung von ALA feststellen. Ob diese kurzfristigen Effekte auf die Progression von diabetischen Neuropathien umgelegt werden können, ist noch fraglich und bedarf noch weiterer Untersuchungen mittels Langzeitstudien [RUHNAU et al., 1999; ZIEGLER et al., 2004; POP-BUSUI et al., 2006].

In einer begrenzten Zahl von Studien in denen **Vitamin E** (meist dosiert z.B. 1800IU/d) an Diabetespatienten verabreicht wurde, konnten Verbesserungen von neurovaskulären Symptomen erzielt werden, die Mehrheit der Studien erzielte jedoch keine signifikanten Ergebnisse [SCOTT und KING, 2004; POP-BUSUI et al., 2006].

5 Schlussbetrachtung

Weltweit und auch in Österreich ist die Prävalenz von Diabetes mellitus Typ II (DM-II) stark steigend. Diese Zahlen sind nicht allein durch die steigende Lebenserwartung bedingt, sondern die Diagnose trifft zunehmend jüngere Personen und auch bereits Kinder. Mit zunehmender Krankheitsdauer steigt das Risiko von Folgekrankheiten vor allem vaskulären Komplikationen stark an. Die Therapie von Diabetes insbesondere bei Komplikationen verursacht enorme Kosten für das Gesundheitssystem. Es wird daher intensiv nach den Krankheitsursachen geforscht um Präventionsansätze und Therapien zu verbessern, sowie in Folge Kosten zu senken.

Im Laufe des Lebens akkumulieren sich freie Radikale im Körper und verursachen oxidativem Stress, der mit zahlreichen altersbedingten Krankheiten unter anderem Typ II Diabetes assoziiert wird. Die Hauptursache von DM-II ist ein so genannter „westlicher Lebensstil“ mit fett- und zuckerreicher Ernährung bei gleichzeitigem Bewegungsmangel. Die Folge ist meist Übergewicht häufig in Kombination mit gestörter Glukosetoleranz, Dyslipidämie und Bluthochdruck. Diese Kombination wird als metabolisches Syndrom bezeichnet und ist häufig die Vorstufe eines manifesten DM-II. Das Stadium ist gekennzeichnet von Hyperglykämie und erhöhten Plasmakonzentrationen von freien Fettsäuren.

Dieses Überangebot an Energiesubstraten führt zu Bildung von freien Radikalen unter anderem durch eine Steigerung der Citratzyklus-Aktivität. Oxidativer Stress geht mit einer verminderten Empfindlichkeit und Wirkung von Insulin einher und begünstigt die Entstehung von Insulinresistenz sowohl bei Stoffwechselgesunden als auch bei Diabetikern. Die Folge der mangelnden Reaktion des Gewebes auf Insulin ist ein Anstieg des Blutzuckers, welcher wiederum zu einem Anstieg an freien Radikalen führt. Zusätzlich kommt es zu Hyperinsulinämie, die eine weitere „Down“-Regulierung der Insulinkaskade bewirkt.

Das intrazelluläre Milieu der β -Zellen des Pankreas ist reich an Glukose (Energiegewinnung) und Sauerstoff (Insulinproduktion) und durch die geringen antioxidativen Kapazitäten für oxidativen Stress besonders anfällig. Toxische Konzentrationen von Glukose und freien Fettsäuren werden als Gluko- bzw. Lipotoxizität bezeichnet und führen zu Veränderungen der Insulinsekretion, Genexpression und zur β -Zell-Apoptose. Die Folge der β -Zell-Dysfunktion ist eine Störung der Insulinsekretion und folglich kommt es vermehrt zu Hyperglykämien. Bei all diesen Vorgängen dürfte oxidativer Stress direkt bzw. indirekt (Stresskinasen, etc.) eine Rolle spielen. Ein weiteres Indiz, dass oxidativer Stress an der Entstehung von Diabetes beteiligt ist, sind die signifikant erniedrigten Antioxidantien-Level bei Diabetikern insbesondere bei jenen mit geringer glykämischen Kontrolle wie es häufig bei der Manifestation der Fall ist.

Um einen manifesten DM-II zu verhindern, muss der „prädiabetische Teufelskreis“ durchbrochen werden. Vorrangiges Ziel ist die Vermeidung von Hyperglykämie und des in Folge entstehenden oxidativen Stresses. In der medikamentösen Therapie werden meist orale Antidiabetika zur Blutzuckersenkung empfohlen. In einigen Studien zeigte auch die Insulintherapie bereits im prädiabetischen Stadium einen signifikanten Nutzen wie Erhalt der β -Zellmasse. Mittels Lifestyle-Modifikation kann der Blutzucker gesenkt und die Manifestation von Diabetes unterdrückt bzw. verzögert werden. Durch vermehrte Bewegung sinkt nicht nur das Körpergewicht, sondern es verbessert sich auch die Insulinempfindlichkeit. Eine diätetische Maßnahme ist die Bevorzugung von Lebensmitteln mit niedrigem glykämischen Index, um eine postprandiale Hyperglykämie zu vermeiden. Antioxidantien-reiche Lebensmittel wie Obst- und Gemüse sind in der Prävention von Diabetes besonders empfehlenswert. Antioxidantien-Supplemente zeigten in zahlreichen Studien jedoch kaum protektive Effekte und sind nach derzeitigem Wissenstand in der Prävention von Diabetes nicht als empfehlenswert einzustufen.

Die diabetische Stoffwechsellage insbesondere supraphysiologische Glukose-Konzentrationen, aber auch Störungen im Lipidstoffwechsel führen zur Bildung von oxidativem Stress indem sie einerseits vermehrt freie Radikale freisetzen und

andererseits die antioxidativen Kapazitäten mindern. Ein Zusammenhang zwischen Hyperinsulinämie und oxidativem Stress wird zwar von einigen Experten vermutet, konnte interessanterweise jedoch nicht festgestellt werden. Die Aktivierung der Hyperglykämie-aktivierten Stoffwechselwege (AGE, PKC, Hexosamin- und Polyolstoffwechsel) sowie NF- κ B und Stresskinasen erfolgt unter anderem durch freie Radikale (im speziellen Superoxidanion) und gleichzeitig verursachen diese Stoffwechselwege oxidativen Stress. Zudem sind sie auch direkt an der Entstehung diabetischer Folgekrankheiten beteiligt.

