Aus dem

Institut für Klinische Diabetologie

Deutsches Diabetes-Zentrum

Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung an der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. med. Michael Roden

WIRKUNG UND WIRKUNGSHEMMUNG VON NAHRUNGS-ADVANCED GLYCATION ENDPRODUKTS AUF DIE ARTERIELLE ENDOTHELFUNKTION BEI MENSCHEN MIT UND OHNE DIABETES MELLITUS

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Denise Bastian

2009

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität- Düsseldorf

Gez. : Univ.- Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Dekan

Referent: Prof. Dr. Koschinsky

Korreferent: Univ.- Prof. Dr. Scherbaum

INHALTSVERZEICHNISS

STAND DER FORSCHUNG 5

ENDOTHELIALE DYSFUNKTION 6
RISIKOFAKTOR AGE 7
AGE - BILDUNG 7
MECHANISMEN DER AGE- WIRKUNG 8
AGE-WIRKUNGEN IN TIERMODELLEN UND BEIM MENSCHEN 10
VERMINDERUNG BZW. HEMMUNG DER AGE-WIRKUNG 11

FRAGESTELLUNGEN DER STUDIE 12

METHODIK 13

UNTERSUCHUNG DER ARTERIELLEN ENDOTHELFUNKTION 13
AGE – REICHES GETRÄNK 15
LABORMETHODEN 16
STUDIENDESIGN ZUR FRAGESTELLUNG 1-3 (PROTOKOLL A) 17
Studienpopulationen zu Protokoll A 18
STUDIENDESIGN ZUR FRAGESTELLUNG 4 (PROTOKOLLE B, B1, B2) 24
Studienmedikation 24
Studienpopulation zu Protokoll B 25
Studienpopulation zu Protokoll B1 27
Studienpopulation zu Protokoll B 2 28
STATISTISCHE ANALYSEN 29

ERGEBNISSE 30

DISKUSSION 38

ZUSAMMENFASSUNG 43

LITERATUR 46

DANKSAGUNG 62

LEBENSLAUF 64

ABSTRACT 66

Abkürzungsverzeichnis

AGE	***Advanced Glycation Endproducts***
BMI	***Body Mass Index***
CEL	**N-** ϵ ***- (Carboxyethyl) lysine***
CML	***N-*** ϵ ***- (Carboxymethyl) lysine***
ELAM 1	***Endothelium Leukocyte Adhesion Molecule 1***
ED	***Endotheliale Dysfunktion***
FAD	***Flussabhängige Dilatation***
HbA1c	***Glykohämoglobin***
NFκB	***Nuclear Factor kappa B***
n.d.	***nicht gemessen***
NO	***Stickstoffmonoxid***
RAGE	***Rezeptor für Advanced Glycation Endproducts***
SEM	***Standardfehler des Mittelwertes***
pAVK	***periphere arterielle Verschlusskrankheit***
PAI- 1	***Plasminogen Aktivator Inhibitor 1***
p=ns	***nicht signifikant***
VCAM 1	***Vascular Cell Adhesion Molecule 1***

Stand der Forschung

Diabetes mellitus ist eine chronisch verlaufende Erkrankung, die sich durch eine erhöhte Mortalitätsrate, sowie die Entwicklung zahlreicher Komplikationen, darunter makroangiopathische Folgeerkrankungen kennzeichnet. Dadurch kommt es zu einer Einschränkung der Lebensqualität und -Dauer von Menschen mit Diabetes mellitus.

Im Jahre 2006 lag die Zahl der Menschen mit Diabetes mellitus bei 246 Millionen weltweit (69). 70-80 % der Menschen mit Diabetes mellitus versterben an vaskulären Komplikationen. Für deren gezielte Prävention wie auch Behandlung ist eine wesentliche Voraussetzung, die Wirkungsweise von angiopathischen Faktoren einschließlich deren Hemmung bei Menschen mit und ohne Diabetes mellitus zu verstehen. Dass dabei die Ernährung Einfluss auf Risikofaktoren für Makroangiopathien hat, ist seit längerem bekannt. Insbesondere die postprandiale Dyslipoproteinämie und Hyperglykämie sind etablierte Risikofaktoren für die Entstehung der Arteriosklerose (4,5).

Als eine weitere potentiell atherogene Nahrungssubstanzklasse sind in den letzten Jahren so genannte Advanced Glycation Endprodukts (AGEs) beschrieben worden. Einen wesentlichen Wirkmechanismus der oben genannten Risikofaktoren bilden Funktionsstörungen des arteriellen Endothels. Daher sind Kenntnisse seiner physiologischen Funktion und biochemischen Grundlagen von zentraler Bedeutung.

Endotheliale Dysfunktion

Das Endothel kleidet die innere Schicht der Gefäße aus und steht im unmittelbaren Kontakt mit dem Blut. Es reguliert den arteriellen Gefäßtonus und damit die Gewebsperfusion, die Balance zwischen Hämostase und Fibrinolyse. Es ist an der Steuerung von Entzündungsreaktionen beteiligt und wirkt über die Produktion von NO als Radikalfänger (8). Die Endotheldysfunktion (ED) ist ein Ungleichgewicht zwischen vasodilatierenden und vasokonstriktorischen Mediatoren, die von Endothelzellen sezerniert werden. Die ED ist ein früher Marker der Atherosklerose. Es wird angenommen, dass jeder Angriff auf die Integrität der Endothelzellen und deren Funktion, pro-atherosklerotisch wirkt (70,71). Menschen mit Diabetes mellitus kennzeichnen sich durch eine deutliche Beeinträchtigung der Endothelfunktion (72,73). Dies kommt jedoch auch bei Menschen mit arterieller Hypertonie, Hypercholesterinämie oder Adipositas vor. Es wurde auch diskutiert, dass insbesondere Menschen mit einem erhöhten Risikoprofil postprandial eine ED aufweisen (4, 5,8).

Diese ist zwar vorübergehender Natur, kann jedoch durch tägliche Wiederholung in eine dauerhafte ED übergehen und somit die Entstehung der Atherosklerose fördern. Wenn man bedenkt, dass ein Mensch - je nach Zusammensetzung seiner Ernährung - bis zu 20 Stunden am Tag im postprandialen Status verbringt, gewinnt die Untersuchung dieser Effekte deutlich an Bedeutung. Es stellt sich die Frage, welche Bestandteile der Nahrung eine ED verursachen. Bisherige Daten haben die postprandiale Hyperglykämie und Hypertriglyzeridämie dafür verantwortlich gemacht (74). Eine Querschnittsstudie, die bei Menschen mit Typ 2 Diabetes durchgeführt wurde, ergab eine negative Korrelation zwischen der Serum-AGE Konzentration und der endothelabhängigen Dilatation der A. brachialis (85).

Als Ursachen der ED sind beschrieben worden: ein erhöhter LDL-Cholesterinspiegel (4, 7,8), Östrogenmangel (10), Diabetes (11), Hypertonie (13,21) und Rauchen (9). Diese Risikofaktoren einer ED sind deckungsgleich mit Risikofaktoren für Herz-Kreislauferkrankungen. Dies weist auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Endotheldefekt und Makroangiopathie hin. Der ED bei Herz-Kreislauferkrankungen liegt entweder eine zu niedrige NO-Bildung des Endothels oder eine verminderte Bioverfügbarkeit von NO in Folge

einer erhöhten Inaktivierung durch Sauerstoffradikale zugrunde (5,8) Rauchen, erhöhte LDL-Cholesterinspiegel und auch Hypertonie führen zu einer erhöhten Radikalbildung im Blut. Rauchen und Menopause führen zusätzlich zu einer erniedrigten NO- Bildung. Die oben genannten Risikofaktoren führen zu einer verminderten Ansprechbarkeit des Endothels auf die Scherkräfte des Blutes und der daraus resultierenden NO-Bildung (4,5). Die genaue Pathogenese der funktionellen Veränderungen der arteriellen Gefäße ist noch nicht eindeutig geklärt. Ein erhöhter Blutglukosespiegel erhöht—insulinunabhängig den intrazellulären Glucosespiegel im Endothel mit den bekannten metabolischen Konsequenzen. Daraus resultiert u.a. erhöhter oxidativer Stress (18).