Die Progression von diabetischen mikro- und makrovaskulären Komplikationen durch oxidativen Stress ist hauptsächlich bedingt durch eine verminderte Verfügbarkeit von Stickstoffmonoxid bei gleichzeitiger Peroxynitrit-Bildung. Die Folge ist eine Störung der Vasodilatation und vermehrte Aggregation von Leukozyten und Thrombozyten. Zusätzlich wird durch oxidativen Stress LDL-Cholesterin vermehrt oxidiert, dies verstärkt die Gefahr von Plaquebildung und somit von Gefäßkrankheiten. Weiters führen freie Radikale zur vermehrten Ausschüttung von Entzündungsfaktoren wie Zytokine, die die Entstehung von Gewebsläsionen und Apoptose von Endothelzellen begünstigen. Besonders gefährdet durch oxidative Schädigung ist die Retina, welche reich an ungesättigten Fettsäuren ist und eine hohe Sauerstoffaufnahme hat. Oxidativer Stress ist an der Entstehung aller mikrovaskulären Erkrankungen beteiligt, dürfte jedoch nicht der Auslöser sein, da diese bei anderen mit oxidativem Stress-assoziierte Krankheiten nicht auftreten.

Der Einfluss von oxidativem Stress auf die diabetische Neuropathie ist hauptsächlich bedingt durch Störungen im Blutfluss (d.h. vaskuläre Komplikationen).

Da durch die diabetische Stoffwechsellage vermehrt freie Radikale entstehen, liegt die Vermutung nahe die Entstehung von oxidativen Stress mittels Antioxidantiengabe zu unterdrücken. Zudem weisen Diabetiker allgemein und insbesondere jene mit Komplikationen verminderte antioxidative Kapazitäten auf. Im diabetischen Tiermodell erwies sich diese Theorie zum Teil als richtig und es konnte die Entstehung diabetischen Folgekrankheiten durch Antioxidantien vermindert werden. In Humanstudien blieben überzeugende Erfolge bislang aus. Zwar haben einige Studien

durchaus positive Ergebnisse gezeigt, jedoch lag die Dosis der Antioxidantien vielfach im pharmakologischen Bereich und teilweise jenseits des Upper Levels. Diese Konzentrationen sind für einen längeren Zeitraum nicht empfehlenswert und können zudem eine prooxidative Wirkung haben. Einzige Ausnahme α -Liponsäure, welche in der Therapie von diabetischer Neuropathie eingesetzt wird. Bisher konnte jedoch nur eine kurzfristige Linderung der Symptome beobachtet werden, es bedarf daher noch weiterer Untersuchungen mittels Langzeitstudien um den tatsächlichen Nutzen von α -Liponsäure in der Therapie von diabetischen Komplikationen zu sichern.

Eine mögliche Erklärung für das Scheitern der Antioxidantientherapien ist, dass herkömmliche Antioxidantien freie Radikale nur stöchiometrisch neutralisieren können, wohingegen die ROS-Produktion ein kontinuierlicher Prozess ist wodurch es zur Akkumulation und oxidativen Schädigungen kommt. Auch könnten Studienergebnisse, welche keine positive Wirkung von Antioxidantien erkennen ließen, mitunter durch Probanden mit mangelhaftem Antioxidantienstatus, welche daher nicht signifikant von der Antioxidantiengabe profitierten, verfälscht worden sein.

Nach derzeitigem Wissensstand ist oxidativer Stress an der Entstehung von Diabetes Mellitus Typ II und dessen Folgekrankheiten beteiligt. Die diabetische Stoffwechsellage insbesondere Hyperglykämie trägt massiv zur Produktion von freien Radikalen bei. Um oxidativen Stress zu vermeiden gilt es den Blutzucker im Normalbereich zu halten. Für Antioxidantien kann zum jetzigen Zeitpunkt keine Empfehlung ausgesprochen werden. Lebensstilmodifikation mit ausreichend Bewegung und einer ausgewogenen Mischkost (mit Augenmerk auf Lebensmittel, die einen geringen glykämischen Index aufweisen und reich an Antioxidantien sind) ist hingegen empfehlenswert.

6 Zusammenfassung

Die Zahl der Typ II Diabetiker nimmt weltweit immer mehr zu. Die Hauptursache ist ein veränderter Lebensstil mit fett- und zuckerreicher Ernährung, sowie Bewegungsmangel, aber auch die zunehmende Lebenserwartung spielt eine Rolle. Im Laufe des Lebens „akkumulieren“ sich freie Radikale im Körper und verursachen oxidativen Stress, der mit zahlreichen altersbedingten Krankheiten unter anderem Typ II Diabetes assoziiert wird. Die Entstehung von Diabetes geht mit Insulinresistenz und β -Zell-Dysfunktion einher und ist gekennzeichnet durch erhöhte Konzentrationen an Glukose und freien Fettsäuren, welche über verschiedene molekulare Mechanismen oxidativen Stress erzeugen können. Zahlreiche epidemiologische Daten zeigen bei Diabetikern erhöhte Stressparameter und signifikant geringere Plasmagehalte verschiedener Antioxidantien (z.B.: Vitamin C). Es deutet somit vieles auf eine Beteiligung von oxidativem Stress an der Entstehung von Diabetes hin. Studien mit Antioxidantieneinsatz in der Prävention von Diabetes zeigten bislang nur geringe Effektivität, eine Lebensstil-Modifikation (Bewegung und gesunde Mischkost) scheint vergleichsweise wesentlich effektiver zu sein. Die Entstehung von oxidativem Stress durch die diabetische Stoffwechsellage insbesondere Hyperglykämie gilt als gesichert. Durch Hyperglykämie wird die mitochondriale Superoxid-Radikal-Produktion gesteigert und zusätzlich werden zahlreiche molekulare Stoffwechselwege (Proteinkinase C, Polyolstoffwechsel) aktiviert, welche zu zusätzlichem oxidativem Stress führen. Oxidativer Stress ist über verschiedene Mechanismen an der Entstehung von diabetischen Folgekrankheiten beteiligt. Die molekularen Vorgänge sind sehr komplex und stark von der Stoffwechsellage, insbesondere der glykämischen Kontrolle abhängig. In der Therapie und Prävention von Folgekrankheiten zeigen herkömmliche Antioxidantien wie Vitamin C und E nur wenig Erfolg, bei Supplementierung in hoher Konzentration konnte sogar eine prooxidative Wirkung nachgewiesen werden.

Ziel zukünftiger Forschungsansätze ist es den Auslöser, die genauen Stoffwechselvorgänge und aussagekräftige Biomarker von oxidativem Stress bei Diabetes Typ II zu identifizieren um eine geeignete Therapie und gegebenenfalls spezielle Ernährungsempfehlungen zu erarbeiten.