Risikofaktor AGE

Ein langer Diabetesverlauf und schlechte Stoffwechseleinstellung sind auch mit erhöhten AGE-Konzentrationen in Zellen und Geweben korreliert. Tiermodelle haben gezeigt, dass einige Wochen nach Diabetesinduktion erhöhte AGE-Konzentrationen in Nieren, Haut und Gefäßen zu finden sind (24). In Tierversuchen wurde deutlich, dass eine Verhinderung der AGE-Bildung zu Reduktion von Folgeschäden führte (32). Tan et al. (36) zeigten, dass es bei Menschen mit Diabetes mellitus Typ 2 eine Korrelation zwischen Serum-AGEs und endothelabhängiger sowie endothelunabhängiger Gefäßdilation und zwischen der Höhe des HBA 1c und dem Serum-AGE Spiegel gibt. Serum-AGE Spiegel waren bei Menschen mit Diabetes signifikant höher als bei Menschen ohne Diabetes (34,38).

AGE - Bildung

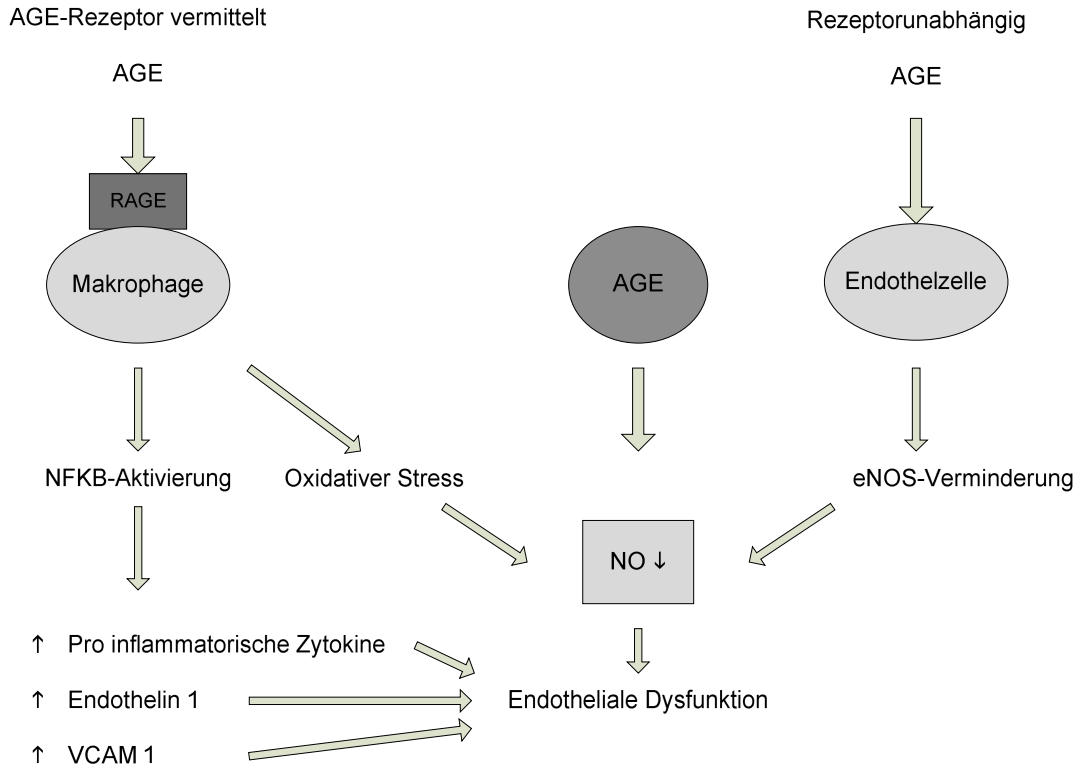
AGEs entstehen klassischerweise durch nichtenzymatische Glykierung von Proteinen (Maillard-Reaktion) oder Nukleinsäuren (75) oder alternativ durch die Reaktion zwischen Proteinen und reaktiven Carbonylgruppen von Substanzen die aus dem Katabolismus der Lipide, Proteine oder Kohlenhydrate stammen (76). AGEs werden sowohl endogen im Körper gebildet, als auch exogen zugeführt über Nahrung oder Rauchen. In Nahrungsmitteln können AGEs bei hohen Temperaturen innerhalb von Minuten entstehen (77), die endogene Entstehung kann Stunden bis Wochen dauern (26). Die New Yorker

Arbeitsgruppe von Helen Vlassara hat verschiedene Nahrungsmittel auf ihren AGE-Gehalt getestet (32). Die höchsten AGE-Konzentrationen wurden in gebratenen und gegrillten Fleisch gefunden. Rindfleisch enthält im Schnitt 89,2 AGE-Einheiten pro Gramm. Käse 80,2 Einheiten pro Gramm und Geflügel 62,5 Einheiten pro Gramm. Auch in zahlreichen Röstprodukten, z.B. Kaffee und Cola - Limonaden lassen sich höhere AGE-Konzentrationen nachweisen (77). Die Bildung der AGEs in den Lebensmitteln ist temperaturabhängig, d.h. je höher die Temperatur und je länger die Zubereitungsdauer, umso mehr AGEs entstehen (32). Exogene AGEs werden z.T. vom Körper (Dünndarm, Lunge) aufgenommen, können in vielen Geweben zwischengelagert und abgebaut werden und die Ausscheidung erfolgt größtenteils über die Nieren (80, 81,28). Endogen wie exogen gebildete AGEs unterscheiden sich nicht bzgl. ihrer biologischen Wirkungen.

Mechanismen der AGE- Wirkung

In vivo zirkulierende AGEs können extrazellulär entweder durch sehr stabile intermolekulare Bindungen oder durch erhöhte Reaktivität zu Veränderungen morphologischer Eigenschaften verschiedener Gewebe führen (z.B. durch Veränderung des Kollagens zur Gefäßsklerose) (24). In vivo zirkulierende AGEs binden auch an verschiedene Rezeptoren (z.B. RAGE, AGE-R1, AGE-R2, AGE-R3) und vermitteln damit ihre Wirkung auch auf zellulärer Ebene (20,84). Sie werden auf zahlreichen Zellen exprimiert, u.a. auf glatten Muskelzellen und Endothelzellen (Abb.1).

Abbildung 1:Wirkmechanismen zur Induktion einer AGE-vermittelten endothelialen Dysfunktion



Die Interaktion von AGEs mit RAGE führt zu oxidativem Stress (20). Frühe und späte Glykierungsprodukte bilden freie Radikale. Dadurch wird die Bioverfügbarkeit des Vasorelaxors NO verringert, da NO mit den freien Radikalen agiert und die NO-Synthase inhibiert wird (20). In Endothelzellen steigert der oxidative Stress die nachfolgende Bindung von AGEs an RAGE (20). Die Bindung an die vom Endothel exprimierten RAGE-Rezeptoren induziert u.a. die verstärkte Transkription des Tumornekrosefaktors kappa α und des Adhäsionsmoleküls VCAM-1. Die RAGE-AGE Interaktion bewirkt eine verstärkte Expression von Gewebsfaktoren, die die Balance von einem antikoagulatorischen Endothel in Richtung prokoagulatorischen Endothel verschiebt und die Entstehung von Thromben und Vasokonstriktion fördert.