7 Summary

The number of type II diabetics is increasing worldwide. The main cause is modified lifestyle with a diet rich in sugar and fat as well as a lack of physical activity. Another reason is the increased life expectancy. During life, free radicals “accumulate” in the body and induce oxidative stress which is associated with age-related diseases including diabetes type II. The onset of diabetes is attended by insulin resistance and β -cell dysfunction and is characterised by increased concentrations of glucose and free fatty acids, which can generate oxidative stress through different molecular mechanisms. Numerous epidemiological data show increased stress parameters and significant lower plasma levels of several antioxidants (e.g.: vitamin C) in diabetics. There is strong evidence for an involvement of oxidative stress in the development of diabetes type II. Studies focussing on the administration of antioxidants in prevention of diabetes just demonstrated poor effectiveness; modification of lifestyle (exercise and balanced nutrition) seems to be more effective. It is widely accepted that formation of oxidative is due to diabetic metabolic status, in particular hyperglycaemia. Hyperglycaemia induces an increase of the mitochondrial superoxide production and causes activation of numerous other metabolic pathways (protein kinase C, polyol pathway), leading to further oxidative stress. Oxidative stress is over different mechanisms involved in the development of diabetic complications. The molecular processes are very complex and depend on the metabolic status in particular the glycemic control. Antioxidants like vitamin C and E failed to achieve sustained success in therapy and prevention of diabetic complications. Supplementation of antioxidants administered in high dosages even showed a prooxidative effect.

The aims of prospective research projects are to identify the trigger, the precise metabolic activities and significant biomarkers of oxidative stress in diabetes type II in order to develop an adequate therapy and if applicable specific diet recommendations.

Literaturverzeichnis

- o ÄRNLÖV J, ZETHELIUS B, RISERUS U, BASU S, BERNE C, VESSBY B, ALFTHAN G, HELMERSSON J. Serum and dietary β -carotene and α -tocopherol and incidence of type 2 diabetes mellitus in a community-based study of Swedish men: report from the Uppsala Longitudinal Study of Adult Men (ULSAM) study. *Diabetologia*, 2009; 52:97-105
- o ARONSON D, RAYFIELD EJ. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. *Cardiovascular Diabetology*, 2002; 1:1 <http://www.cardiab.com/content/1/1/1> (12.01.2010)
- o BALKIS-BUDIN S, OTHMAN F, LOUIS SR, BAKAR MA, RADZI M, OSMAN K, DAS S, MOHAMED J. Effect of aliphatic acid on oxidative stress and vascular wall of diabetic rats. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 2009; 50(1):23-30
- o BARTOSZ G. Reactive oxygen species: Destroyers or messengers? *Biochemical Pharmacology*, 2009; 77(8):1303-1315
- o BELCH J, MAC CUSH A, CAMPBELL I, COBBE S, TAYLOR R, PRESCOTT R, LEE R, BANCROFT J, MAC EWAN S, SHEPHERD J, MACFARLANE P, MORRIS A, JUNG R, KELLY C, CONNACHER A, PEDEN N, JAMIESON A, MATTHEWS D, LEESE G, MC KNIGHT J, O'BRIEN I, SEMPLE C, PETRIE J, GORDON D, PRINGLE S, MAC WALTER R. The prevention of progression of arterial disease and diabetes (POPADAD) trial: factorial randomised placebo controlled trial of aspirin and antioxidants in patients with diabetes and asymptomatic peripheral arterial disease. *British Medical Journal*, 2008; 337:a1840
- o BERNEBURG M, KRUTMANN J, BARON JM, HOMEY B, KÖRGE B. Oxidativer Stress und Insulinresistenz. *Hautarzt*, 2006; 57:551-552
- o BLOCH-DAMTI A, BASHAN N. Proposed Mechanism for the Induction of Insulin Resistance by Oxidative Stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2005; 7:1553-1567
- o BOAZ M, SMETANA S, WEINSTEIN T, MATAS Z, GAFTER U, IAINA A, KNECHT A, WEISSGARTEN Y, BRUNNER D, FAINARU M, GREEN MS.

- Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2000; 356:1213-1218
- o BODEN G, SHULMAN GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. *European Journal of Clinical Investigation*, 2002; 32:14-23
 - o BOLAJOKO EB, MOSSANDA KS, ADENIYI F, OLUBAYO A, FASANMADE A, MOROPANE M. Antioxidant and oxidative stress status in type 2 diabetes and diabetic foot ulcer. *South African Medical Journal*, 2008; 98(8):614-617
 - o BONARA E. Protection of pancreatic beta-cells: Is it feasible? *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 2008; 18:74-83
 - o BONNEFONT-ROUSSELOT D, BASTARD JP, JAUDON MC, DELATTRE J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes & Metabolism*, 2000; 26:163-176
 - o BROWNLEE M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 2001; 414:813-820
 - o BUSE MG. Hexosamine, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 2006; 290:E1-E8
 - o BUSIK JV, MOHR S, GRANT MB. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species toxicity to endothelial cells is dependent on paracrine mediators. *Diabetes*, 2008; 57:1952-1965
 - o CAI H, HARRISON DG. Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress. *Circulation Research*, 2000; 87:840-844
 - o CAMERON NE, COTTER MA. Effects of antioxidants on nerve and vascular dysfunction in experimental diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 1999; 45:137-146
 - o CERIELLO A. New Insights on Oxidative Stress and Diabetic Complications may lead to a "Causal" Antioxidant Therapy. *Diabetes Care*, 2003; 26(5):1589-1596
 - o 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
- o CHEN H, KARNE RJ, HALL G, CAMPBIA U, PANZA JA, CANNON III RO, WANG Y, KATZ A, LEVINE M, QUON MJ. High-dose oral vitamin C partially replenishes vitamin C levels in patients with Type 2 diabetes and low vitamin C levels but does not improve endothelial dysfunction or insulin resistance. American journal physiology. Heart and circulatory physiology, 2006; 290(1):H137-H145
 - o CHINEN I, SHIMABUKURO M, YAMAKAWA K, HIGA N, MATSUZAKI T, NOGUCHI K, UEDA S, SAKANASHI M, TAKASU N. Vascular Lipotoxicity: Endothelial Dysfunction via Fatty-Acid-Induced Reactive Oxygen Species Overproduction in Obese Zucker Diabetic Fatty Rats. Endocrinology, 2007; 148(1):160-165
 - o CHOI SW, BENZIE IF, MA SW, STRAIN JJ, HANNIGAN BM. Acute hyperglycemia and oxidative stress: Direct cause and effect? Free Radical Biology & Medicine, 2008; 44:1217-1231
 - o COSTACOU T, MA B, KING IB, MAYER-DAVIS EJ. Plasma and dietary vitamin E in relation to insulin secretion and sensitivity. Diabetes, Obesity and Metabolism, 2008; 10:223-228
 - o CRAVEN PA, DERUBERTIS FR, KAGAN VE, MELHEM M, STUDER RK. Effects of Supplementation with Vitamin C or E on Albuminuria, Glomerular TGF- β , and Glomerular Size in Diabetes. Journal of the American Society of Nephrology, 1997; 8:1405-1414
 - o CZERNICHOW S, COUTHOUIS A, BERTRAIS S, VERGNAUD AC, DAUCHET L, GALAN P, HERCBERG S. Antioxidant supplementation does not affect fasting plasma glucose in the Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals (SU.VI.MAX) study in France: association with dietary intake and plasma concentrations. American Journal of Clinical Nutrition, 2006; 84:395-399
 - o DALLE-DONNE I, ROSSI R, COLOMBO R, GIUSTARINI D, MILZANI A. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. Clinical Chemistry, 2006; 52(4):601-623

- o DEMBINSKA-KIEC A, MYKKÄNEN O, KIEC-WILK B, MYKKÄNEN H. Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. *British Journal of Nutrition*, 2008; 99(1):ES109-117
- o DRÖGE W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 2002; 82:47-95
- o ECONOMIDES PA, KHAODHIAR L, CASELLI A, CABALLERO AE, KEENAN H, BURSELL SE, KING GL, JOHNSTONE MT, HOTON ES, VEVES A. The Effect of Vitamin E on Endothelial Function of Micro- and Macrocirculation and Left Ventricular Function in Type 1 and Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes*, 2005; 54:204-211
- o ELMADFA I, LEITZMANN C. Ernährung des Menschen, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 2004
- o ELSTNER EF. Der Sauerstoff – Biochemie, Biologie, Medizin. BI Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich, 1990
- o ESPOSITO K, NAPPO F, MARFELLA R, GUIGLIANO G, GUIGLIANO F, CIOTOLA M, QUAGLIARO L, CERIELLO A, GUIGLIANO D. Inflammatory Cytokine Concentrations are acutely increased by Hyperglycemia in Humans: Role of oxidative stress. *Circulation*, 2002; 106:2067-2072
- o EVANS J, GOLDFINE I. α -Lipoic Acid: A Multifunctional Antioxidant That Improves Insulin Sensitivity in Patients with Type 2 Diabetes, *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2000; 2(3):401-415
- o EVANS J, GOLDFINE I, MADDUX B, GRODSKY G. Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews*, 2002; 23(5):599-622
- o EVANS J, GOLDFINE I, MADDUX B, GRODSKY G. Are Oxidative Stress-Activated Pathways Mediators of Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction? *Diabetes*, 2003; 52:1-8
- o EVANS J, MADDUX B, GOLDFINE I. The Molecular Basis for Oxidative Stress-induced Insulin Resistance. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2005; 7:1040-1052
- o EVANS J. Antioxidants: Do they have a role in treatment of insulin resistance? *The Indian Journal of medical research*, 2007; 125:355-372

- o EVCIMEN ND, KING GL. The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacological Research*, 2007; 55:498-510
- o FARVID MS, JALALI M, SIASSI F, SAADAT N, HOSSEINI M. The Impact of Vitamins and/or Mineral Supplementation on Blood Pressure in Type 2 Diabetes. *Journal of the American College of Nutrition*, 2004; 23(3):272-279
- o FARVID MS, SIASSI F, JALALI M, HOSSEINI M, SAADAT N. The impact of vitamins and/or mineral supplementation on lipid profile in type 2 Diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2004 (a); 65:21-28
- o FARVID MS, SIASSI F, JALALI M, HOSSEINI M, SAADAT N. Comparison of the Effects of Vitamins and/or Mineral Supplementation on Glomerular and Tubular Dysfunction in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 2005; 28(10):2458-2464
- o FIGUEROA-ROMERO C, SADIDI M, FELDMAN EL. Mechanisms of disease: The oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 2008; 9:301-314
- o FORD ES, WILL JC, BOWMAN BA, NARAYAN V. Diabetes Mellitus and Serum Carotinoids: Findings from the Thrid National Health and Nutrition Examination Survey. *American Journal of Epidemiology*, 1999; 149(2):168-176
- o FRIDLYAND LE, PHILIPSON LH. Oxidative Reactive Species in Cell Inyury. Meachnisms in Diabetes Mellitus and Therapeutic Approaches. *Annals New York Academy of Sciennes*, 2005; 1066:136-151
- o GAEDE P, POULSEN HE, PARVING HH, PEDERSEN O. Double-blind, randomises study of the effect of combined treatment with vitamin C and E on albuminuria in Type 2 diabetic patients. *Diabetic Medicine*, 2001; 18:756-760
- o GAO Z, ZHANG X, ZUBERI A, HWANG D, QUON M, LEFEVRE M, YE J. Inhibition of Insulin Sensitivity by Free Fatty Acids Requires Activation of Multiple Serine Kinases in 3T3-L1 Adipocytes. *Molecular Endocrinology*, 2004; 18(8):2024-2034
- o GIUGLIANO D, CERIELLO A, PAOLISSO G. Diabetes Mellitus, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Which Role for Oxidative Stress? *Metabolism*, 1995; 44(3):363-368
- o GOLLMER A, HAAS S, KOPP K, LEHNER M, PICHLBAUER E, SCHNABL E, UNGER T. Diabetes mellitus als gesundheitspolitische Herausforderung,

Bestandsaufnahme und Analyse von Maßnahmen in Österreich und Europa. 2005, i.A.d. Bundesministeriums für Gesundheit und Frauen
http://www.evotion.at/diabetes/downloads/Diabetesstudie_Deutsch_19_1_06_pdf.pdf
(25.07.2009)

- o GOODYEAR-BRUCH C, PIERCE J. Oxidative stress in critically ill patients. American Journal of Critical Care, 2002; 11:543-551
- o GRASSI D, LIPPI C, NECOZIONE S, DESIDERI G, FERRI C. Short-term administration of dark chocolate is followed by a decrease in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. American Journal of Clinical Nutrition, 2005; 81:611-614
- o GUAL P, MARCHAND-BRUSTEL Y, TANTI JF. Positive and negative regulation of insulin signalling through IRS-1 phosphorylation. Biochimie, 2005; 87:99-109
- o GUGLIUCCI A. Glycation as the glucose link to diabetic complications. Journal of the American Osteopathic Association, 2000; 10:621-634
- o HA H, KIM KH. Pathogenesis of diabetic nephropathy: the role of oxidative stress and protein kinase C. Diabetes Research and Clinical Practice, 1999;45:147-151
- o HABER A, LAM T, YU Z, GUPTA N, GOH T, BOGDANOVIC E, GIACCA A, FANTUS G. N-acetylcysteine and taurine prevent hyperglycemia-induced insulin resistance in vivo: possible role of oxidative stress. American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism, 2003; 285:E744-E753
- o HALLIWELL B, GUTTERIDGE J. Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, New York, 2007
- o HAMILTON SJ, CHEW GT, WATTS GF. Coenzyme Q₁₀ improves Endothelial Dysfunction in Statin-treated Type 2 Diabetic Patients. Diabetes Care, 2009; 32(5):810-812
- o HAMMES H-P. Pathophysiological mechanisms of diabetic angiopathy. Journal of Diabetes and its Complications, 2003;17:16-19
- o HARDING AH, WARCHAM NJ, BINGHAM SA, KHAW KT, LUBEN R, WELCH A, FOROUI NG. Plasma Vitamin C Level, Fruit and Vegetable Consumption, and the Risk of New-Onset Type 2 Diabetes Mellitus. Archives of international medicine, 2008; 168(14):1493-1499