AGE-Wirkungen in Tiermodellen und beim Menschen

In einer Diätstudie mit diabetischen Typ 1 und 2 Mäusen wurde gezeigt, dass Mäuse, die über 4-11 Monaten eine AGE-arme Ernährung erhielten im Gegensatz zu Mäusen mit AGE-reicher Ernährung, niedrigere AGE-Werte im Serum und den Nieren, eine geringere Mikroalbuminurie und eine verlängerte Lebenszeit aufwiesen (104). Weitere Daten in Tiermodellen haben gezeigt, dass eine AGE-arme Ernährung zu einer Verbesserung der Insulinempfindlichkeit, Vorbeugung der Diabeteskomplikationen, Verminderung der altersabhängigen Gewichtszunahme, sowie zu einer Verlängerung der Lebensdauer um 40% führt (81).

Basierend auf diesen Tierstudien wird auch beim Menschen angenommen, dass erhöhte AGE-Spiegel im Blut und im Gewebe eine bedeutende Rolle bei der Entstehung der Diabeteskomplikationen (81) und der Atherosklerose (83) spielen.

Verschiedene Studien haben die Auswirkungen einer AGE-reichen Ernährung in vivo untersucht (29,32). Die orale Bioverfügbarkeit beträgt ca. 10%. Menschen mit Diabetes mellitus und diabetischer Nephropathie zeigten nach einer einzelnen AGE-reichen Nahrungszufuhr im Vergleich zum Stoffwechselgesunden einen transienten erhöhten Serum-AGE-Spiegel und eine verminderte renale AGE-Elimination (28). Vlassara et al. untersuchten in einer Diätstudie die Auswirkungen von AGE-reicher Kost versus AGE-armer Kost bei Menschen mit Diabetes mellitus (32). Zwei Wochen nach einer AGE-reichen Kost kam es zum Anstieg des AGE-Serumspiegel um 64,5%. und der Blutspiegel des Tumornekrosefaktors alpha, des C-Reaktiven Proteins und des Adhäsionsmoleküles VCAM 1. Eine Studie an jungen Unfallopfern hat gezeigt, dass Raucher ähnlich hohe endotheliale AGE-Konzentrationen in den Gefäßen haben wie junge Menschen mit Diabetes mellitus (35).

Verminderung bzw. Hemmung der AGE-Wirkung

Durch die vielfältigen Interaktionen der AGEs mit dem Organismus ergeben sich verschiedene Möglichkeiten der therapeutischen Intervention zur Verminderung oder Hemmung der AGE Wirkung. Nicht pharmakologische Möglichkeiten bestehen in einer AGE-reduzierten Kost (20). In der oben genannten Studie von Vlassara et al (35) wurde bereits nach zwei Wochen AGE-armer Kost der Serum-AGE- Spiegel um 30 % vermindert, nach sechs Wochen AGE-armer Kost kam es zur Verminderung des C-reaktiven Proteins und VCAM 1 um 20 % .

Pharmakologische Möglichkeit bietet z.B Aminoguanidine, ein Inhibitor der AGE Bildung sowie ein selektiver Inhibitor der induzierbaren NO-Synthase (39). Ein weiterer Inhibitor der AGE-Synthese ist Benfotiamin, ein fettlösliches Thiamin. Hammes et al. (41) zeigten, dass Benfotiamin in vitro den Pentosephosphat-Zyklus, die intrazelluläre AGE-Bildung und den Diacylglycerol-Weg blockiert. Diese werden als wesentliche Hauptmechanismen für die Hyperglykämie induzierte ED angesehen (41). Thornalley et al. senkten bei Streptomycin induzierten Diabetesratten die Serumkonzentration von CML und CEL durch Benfotiamin (42).

Antioxidantien, z.B. Ascorbinsäure oder α-Liponsäure, fangen die bei Entstehung von AGEs gebildeten freien Radikale ab, wodurch die Aktivierung des NF kappa B gehemmt und die daraus resultierende Transkription von prokoagulatorischen und vasokonstriktorischen Gewebsfaktornen wie VCAM 1, ELAM 1 und Endothelin 1 vermindert werden kann (20). Vitamin C hat eine zusätzlich Wirkung auf den Cofaktor der NO-Synthase Tetrahydrobiopterin, verhindert wie Folsäure dessen Reduktion zu Dihydrobiopterin und stellt das Uncoupling der NO-Synthase wieder her (34). Klinische Studien haben nachweisen können, dass die Gabe von Vitamin C (17, 40,48-50), von Folsäure (35) und von L-Arginin, dem Substrat des Stickstoffmonoxids, eine deutliche Verbesserung der Endothelfunktion hervorruft (35,52, 53,54,55,60).

Fragestellungen der Studie

Bei diesem Stand der Forschung, der zunehmenden Verbreitung und Aufnahme von AGE –reichen Nahrungsmitteln, und da zum Zeitpunkt der Studiendurchführung keine in vivo Daten zur akuten Wirkung von Nahrungs-AGE auf das funktionelle Endothelverhalten bei Menschen vorlagen, wurden folgende Fragestellungen bei Menschen mit und ohne Diabetes mellitus untersucht:

1. Bewirkt eine einmalige orale Aufnahme eines AGE - reichen Getränkes eine Beeinträchtigung der arteriellen Endothelfunktion?
2. Führt die orale Aufnahme eines AGE-reichen Getränkes zu einer Konzentrationserhöhung im Blut von AGE sowie von Parametern, die mit einer ED einhergehen, wie PAI - 1 und VCAM 1?
3. Besteht diesbezüglich ein Unterschied
   a. zwischen Menschen mit und ohne Diabetes mellitus,
   b. zwischen Menschen mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 ,
   c. zwischen Rauchern und Nichtrauchern ?
4. Lässt sich eine akute Beeinträchtigung der arteriellen Endothelfunktion durch ein AGE - reiches Getränk durch die Einnahme von Substanzen, die auf den endothelialen Stickstoffmonoxid-Stoffwechsel wirken, z.B. Vitamin C, L-Arginin oder Folsäure, verhindern (proof of concept)?

Methodik

Untersuchung der arteriellen Endothelfunktion

Vor der Untersuchung wurde sichergestellt, dass der Studienteilnehmer seit zwölf Stunden nichts gegessen, keinen Kaffee getrunken und nicht geraucht hat. Das Trinken von Mineralwasser war erlaubt. Der Studienteilnehmer spritzte nur sein Langzeitinsulin und die Morgenmedikation wurde erst nach Beendigung der Untersuchung eingenommen.

Zu Beginn wurde dem Probanden am linken Arm eine Venen-Verweilkanüle gelegt, aus der Blut zur Bestimmung der Labor-Parameter abgenommen wurde. Die Verweilkanüle wurde links gelegt, da die FAD-Messung rechts stattfand und somit eine Verfälschung der Blutwerte durch die Stauung vermieden wurde. Es erfolgte eine Blutabnahme zur Messung des Serum-AGE Spiegels und PAI-1 im Plasma vor Einnahme des AGE-reichen Getränkes sowie 90 Minuten und 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes.

Messung der Endothelfunktion (Abb.2)

Die Endothelfunktion wurde an der Arteria brachialis mittels eines hochauflösenden Ultraschallgerätes gemessen (Esaote Biomedica EUP, Schallkopf 10 MHz). Vor jeder Messung hielt der Proband eine 10 minütige Ruhephase auf der Untersuchungsliege, in Rückenlage bei Raumtemperatur im abgedunkelten Raum. Der Proband legte den rechten Arm in einen Armhalter, so dass der Arm in einer ruhigen Position lag und der Untersucher einen guten Zugang zur rechten Arteria brachialis hatte.

Die Darstellung des Durchmessers der rechten Arteria brachialis erfolgte am Oberarm an einer Stelle, wo es möglich ist, die Arterie parallel zum Bildschirm einzustellen und an der die Adventitia, Media und Intima kontinuierlich darzustellen waren. In den meisten Fällen befand sich diese Stelle 2-10 cm oberhalb des Ellenbogens. Die Position des Schallkopfes wurde markiert, damit die nachfolgenden Messungen an derselben Stelle stattfanden. Die Aufzeichnung der Ultraschallbilder erfolgte EKG getriggert und die Messung wurde endiastolisch durchgeführt. Die erste Messung mit Aufzeichnung der

Bilder auf Video erfolgte nach Einhaltung der Ruhephase von 10 Minuten. Die Aufzeichnung wurde mit der Bemerkung Ruhe und der Uhrzeit gekennzeichnet. Danach wurde der rechte Unterarm des Patienten mit einer Blutdruckmanschette bei 250 mmHg 4.5 Minuten gestaut. 50-60 sec nach Auflösung der Stauung erfolgte die zweite Videoaufzeichnung.

Das Zeitintervall von 50-60 sec wurde gewählt, da die Flussabhängige Dilation zu diesem Zeitpunkt nach der Stauung ihr Maximum erreicht hat (61).

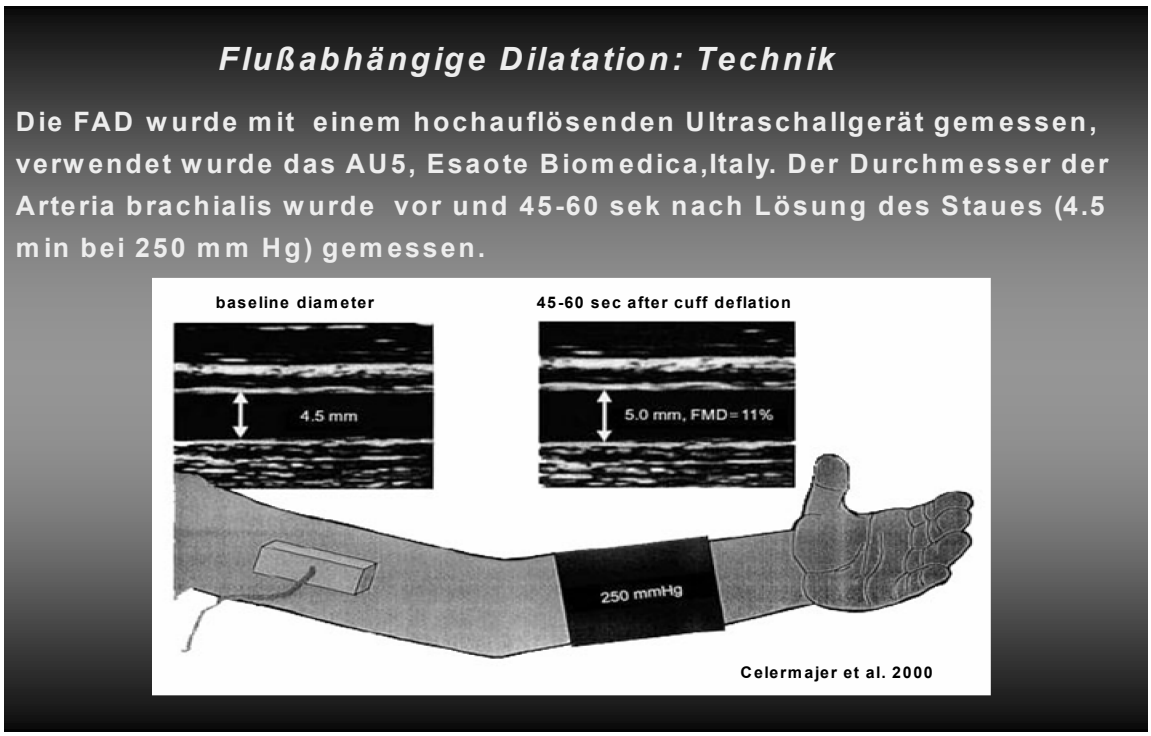
Die zweite Videosequenz wurde mit der Bemerkung S 1 Minute und der Uhrzeit gekennzeichnet. Die Auswertung der Videoaufzeichnung wurde nach der Beendigung der letzten Untersuchung durchgeführt. Von jeder Aufzeichnung wurden jeweils drei Bilder über drei Herzzyklen auf der R-Zacke des Ekgs gespeichert, damit die Veränderungen des Arteriendurchmessers durch das Schlagvolumen und die Atmung ausgeglichen werden. Der Durchmesser der Arteria brachialis pro Herzzyklus wurde an drei verschiedenen Stellen gemessen und jeweils der Mittelwert berechnet, der als Arteriendurchmesser definiert wurde. Die Messung des Arteriendurchmessers wurde nach einer von Celermajer et al. beschriebene Methode durchgeführt (12).

Der Durchmesser wurde bestimmt indem von der proximalen Grenze zwischen Media und Intima bis zur distalen Grenze zwischen Lumen der Arterie und der Intima gemessen wurde. Die Endothelfunktion wurde durch die Flussabhängige Dilatation (FAD) definiert. Die FAD errechnet sich nach folgender Formel: ((S1Min.-Ruhe):Ruhe)*100; d.h. die FAD ist die prozentuale Gefäßerweiterung nach Stauung verglichen mit dem Ruhewert. Die Berechnung des FAD erfolgte vor Einnahme des AGE- reichen Getränkes ,90 Minuten und 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes..

Vor Studienbeginn wurde festgelegt, dass man von einer ED nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes spricht, wenn der Abfall nach 90 Minuten 15% und mehr im Vergleich zum Basalwert beträgt. Die Reproduzierbarkeit der FAD-Methode ist insbesondere von Celermajer et al. untersucht worden und zeigte, dass die FAD bei verschiedenen Untersuchern bei einem Probanden zwischen 1-8 % liegt und die individuelle Variabilität über einen Zeitraum von bis zu vier Monaten bei 4-8 % liegt (63). Eine Studie in unserem Institut von Stirban et al.

zeigte eine Differenz der Messung der FAD zwischen zwei unabhängigen Untersuchern von unter 7 % (106).

Abbildung 2: Messung der arteriellen Endothelfunktion mit der Technik der Flußabhängingen Dilatation (12)



AGE – reiches Getränk

Die Herstellung des AGE-reichen Getränkes wurde von der Arbeitsgruppe Prof. Koschinsky durchgeführt Zur Herstellung von 300 ml des AGE-reichen Getränkes wurden 3000ml Coca-Cola™ light koffeinfrei aus dem Supermarkt verwendet. Diese Coca-Cola wurde in der Regel 1-2 Tage vor dem Einsatz in der Studie durch Rotationsverfahren 10fach konzentriert bei 18°C. Das hergestellte AGE-reiche Getränk wurde im Kühlschrank bei 10°C aufbewahrt, es enthielt kein Koffein. 300 ml des AGE-reichen Getränkes enthielten 1,8 Millionen AGE-Einheiten und 4,2µMol Methylglyoxal - Derivate, jedoch keine Kohlenhydrate oder Lipide.