- o HENRIKSEN EJ. Exercise training and the antioxidant α -lipoic acid in the treatment of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical Biology & Medicine*, 2006; 40:3-12
- o HIEN P, BÖHM B. *Diabetes-Handbuch*, Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2005
- o HILL MF. Emerging Role for Antioxidant Therapy in Protection against Diabetic Cardiac Complications: Experimental and Clinical Evidence for Utilization of Classic and New Antioxidants. *Current Cardiology Reviews*, 2008; 4:259-268
- o HODGSON JM, WATTS GF, PLAYFORD DA, BURKE V, CROFT KD. Coenzym Q10 improves blood pressure and glycaemic control: a controlled trial in subjects with type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2002; 56(11):1137-1142
- o HOUSTIS N, ROSEN E, LANDER E. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*, 2006; 440:944-948
- o HU FB, SIAMPFER MJ, HAFFNER SM, SOLOMON CG, WILLET WC, MANSSON JE. Elevated Risk of Cardiovascular Disease prior to Clinical Diagnosis of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*; 2002; 25(7):1129-1134
- o International Diabetes Federation (IDF) *Diabetesatlas 2007*:
<http://www.eatlas.idf.org/index090f.html> (08.06.2009)
- o JAY D, HITOMI H, GRIENDLING KK. Oxidative stress and diabetic cardiovascular complications. *Free Radical Biology & Medicine*, 2006; 40:183-192
- o JÖNSSON B. Revealing the cost of Type II diabetes in Europe. *Diabetologia*, 2002; 45:5-12
- o KAJIMOTO Y, KANETO H. Role of Oxidative Stress in Pancreatic β -Cell Dysfunction. *Annals New York Academy of Sciences*, 2004; 1011:168-176
- o KANETO H, KAJIMOTO Y, MIYAGAWA JI, MATSUOKA TA, FUJITANI Y, Umayahara Y, HANAFUSA T, MATSUZAWA Y, YAMASAKI Y, HORI M. Beneficial Effects of Antioxidants in Diabetes: Possible Protection of Pancreatic β -Cells Against Glucose Toxicity. *Diabetes*, 1999; 48:2398-2406
- o KANETO H, NAKATANI Y, KAWAMORI D, MIYATSUKA T, MATSUOKA T, MATSUHISA M, YAMASAKI Y. Role of oxidative stress, endoplasmatic

- reticulum stress, and c-Jun N-terminal kinase in pancreatic β -cell dysfunction and insulin resistance. *The journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2006; 38:782-793
- o KANETO H, KATAKAMI N, KAWAMORI D, MIYATSUKA T, SAKAMOTO K, MATSUOKA TA, MATSUHISA M, YAMASAKI Y. Involvement of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetes. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2007; 9(3):355-366
 - o KATAJA-TUOMOLA M, SUNDELL JR, MÄNNISTÖ S, VIRTANEN MJ, KONTTO J, ALBANES D, VIRTAMO J. Effect of α -tocopherol and β -carotene supplementation on the incidence of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2008; 51:47-53
 - o KAUTZKY-WILLER A, BANCHER-TODESCA D, REPA A, POLLAK A, LECHLEITNER M, WEITGASSER R. Gestationsdiabetes (GDM). *Wiener Klinische Wochenschrift*, 2007; 119:49-53
 - o KHARROUBI I, LADRIERE L, CARDOZO AK, DOGUSAN Z, CNOP M, EIZIRIK DL. Free Fatty Acids and Cytokines Induce Pancreatic β -Cell Apoptosis by Different Mechanisms: Role of Nuclear Factor- κ B and Endoplasmic Reticulum Stress. *Endocrinology*, 2004; 145(11):5087-5096
 - o KING GL, LOEKEN MR. Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochemistry and Cell Biology*, 2004; 122:333-338
 - o KLIMONT J, KYTIR J, LEITNER B. Österreichische Gesundenbefragung 2006/2007, Hauptergebnisse und methodische Dokumentation. Statistik Austria, Wien, 2007
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/gesundheit/index.html (02.08.2009)
 - o KOWLURU RA, CHAN PS. Oxidative Stress and Diabetic Retinopathy. *Experimental Diabetes Research*, 2007
<http://downloads.hindawi.com/journals/edr/2007/043603.pdf> (20.02.2010)
 - o KYSELOVA P, ZOUREK M, RUSAVY Z, TREFIL L, RACEK J. Hyperinsulinemia and Oxidative Stress. *Physiological Research*, 2002; 51:591-595
 - o LAPIDOT T, WALKER MD, KANNER J. Antioxidant and Prooxidants: Effects of Phenolics on Pancreatic β -Cells in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002; 50:7220-7225
 - o LAVILLE M, NAZARE JA. Diabetes, insulin resistance and sugars. *Obesity reviews*, 2009; 10(1):24-33

- o LEE HB, YU MI, YANG Y, JIANG Z, HA H. Reactive Oxygen Species-Regulated Signaling Pathways in Diabetic Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephropathy*, 2003; 14:241-245
- o LEE J, KOO N, MIN DB. Reactive Oxygen Species, Aging and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2004; 3(1):21-33
- o LENZEN S. Oxidative Stress: the vulnerable β -cell. *Biochemical Society Transaction*, 2008; 36(3):343-347
- o LINDLEY MG. The impact of food processing on antioxidants in vegetable oils, fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 1998; 9:336-340
- o LIPINSKI B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 2000; 15:203-210
- o LIU S, AJANI U, CHAE C, HENNEKENS C, BURING JE, MANSON JE. Longterm β -Carotene Supplementation and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus. *The Journal of the American Medical Association*, 1999; 282(11):1073-1075
- o LIU S, LEE IM, SONG Y, VAN DENBURGH M, COOK NR, MANSON JE, BURING JE. Vitamin E and Risk of Type 2 Diabetes in the Women's Health Study Randomized Controlled Trial. *Diabetes*, 2006; 55:2856-2862
- o LÖFFLER G. Hormone und Zytokine. In: *Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie*. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Regensburg, 7.Auflage, 2008; 321-362
- o LONN E, YUSUF S, HOOGWERF B, POGUE J, YI Q, ZINMAN B, BOSCH J, DAGENAIS G, MANN JF, GERSTEIN HC. Effects of Vitamin E on Cardiovascular and Microvascular Outcomes in High-Risk Patients with Diabetes. *Diabetes Care*, 2002; 25:1919-1927
- o LUPI R, DOTTA F, MARSELLI L, DEL GUERRA S, MASINI M, SANTANGELO C, PATANE G, BOGGI U, PIRO S, ANELLO M, BERGAMINI E, MOSCA F, DI MARIO U, DEL PRATO S, MARCHETTI P. Prolonged Exposure to Free Fatty Acids has Cytostatic and Pro-Apoptotic Effects on Human Pancreatic Islets: Evidence that β -Cell Death is Caspase mediated, partially dependent on Ceramide Pathway, and Bcl-2 regulated. *Diabetes*, 2002; 51:1437-1442

- o LUPI R, DEL PRATO S. β -cell apoptosis in type 2 diabetes: quantitative and functional consequences. *Diabetes & Metabolism*, 2008; 34:S56-S64
- o MAGDER S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Critical Care*, 2006; 10:208-216
- o MANCO M, CALVANI M, MINGRONE G. Effects of dietary fatty acids on insulin sensitivity and secretion. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2004; 6:402-413
- o MANNING PJ, SUTHERLAND WH, WALKER RJ, WILLIAMS SM, DE JONG SA, RYALLS AR, BERRY EA. Effect of High-Dose Vitamin E on Insulin Resistance and Associated Parameters in Overweight Subjects. *Diabetes Care*, 2004; 27(9):2166-2171
- o MARCHETTI P, DOTTA F, LAURO D, PURELLO F. An overview of pancreatic beta-cell defects in human type 2 diabetes: Implications for treatment. *Regulatory peptides*, 2008; 146:4-11
- o MARTINA V, MASHA A, RAMELLA GIGLIARDI V, BROCATO L, MANZATO E, BERCHIO A, MASSARENTI P, SETTANNI F, DELLA CASA L, BERGAMINI S, IANNONE A. Long-term N-Acetylcysteine and L-Arginine Administration Reduces Endothelial Activation and Systolic Blood Pressure in Hypertensive Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 2008; 31:940-944
- o MAYER-DAVIS EJ, MONACO JH, MARSHALL JA, RUSHING J, JUHAERI M. Vitamin C Intake and Cardiovascular Disease Risk Factors in Persons with Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Preventive Medicine*, 1997; 26:277-283
- o MAYER-DAVIS EJ, COSTACOU T, KING I, ZACCARO DJ, BELL RA. Plasma and Dietary Vitamin E in Relation to Incidence of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 2002; 25(12):2172-2177
- o MEAGHER E, RADER DJ. Antioxidant Therapy and Atherosclerosis: Animal and Human Studies. *Trends in Cardiovascular Med*, 2001; 11:162-165
- o MEHNERT H, STANDL E, USADEL K, HÄRING H. *Diabetologie in Klinik und Praxis*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 5.Auflage, 2003
- o MOKINI Z, MARCOVECCHIO ML, CHIARELLI F. Molecular pathology of oxidative stress in diabetic angiopathy: Role of mitochondrial and cellular pathways. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2010; 87(3):313-321

- o MONNIER L, COLETTE C, MAS E, MICHEL F, CHIRSTOL JP, BOEGNER C, OWENS DR. Regulations of oxidative stress by glycaemic control: evidence for an independent inhibitory effect of insulin therapy. *Diabetologia*, 2010; 53(3):562-71
- o MONTONEN J, KNEKT P, JÄRVINEN R, REUNANEN A. Dietary Antioxidant Intake and Risk of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 2004; 27(2):362-366
- o NERI S, SIGNORELLI SS, TORRISI B, PULVIRENTI D, MAUCERI B, ABATE G, IGNACCOLO L, BORDONARO F, CILIO D, CALVAGNO S, LEOTTA C. Effects of Antioxidant Supplementation on Postprandial Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction: A Single-Blind, 15-Day Clinical Trial in Patients with untreated Type 2 Diabetes, Subjects with Impaired Glucose Tolerance, and Healthy Controls. *Clinical Therapeutics*, 2005; 27(11):1764-1773
- o NEWSHOLME P, MORGAN D, REBELATO E, OLIVEIRA-EMILIO HC, PROCOPIO J, CURI R, CARPINELLI A. Insights into the critical role of NADPH oxidase(s) in the normal and dysregulated pancreatic beta cell. *Diabetologia*, 2009; 52:2489-2498
- o NISHIKAWA T, EDELSTEIN D, BROWNLEE M. The missing link: A single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney International*, 2000; 58(77):S26-S30
- o NISHIKAWA T, ARAKI E. Impact of Mitochondrial ROS Production in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus and Its Complications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2007; 9(3):343-353
- o NISHIKAWA T, KUKIDOME D, SONODA K, FUJISAWA K, MATSUHISA T, MOTOSHIMA H, MATSUMURA T, ARAKI E. Impact of mitochondrial ROS production on diabetic vascular complications. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2007; 77S:S41-S45
- o OHLENSCHLÄGER G. Freie Radikale, Oxidativer Stress und Antioxidantien. Krankheitsverursachende, präventive und reparative Prinzipien in lebenden Systemen. Ralf Reglin Verlag, Köln, 2000
- o OPRESCU AI, BIKOPOULOS G, NAASSAN A, ALLISTER EM, TANG C, PARK E, UCHINO H, LEWIS GF, FANTUS IG, ROZAKIS-ADCOCK M, WHEELER MB, GIACCA A. Free Fatty Acid-Induced Reduction in Glukose-