Labormethoden

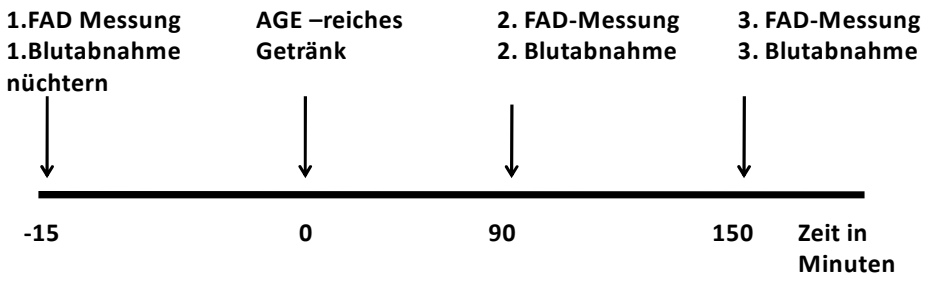
Die AGE- und die VCAM 1 - Serumspiegel wurde von der Arbeitsgruppe Prof. Vlassara, New York, USA, mittels eines spezifischen CML-sensitiven ELISA gemessen. Es wurde ein monoklonaler Antikörper gegen CML-KLH (4G9 mab, Alteon Inc. Northvale, NJ, USA) verwendet (91, 92,93). Die AGE-Daten werden als AGE – Einheiten pro ml Serum angegeben (77). Die Plasma-Proben zur Bestimmung von PAI-1 mittels Elisa von Biopol International, Schweden, wurden von der Arbeitsgruppe Prof. Koschinsky gemessen. Die übrigen Laborparameter (HbA1c, Serum-Triglyceride, Serum–Cholesterin, LDL-, HDL-Cholesterin, Serumkreatinin wurden mit Standardmethoden des klinisch-chemischen Labors im Deutschen Diabetes- Zentrum bestimmt.

Studiendesign zur Fragestellung 1-3 (Protokoll A)

Die Veränderung der arteriellen Endothelfunktion nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes wurde gemäß dem Untersuchungsprotokoll bei Menschen mit Diabetes mellitus (Tab.1-3) und 10 Stoffwechselgesunden (Tab. 4) gemessen (Abb. 3). Mit den Rauchern war vereinbart, dass am Untersuchungstag erst nach Abschluss der letzten FAD- Messung wieder geraucht werden durfte.

Um einen reinen Flüssigkeitseffekt auf die ED auszuschließen, wurde bei 12 von 44 Studienteilnehmern die FAD- Wirkung von 300 ml Leitungswasser mit der von 300 ml des AGE-reichen Getränkes verglichen. 6 der Studienteilnehmer erhielten erst 300 ml Leitungswasser und dann an einem folgenden Untersuchungstag 300 ml – des AGE-reichen Getränkes. Die anderen 6 Studienteilnehmer erhielten erst die 300 ml des AGE-reichen Getränkes und auf einem der folgenden Untersuchungstage 300 ml Leitungswasser. Die Einteilung der 12 Studienteilnehmer erfolgte randomisiert.

Abbildung 3: Studienablauf nach Protokoll A



Studienpopulationen zu Protokoll A
(Tab.1- 6)

Die Studienteilnehmer wurden im Rahmen eines stationären Aufenthaltes oder einer ambulanten Behandlung im Deutschen Diabetes- Forschungsinstitut an der HHU Düsseldorf nach folgenden Kriterien rekrutiert:

Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterienn

- Menschen mit Diabetes mellitus Typ 1[1]
- Menschen mit Diabetes mellitus Typ 2[1]
- Menschen ohne Stoffwechselerkrankungen
- Alter 20-75 Jahre

Ausschlusskriterien

- Herzinsuffizienz NYHA-Klasse III und IV
- Instabile Angina Pectoris
- Herzinfarkt innerhalb der letzten 6 Monate
- Lebensbedrohliche Herzrhythmusstörungen während der letzten 6 Monate: Vorhofflimmern, Kammerflimmern oder Patienten mit Herzschrittmacher
- Hämatologische Erkrankungen
- Bekannte Niereninsuffizienz (Kreatininspiegel ≥ 2.2 mg/dl)
- Schlaganfall innerhalb der letzten 6 Monate
- Proliferative diabetische Retinopathie
- Thrombosen der unteren Extremitäten oder behandlungsbedürftige Varizen

[1] gemäß der Leitlinien der DDG (107).

Mindestens 24 Stunden vor der Untersuchung fand ein Aufklärungsgespräch statt, in dem die Durchführung und der Zweck der Untersuchung erläutert und auf Fragen eingegangen wurde. Nach der Bedenkzeit wurde der Studienteilnehmer erneut angesprochen und bei Zusage das Einverständnis dokumentiert.

Tabelle 1: Klinische Daten und Laborparameter der Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus (n=44)

	Einheit	Minimum	Maximum	Mittelwert	SEM
BMI	***kg/m2***	21	32	25,6	0,48
Diabetes-Dauer	***Jahre***	0,03	41	15,55	1,64
Alter	***Jahre***	27	72	50,73	1,83
HbA1c	***%***	5,7	14,6	8,56	0,31
Blutglukose nüchtern	***mg/dl***	116	209	157	16
Serum-Triglyceride	***mg/dl***	49	668	160,19	18,27
Serum-Cholesterin	***mg/dl***	153	340	220,88	7,04
LDL-Cholesterin	***mg/dl***	79	234	136,89	5,35
HDL-Cholesterin	***mg/dl***	25	113	52,86	2,4
Serum-Kreatinin	***mg/dl***	0,5	1,2	0,83	0,02

Tabelle 2: Klinische Parameter der Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus (n =44)

Parameter	Anzahl
Diabetes Typ 1 / 2	22/22
Geschlecht m/w	36/8
Raucher [1]/ Nichtraucher	20/24
Retinopathie	11
Nephropathie	0
Periphere arterielle Verschlusskrankheit	3
Makroangiopathie	1

[1] Als Raucher wurden die Studienteilnehmer definiert, die täglich 5 oder mehr Zigaretten rauchen.

Tabelle 3 : Medikamentöse Therapie der Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus

Therapie	Anzahl
Insulin	36
ASS 100	10
ACE-Hemmer	6
Beta-Blocker	3
HMG-CoA Reduktase Hemmer	4
Fibrinsäurederivate	1

Tabelle 4: Klinische Daten und Laborparameter der Menschen mit Diabetes unterteilt nach Rauchern und Nichtrauchern ($\bar{x}$ ± SEM)

	Einheit	Raucher	Nichtraucher	p-Wert
BMI	***kg/m2***	25,6±5,72	25,61±5,48	ns
Diabetes-Dauer	***Jahre***	11,92±2,67	18,71±3,82	ns
Alter	***Jahre***	48,2±10,78	52,83±10,78	ns
HbA1c	***%***	8,88±1,99	8,3±1,96	ns
Serum-Triglyceride	***mg/dl***	188,4±42,13	135,65±27,69	ns
Serum-Cholesterin	***mg/dl***	233,55±52,22	209,87±42,84	ns
LDL-Cholesterin	***mg/dl***	139,45±31,18	134,75±27,51	ns
HDL-Cholesterin	***mg/dl***	54,75±12,4	51,29±10,47	ns
Serum-Kreatinin	***mg/dl***	0,81±0,18	0,85±0,17	ns
Geschlecht m/w	***Anzahl***	14/6	22/2	
Typ1 /Typ 2	***Anzahl***	11/9	11/13	
Retinopathie	***Anzahl***	4	7	
Nephropathie	***Anzahl***	0	0	
Periphere arterielle Verschlusskrankheit	***Anzahl***	0	3	
Makroangiopathie	***Anzahl***	0	1	