- Stimulated Insulin Secretion: Evidence for a Role of Oxidative Stress In Vitro and In Vivo. *Diabetes*, 2007; 56:2927-2937
- o OSAWA T, KATO Y. Protective Role of Antioxidant Food Factors in Oxidative Stress Caused by Hyperglycemia. *Annals New York Academy of Sciences*, 2005; 1043:440-451
 - o OVASKAINEN MJ, TÖRRÖNEN R, KOPONEN J, SINKKO H, HELLSTRÖM J, REINIVUO H, MATTILA P. Dietary Intake and Major Food Sources of Polyphenols in Finnish Adults. *The Journal of Nutrition*, 2008; 138:562-566
 - o OWU DU, ANTAI AB, UDOFIA KH, OBEMBE AO, OBASI KO, ETENG MU. Vitamin C improves metabolic rate and lipid profile in alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *Journal of Biosciences*, 2006;31: 575-579
 - o PAOLISSO G, D'AMORE A, GIUGLIANO D, CERIELLO A, VARRICCHIO M, D'ONOFRIO F. Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-depedent diabetic patients. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1993; 57:650-656
 - o PAOLISSO G, BALBI V, VOLPE C, VARRICCHIO G, GAMBARDELLA A, SACCOMANNO F, AMMENDOLA S, VARRICCHIO M, D'ONOFRIO F. Metabolic benefits deriving from chronic vitamin C supplementation in aged non-insulin depedent diabetics. *Journal of the American College of Nutrition*, 1995; 14(4):387-392
 - o PEREIRA M, PARKER E, FOLSOM A. Coffee Consumption and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus. *Archives of International Medicine*, 2006; 166(12):1311-1316
 - o POITOUT V, ROBERTSON RP. Minireview: Secondary β -Cell Failure in Type 2 Diabetes – A Convergence of Glucotoxicity and Lipotoxicity. *Endocrinology*, 2002; 143 (2):339-342
 - o POITOUT V, ROBERTSON RP. Glucolipotoxicity: Fuel Exess and β -Cell Dysfunktion. *Endocrine Reviews*, 2008; 29(3):351-366
 - o POP-BUSUI R, SIMA A, STEVENS M. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 2006; 22:257-273
 - o RACHEK IL, MUSIYENKO SI, LE DOUX SP, WILSON GL. Palmitate induced mitochondrial Deoxyribonucleic Acid damage and Apoptosis in L6 Rat Skeletal Muscle Cells. *Endocrinology*, 2007; 148(1):293-299

- o RAGHEB R, SHANAB G, MEDHAT A, SEOUDI D, ADELI K, FANTUS IG. Free Fatty Acids-induced muscle insulin resistance and glucose uptake dysfunction: Evidence for PKC activation and oxidative stress-activated pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009; 389:211-216
- o RAHIMI R, NIKFAR S, LARIJANI B, ABDOLLAHI M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2005; 59:365-373
- o RAHMAN K. Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2007; 2(2):219-236
- o RAKOVAC I, PLANK J, JEITLER K, BECK P, SEEREINER S, MRAK P, BAUER B, PIEBER T. Gesundheitsstatus der Typ-2-Diabetiker in Österreich aus der Sicht einer Qualitätssicherungs-Initiative. *Wiener Medizinische Wochenschrift* 2009; 159: 126-133.
- o RAMAKRISHNA V, JAILKHANI R. Oxidative Stress in non-insulin-dependent diabetes (NIDDM) patients. *Acta Diabetologica*, 2008; 45:41-46
- o RANDLE PJ, GARLAND PB, NEWSHOLME EA, HALES CN. The glucose fatty-acids cycle its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *The Lancet*, 1963; 1(7285):785-789
- o REUNANEN A, KNEKT P, AARAN RK, AROMAA A. Serum antioxidants and risk of non-insulin dependent diabetes mellitus. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1998; 52:89-93
- o RICE-EVANS C, MILLER N. Antioxidants – the case for fruit and vegetables in the diet. *British Food Journal*, 1995; 97(9):33-40
- o RIEDER A, RATHMANNER T, KIEFER I, DORNER T, KUNZE M. Österreichischer Diabetesbericht 2004, Daten, Fakten, Strategien: i.A.d. Bundesministeriums für Gesundheit und Frauen.
http://www.oedg.org/diabetesbericht_2004.html (14.07.2009)
- o ROBERTSON RP, HARMON J, TRAN PO, TANAKA Y, TAKAHASHI H. Glukose Toxicity in β -Cells: Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and the Glutathione Connection. *Diabetes*, 2003; 52:581-587

- o ROBERTSON RP, HARMON J, TRAN PO, POITOUT V. β -Cell Glukose Toxicity, Lipotoxictiy, and Chronic Oxidative Stress in Type 2 Diabetes. Diabetes, 2004; 53:119-124
- o RODEN M. Diabetes Mellitus – Definitionen, Klassifikationen und Diagnose. Wiener Klinische Wochenschrift, 2007; 119/15-16:5-8
- o ROLO A, PALMEIRA C. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. Toxicology and Applied Pharmacology, 2006; 212:167-178
- o RÖSEN P, NAWROTH PP, KING G, MÖLLER W, TRITSCHLER HJ, PACKER 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 Metabolism Research and Reviews, 2001;17:189-212
- o RÖSEN P, BELLIN C. Diabetes und oxidativer Stress. Blickpunkt der Mann, 2004; 2(3):23-30
- o RUHE RC, MC DONALD RB. Use of Antioxidant Nutrients in the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes. Journal of the American College of Nutrition, 2001; 20(5):363-369
- o RUHNAU KJ, MEISSNER HP, FINN JR, RELJANOVIC M, LOBISCH M, SCHÜTTE K, NEHRDICH D, TRITSCHLER HJ, MEHNERT H, ZIEGLER D. Effects of 3-week oral treatment with the antioxidant thiotic acid (α -lipoic acid) in symptomatic diabetic polyneuropathy. Diabetic Medicine, 1999; 16:1040-1043
- o SARGEANT LA, KHAW KT, BINGHAM S, DAY NE, LUBEN RN, OAKES S, WELCH A, WAREHAM NJ. Fruit and vegetable intake and population glycosylated haemoglobin levels: the EPIC-Norfolk Study. European Journal of Clinical Nutrition, 2001; 55:342-348
- o SCHAFFER SW, AZUMA J, MOZAFFARI M. Role of antioxidant activity of taurine in diabetes. Canadian journal of Physiology and Pharmacology, 2009; 87:91-99
- o SCHULTZ JOHANSEN J, 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

<http://www.cardiab.com/content/4/1/5> (20.08.2009)

- o SCOTT JA, KING GL. Oxidative Stress and Antioxidant Treatment in Diabetes. *Annals New York Academy of Sciences*, 2004; 1031:204-213
- o SHAFRIR E, ZIV E, MOSTHAF L. Nutritionally Induced Insulin Resistance and Receptor Defect Leading to β -Cell Failure in Animal Models. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1999; 892:223-246
- o SHARMA A, KHARB S, CHUGH SN, KAKKAR R, SINGH GP. Evaluation of oxidative Stress before and after Control of Glycemia and after Vitamin E Supplementation in Diabetic Patients. *Metabolism*; 2000; 49(2):160-162
- o SHEIKH-ALI M, SULTAN S, ALAMIR A-R, HAAS MJ, MOORADIAN AD. Effects of antioxidants on glucose-induced oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in endothelial cells. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2010; 87(2):161-6
- o SHULMAN G. Cellular mechanisms of insulin resistance. *The journal of Clinical Investigation*, 2000; 106:171-176
- o SON SM. Role of vascular reactive oxygen species in development of vascular abnormalities in diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2007; 77S:65-70
- o SORG O. Oxidative stress: a theoretical model or biological reality? *Comptes Rendus Biologies*, 2004; 327:649-662
- o SPINAS GA, HEITZ PU, 2004:
<http://www.megru.uzh.ch/j3/module/endokrinologie/endo.php?uniId=E73000&di=20>
(25.07.2009)
- o SPITALER MM, GRAIER WF. Vascular targets of redox signalling in diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2002; 45:476-494
- o STENTZ FB, UMPIERREZ GU, CUERVO R, KITABCHI AE. Proinflammatory Cytokines, Markers of Cardiovascular Risks, Oxidative Stress, and Lipid Peroxidation in Patients with Hyperglycemic Crises. *Diabetes*, 2004; 53:2079-2086
- o STEPHENS NG, PARSONS A, SCHOFIELD PM, KELLY F, CHEESEMAN K, MITCHINSON MJ, BROWN MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet*, 1996; 347:781-786

- o STRANGES S, MARSHALL JR, NATARAJAN R, DONAHUE RP, TREVISAN M, COMBS GF, CAPPuccio FP, CERIELLO A, REID ME. Effects of long-term Selenium Supplementation on the Incidence of Type 2 Diabetes. *Annals of Internal Medicine*, 2007; 147:217-223
- o STUDER RK, CRAVEN PA, DE RUBERTIS FR. Antioxidant Inhibition of Protein Kinase C – Signaled increases in Transforming Growth Factor-Beta in Mesangial Cells. *Metabolism*, 1997; 46(8):918-925
- o SZABO C. Role of nitrosative stress in the pathogenesis of diabetic vascular dysfunction. *British Journal of Pharmacology*, 2009;156:713-727
- o TANIYAMA Y, GRIENDLING KK. Reactive Oxygen Species in the Vasculature: Molecular and Cellular Mechanisms. *Hypertension*, 2003; 42:1075-1081
- o TIWARI S, RIAZI S, ECELBARGER CA. Insulin's impact on renal sodium transport and blood pressure in health, obesity, and diabetes. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*. 2007;293:F974-F984
- o VALKO M, LEIBFRITZ D, MONOCOL J, CRONIN M, MAZUR M, TELSER J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007; 39:44-84
- o VILLEGAS R, GAO YT, YANG G, LI HL, ELASY TA, ZHENG W, SHU XO. Legume and soy food intake and the incidence of type 2 diabetes in the Shanghai Women's Health Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2008; 87:162-167
- o VINAYAGAMOORTHY R, BOBBY Z, SRIDHAR MG. Antioxidants preserve redox balance and inhibit c-Jun-N-terminal kinase pathway while improving insulin signaling in fat-fed rats: evidence for the role of oxidative stress on IRS-1 serine phosphorylation and insulin resistance. *Journal of Endocrinology*, 2008:197:287-296
- o VINCENT AM, RUSSELL JW, LOW P, FELDMAN EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*, 2004; 25(4):612-628
- o WADA R, YAGIHASHI S. Role of Advanced Glycation End Products and their Receptors in the Development of Diabetic Neuropathy. *Annals New York Academy of Sciences*, 2005; 1043:598-604

- o WEI Y, CHEN K, WHALEY-CONNELL A, STUMP C, IBDAH J. Skeletal muscle insulin resistance: Role of inflammatory cytokines and reactive oxygen species. *American Journal of Physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 2008; 294: R673-R680
- o World Health Organisation (WHO) 2008: Fact sheet N°312 Diabetes: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/.en/print.html> (10.06.2009)
- o WRIGHT D, SUTHERLAND L. Antioxidant supplementation in the treatment of skeletal muscle insulin resistance: potential mechanisms and clinical relevance. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*, 2008; 32:21-31
- o YLÖNEN K, ALFTHAN G, GROOP L, SALORANTA C, ARO A, VIRTANEN SM. Dietary intakes and plasma concentrations of carotinoids and tocopherols in relation to glucose metabolism in subjects at high risk of type 2 diabetes: The Botnia Dietary Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2003; 77:1434-1441
- o ZIEGLER D, HANEFELD M, RUHNAU KJ, HASCHE H, LOBISCH M. Treatment of Symptomatic Diabetic Polyneuropathy with the Antioxidant α -Lipoic Acid. *Diabetes Care*, 1999; 22:1296-1301
- o ZIEGLER D, NOWAK H, KEMPLERT P, VARGHA P, LOW PA. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant α -lipoic acid: a meta-analysis. *Diabetes Medicine*, 2004; 21:114-121
- o ZOUREK M, KYSELOVA P, MUDRA J, KRCMA M, JANKOVEC Z, LACIGOVA S, VISEK J, RUSAVY Z. The Relationship between Glycemia, Insulin and Oxidative Stress in Hereditary Hypertriglyceridemic Rat. *Physiological Research*, 2008; 57:531-538

LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name: Walpurga Goebel
Geburtsdatum, Ort: 16. Oktober 1984, Wien
Staatsangehörigkeit: Österreich
Erreichbarkeit: w_goebel@gmx.at

Ausbildung:

09/1991 – 06/1995 Volksschule Celtesgasse, 1190 Wien
09/1995 – 06/2003 BRG XIX, Krottenbachstraße, 1190 Wien
08/2000 – 01/2001 Auslandssemester: Pobalscoil Neasáin, Dublin
09/2003 – 10/2004 Ausbildung zur Med. Masseurin, Institut Drumbl, Graz
Seit 10/2004 Studium der Ernährungswissenschaften, Univ. Wien

Berufspraxis:

02/2008 Nutrition Day in European Hospitals, AKE
02/2008 Kinderdiabetikerlager, Landeskrankenhaus Leoben
03/2008 Institut für Ernährungswissenschaften
08/2008 Verein für Konsumenteninformation
09/2008 Diabetikercrew, Mirno More Friedensflotte
01/2009 Karl Landsteiner Institut für Stoffwechselerkrankungen
02/2009 Kinderdiabetikerlager, Landeskrankenhaus Leoben

Weitere Qualifikationen:

Englisch: fließend in Wort und Schrift
Französisch und Italienisch: Grundkenntnisse