Tabelle 5: Klinische Daten und Laborparameter der Menschen mit Diabetes unterteilt nach Typ 1 und Typ 2 ($\bar{x}$ ± SEM)

	Einheit	Typ 1	Typ 2	p-Wert
BMI	***kg/m2***	25,5±5,33	25,71±5,48	ns
Diabetes-Dauer	***Jahre***	20,96±5,97	15,36±3,27	p<0,05
Alter	***Jahre***	46,41±12,3	50,53±10,77	p<0,05
HbA1c	***%***	7,95±1,66	9,17±1,95	p<0,05
Serum-Triglyceride	***mg/dl***	130,77±10,66	191±40,72	ns
Serum-Cholesterin	***mg/dl***	219,14±46,9	222±47,48	ns
LDL-Cholesterin	***mg/dl***	137,64±21,75	136,14±29,02	ns
HDL-Cholesterin	***mg/dl***	49,59±9,38	56,14±11,97	ns
Serum-Kreatinin	***mg/dl***	0,82±0,17	0,84±0,18	ns
Geschlecht m/w	***Anzahl***	16/6	20/2	
Raucher/Nichtraucher	***Anzahl***	11/11	9/13	
Retinopathie	***Anzahl***	8	1	
Nephropathie	***Anzahl***	0	0	
Periphere arterielle Verschlusskrankheit	***Anzahl***	1	2	
Makroangiopathie	***Anzahl***	0	1	

Tabelle 6: Klinische Daten der nichtdiabetischen Studienteilnehmer (n=10)

Parameter	**Einheit**	**($\bar{x}$ ±SEM)**
Geschlecht: m/w	***Anzahl***	5/5
Alter	***Jahre***	43±4
BMI	***kg/m2***	25±2
Blutglukose nüchtern	***mg/dl***	100±7

Studiendesign zur Fragestellung 4 (Protokolle B, B1, B2)

Studienmedikation

Zur Untersuchung der Anti-AGE- Effekte auf die arterielle Endothelfunktion von Substanzen, die auf den endothelialen Stickstoffmonoxid -Stoffwechsel wirken, wurden Vitamin C, Folsäure und die Aminosäure L-Arginin oral über verschiedene Zeiträume 1- 50 Tage verabreicht.

Vitamin C

Die verabreichte Dosis von 2 g/Tag(Protokoll B) liegt im Therapiebereich von Einzeldosen. Für die im Rahmen der Akutintervention vorgesehene Dosis von 2 g Vitamin C/ Einnahme wurden in der Literatur im Rahmen ähnlicher Studien keine Unverträglichkeitsreaktionen beschrieben(16,17).

Folsäure

Die verabreichte Dosis von 10 m g/Tag (Protokoll B1, B2) liegt im Rahmen der bei Homocysteinämie oder Folsäuremangel empfohlenen Tagesdosis. Für die kurzfristige Gabe von höheren Dosen (50 mg/Tag) (Protokoll B) sind keine ernsthaften Nebenwirkungen bekannt.

L-Arginin

Die verabreichte Dosis von 9g/d (Protokoll B1, B2) liegt etwas über dem therapeutischen Bereich von 6g/d. Für die einmalige Gabe von 9g/d sind keine Nebenwirkungen bekannt. Die Sicherheit der oralen Therapie mit L-Arginin ist in mehreren Studien untersucht worden. Dabei wurden keine relevanten Nebenwirkungen beschrieben(12, 52,56,57,59,60,64).

Studienpopulation zu Protokoll B

11 der Studienteilnehmer gemäß Protokoll A, 9 mit und 2 ohne Diabetes mellitus erhielten oral 4 Tage 50 mg/d Folsäure und 2 g/d Vitamin C beginnend nach der ersten Untersuchung. Am 5. Tag wurde die Untersuchung nach Protokoll A wiederholt. Dabei wurde in das AGE-reiche Getränk 9 g L-Arginin unmittelbar vor der Einnahme zugegeben. Stoffwechselgesunde und Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus wurden zu einem Kollektiv zusammengefasst, da die untersuchten Effekte bei Stoffwechselgesunden denen der Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus entsprachen.

Abbildung 4: Studienablauf mit Protokoll B

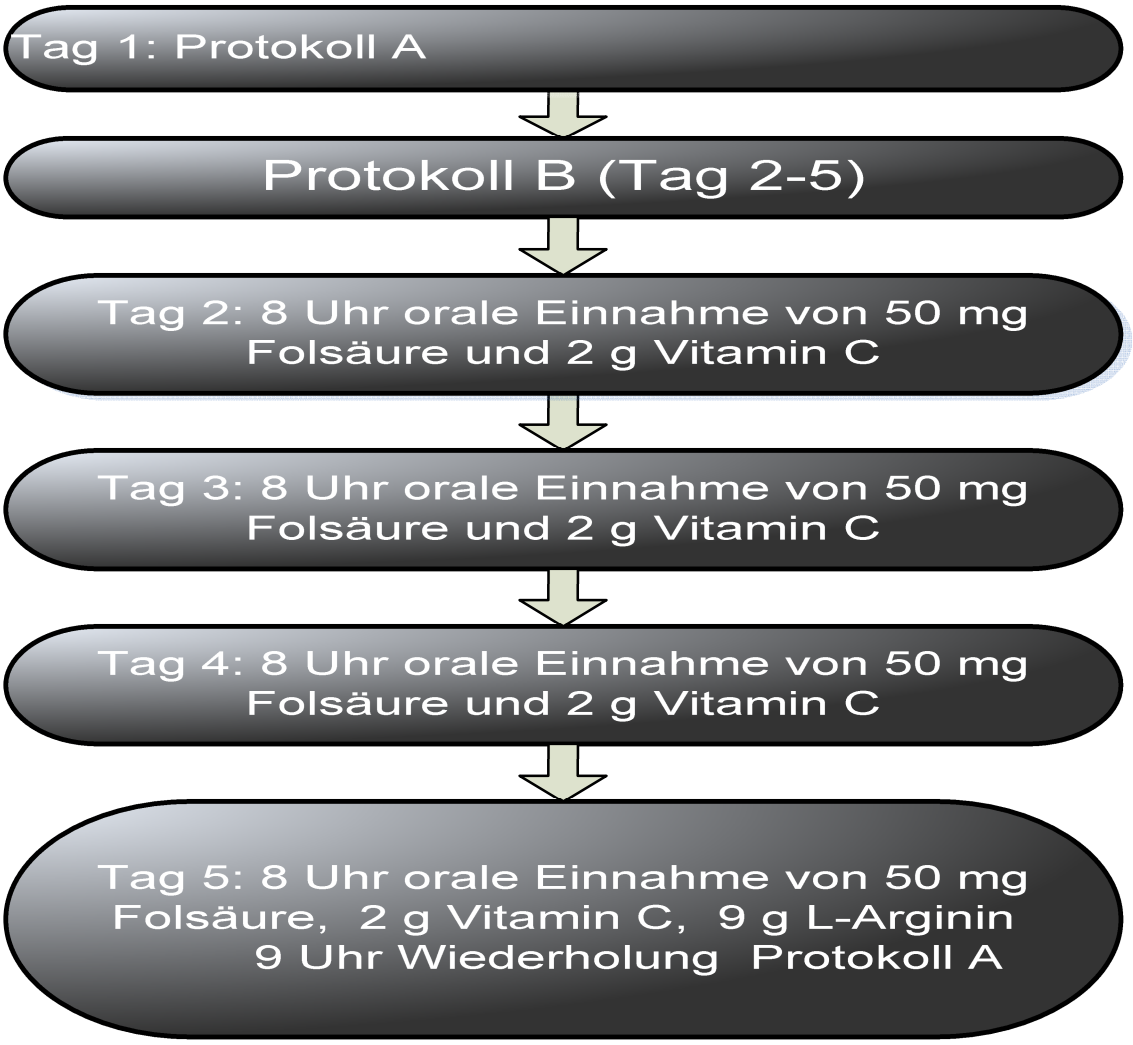


Tabelle 7: Klinische Daten und Laborparameter der 11 Studienteilnehmer gemäß Studienablauf mit Protokoll B.

	Einheit	Minimum	Maximum	Mittelwert	SEM
BMI	***kg/m2***	24	29	26,82	0,54
Alter	***Jahre***	43	62	53,6	1,98
Diabetesdauer	***Jahre***	2	41	16,33	4,34
HbA1c	***%***	6,8	12	8,78	0,7
Serum-Triglyceride	***mg/dl***	50	289	143,75	27,36
Serum-Cholesterin	***mg/dl***	260	243	210,75	17,76
LDL-Cholesterin	***mg/dl***	102	232	157,13	13,75
HDL-Cholesterin	***mg/dl***	32	91	47,5	6,58
Serum –Kreatinin	***mg/dl***	0,6	1,1	0,83	0,06

Tabelle 8: Klinische Parameter der Studienteilnehmer aus Protokoll B

Parameter	Anzahl
Ohne Diabetes/ mit Diabetes	2/9
Diabetes Typ 1 / 2	5/4
Geschlecht(m/w)	8/3
Raucher / Nichtraucher	3/8
Retinopathie	5
Nephropathie	0
Periphere arterielle Verschlusskrankheit	0
Makroangiopathie	0

Studienpopulation zu Protokoll B1

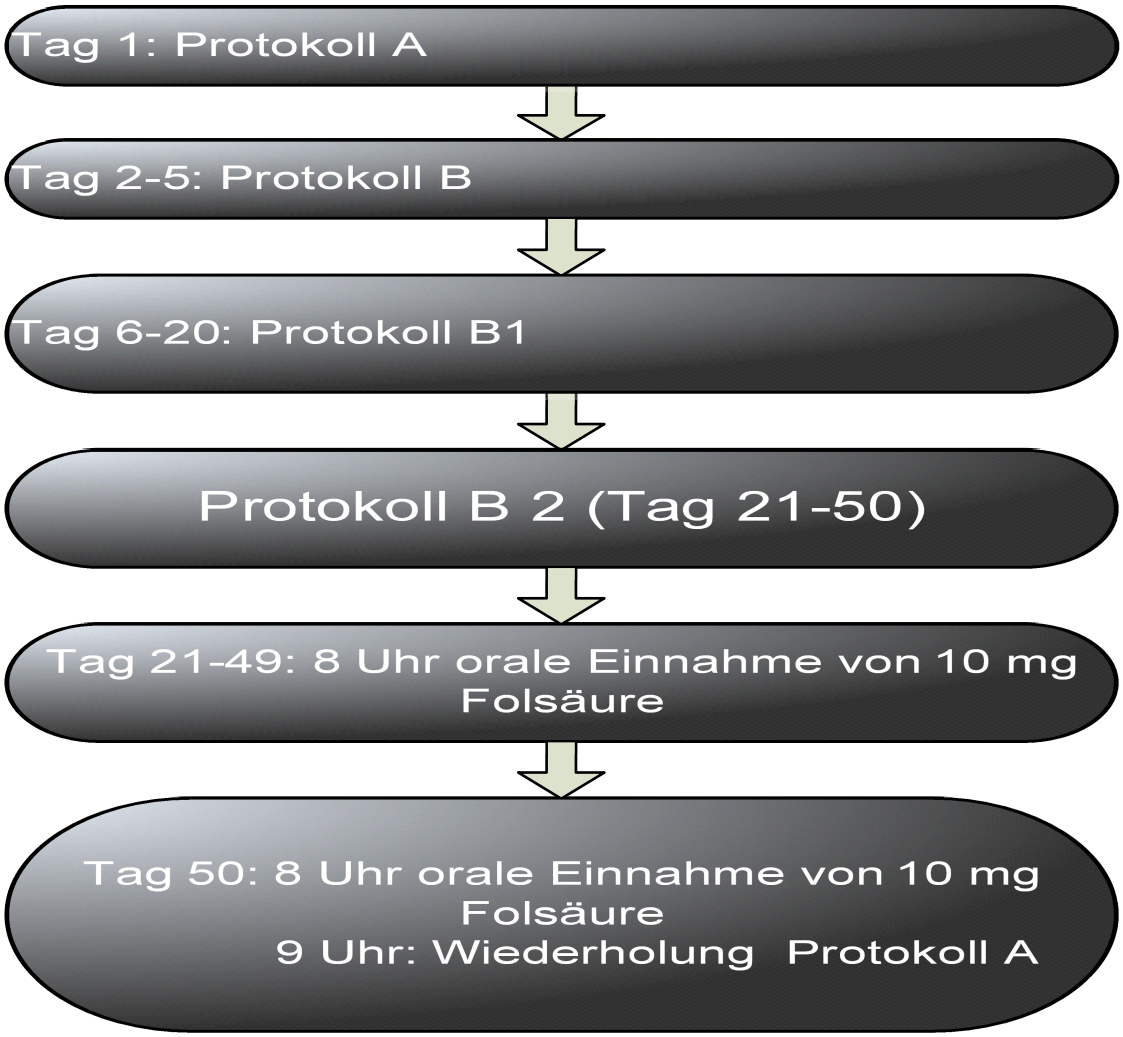
7 der Studienteilnehmer aus Protokoll B, 5 mit und 2 ohne Diabetes mellitus, wurden weitere 14 Tage oral mit 10 mg/d Folsäure behandelt. Am 20.Tag wurde die Untersuchung nach Protokoll A wiederholt.

Abbildung 5: Studienablauf mit Protokoll B 1

Studienpopulation zu Protokoll B 2

5 der Studienteilnehmer einschließlich Protokoll B1, 3 mit und 2 ohne Diabetes mellitus, erhielten weitere 29 Tage oral 10mg/d Folsäure (Dauer der Folsäureeinnahme insgesamt 42 Tage). Am 50. Tag wurde die Untersuchung nach Protokoll A wiederholt.

Abbildung 6: Studienablauf mit Protokoll B 2



Statistische Analysen

Analysiert wurde als zentrales Studienmerkmal der arteriellen Endothelfunktion die Änderung der flussabhängigen Dilatation (FAD) 90 sowie 150 min nach der Gabe des AGE-reichen Getränks gegenüber dem Ausgangswert und den entsprechenden Werten nach der Gabe von 300 ml Wasser. Für die Variable FAD wurde eine Normalverteilung angenommen. Die Ergebnisse der FAD-Messung wurden als Mittelwerte und als Standardfehler der Mittelwerte dargestellt. Die statistische Prüfung auf Gruppenunterschiede erfolgte durch den zweiseitigen t-Test für unabhängige Stichproben. Die Signifikanzgrenze wurde bei $p<0,05$ festgelegt. Alle Berechnungen wurden unter Verwendung des Statistikprogramms SPSS durchgeführt (SPSS 11.5. für Windows).

In unsere Studie wurde nicht die endothelunabhängige Dilatation mittels Nitroglycerin untersucht, da die länger anhaltende Vasodilatation Auswirkung auf die zweite Messung der FAD 90 Minuten nach Einnahme der eines AGE-reichen Getränkes haben könnte.

Die klinischen Daten der Studienteilnehmer wurden durch Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardfehler des Mittelwertes (SEM) beschrieben.

Ergebnisse

Die Einnahme des AGE-reichen Getränkes (Protokoll A) führte nach 90 Minuten zu einer signifikanten Verringerung der FAD im Vergleich zum Basalwert um durchschnittlich -26% sowohl bei den Studienteilnehmern ohne als auch mit Diabetes mellitus. 150 Minuten nach Einnahme des AGE –reichen Getränkes hatte sich der zwischenzeitlich erniedrigte FAD –Wert wieder auf das Ausgangsniveau bei beiden Studienkollektiven erhöht (Tab. 9).

Bei den Studienteilnehmern ohne Diabetes mellitus wurde die basale FAD 90 Minuten nach Einnahme des AGE - reichen Getränkes von 9.9 ± 0,7% auf 7,4 ± 0,9% gesenkt (p=0,019) und stieg 150 Minuten nach Einnahme wieder auf 9,58 ± 0,68% (p=ns vs. basal) an. Im Vergleich dazu war bei den Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus die basale FAD um durchschnittlich 45% erniedrigt (p< 0,05). Deren basale FAD wurde 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes von 5.45±0,4 % auf 4.00±0,34% gesenkt (p<0.001) und stieg 150 Min nach Einnahme wieder auf 5.58±0,45% (p=ns vs. basal) an.

Tabelle 9: Arterielle Endothelfunktion (FAD) von Studienteilnehmern ohne bzw. mit Diabetes mellitus vor sowie 90 und 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes ($\bar{x}$ ± SEM)

Parameter	Studienteilnehmer ohne Diabetes (n=10)	Studienteilnehmer mit Diabetes (n=44)	p-Wert
FAD basal	9,9±0,7%	5,45±0,4%	<0,05
FAD 90 Min.	7,4±0,9%	4,00±0,34%	<0,05
FAD 150 Min.	9,58±0,68%	5,58±0,45%	ns

Um einen reinen Flüssigkeitseffekt auf die ED auszuschließen, wurde bei 12 Studienteilnehmern 300 ml Leitungswasser ohne AGE mit der Einnahme von 300 ml des AGE-reichen Getränkes verglichen (Tab. 10). Nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes kam es erwartungsgemäß nach 90 Minuten zu einem signifikanten Abfall der FAD ($p<0,05$). Die Einnahme von 300 ml Leitungswasser führte dagegen zu keiner signifikanten Veränderung der FAD nach 90 Minuten. Der Unterschied des FAD-Wertes 90 Minuten nach Einnahme von 300 ml Leitungswasser vs. 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes war signifikant ($p<0,05$). Damit kann ein unspezifischer Volumeneffekt des AGE – reichen Getränkes ausgeschlossen werden.

Tabelle 10: Arterielle Endothelfunktion (FAD) von Menschen mit Diabetes mellitus (n=12) vor sowie 90 Minuten nach Einnahme von 300 ml Leitungswasser im Vergleich zum AGE-reichen Getränk ($\bar{x}$ ± SEM)

Parameter	300 ml Wasser	300 ml AGE-reiches Getränk	p- Wert (Gruppenunterschiede)
FAD basal	5,22±0,67 %	5,24±0,72%	p=ns
FAD 90 Min.	5,67±0,67%	3,09±0,46%	p<0,05

Die Einnahme des AGE-reichen Getränkes führte nach 90 Minuten zu einem signifikanten Anstieg der Serum – AGE - Konzentrationen im Vergleich zum Basalwert um durchschnittlich 29% bis 35% (p=0,02) bei beiden Studienkollektiven (Tab. 11). Nach 150 Minuten stiegen die Serum – AGE - Konzentrationen im Vergleich zum Basalwert um durchschnittlich 62% bis 81% bei beiden Kollektiven weiter an (p=0,002). Die Serum-AGE- Konzentrationen waren dabei zu allen Zeitpunkten bei den Studienteilnehmern mit Diabetes signifikant höher (im Mittel um 31%-53%; p<0,05) als bei denen ohne Diabetes. Dagegen änderten sich die Serum-Glukosespiegel der Studienteilnehmer mit Diabetes 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes im Vergleich zum Basalwert nicht signifikant (157±16 vs. 153±15 mg/dl; p=ns).

90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes kam es im Vergleich zum Basalwert zu einem signifikanten Anstieg der Plasma-PAI-1 Konzentrationen um durchschnittlich 26-54% (p<0,05) bei beiden Studienkollektiven (Tab. 11). Nach 150 Minuten stiegen die Plasma-PAI -1-Konzentrationen im Vergleich zum Basalwert signifikant um durchschnittlich 35-80% (p<0,05) bei beiden Kollektiven weiter an.

Die Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus hatten im Vergleich zu denen ohne Diabetes im Mittel basal einen signifikant höheren Serum- VCAM 1 Wert, der aber auch 90 Minuten nach Einnahme des AGE- reichen Getränkes unverändert blieb (Tab. 11).

Es waren keine signifikanten Assoziationen nachweisbar zwischen den Basalwerten der Serum-AGE einerseits und der Plasma-PAI-1 oder der FAD andererseits, weder bei den Studienteilnehmern mit noch bei denen ohne Diabetes mellitus.

Tabelle 11: Konzentrationen von Serum - AGE, Plasma- PAI - 1 und Serum-VCAM-1 Werten bei Studienteilnehmern ohne bzw. mit Diabetes mellitus vor sowie 90 und 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes ($\bar{x}$ ± SEM)

Parameter	Studienteilnehmer ohne Diabetes (n=10)	Studienteilnehmer mit Diabetes (n=44)	p-Wert (Gruppenunterschiede)
Serum-AGE basal	7,2±0,5U/ml	10,5±0,7U/ml	<0,05
Serum-AGE 90 Min.	9,3±1U/ml	14,2±0,1U/ml	0,04
Serum-AGE 150 Min.	13±2U/ml	17±2U/ml	<0,05
Plasma-PAI-1 basal	5,4±0,4ng/ml	6,5±1ng/ml	ns
Plasma-PAI -1 90 Min.	6,8±0,4ng/ml	10±2ng/ml	ns
Plasma-PAI- 1 150 Min.	7,3±0,5ng/ml	11,7±1ng/ml	ns
Serum VCAM -1 basal	846±158ng/ml	1407±115ng/ml	<0,05
Serum VCAM -1 90 Min.	n.d.	1252±104ng/ml	n.d.

Unterteilt man die Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus in Raucher (n=20) und Nichtraucher (n=24), ergab sich, dass bei vergleichbaren FAD-Basalwerten 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes die FAD bei Rauchern mit durchschnittlich -38% gegenüber dem Basalwert signifikant (p<0,05) um mehr als das Doppelte im Vergleich zur FAD bei Nichtrauchern (-18%) gesenkt wurde (Tab. 12) . 150 Minuten nach Einnahme waren die FAD - Werte bei beiden Kollektiven wieder auf das Ausgangsniveau angestiegen. Dagegen unterschieden sich die Serum-AGE – und Plasma – PAI – 1 - Konzentrationen nicht signifikant zwischen den beiden Kollektiven weder basal noch in ihrem Anstieg 90 und 150 Minuten nach Einnahme des AGE - reichen Getränkes.

Tabelle 12: Arterielle Endothelfunktion (FAD) und Serum-AGE, sowie Plasma-PAI-1 Konzentrationen von Rauchern und Nichtrauchern mit Diabetes mellitus vor sowie 90 und 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes ($\bar{x}$ ± SEM)

Parameter	Raucher (n=20)	Nichtraucher (n=24)	p-Wert
FAD basal	5,35±0,52%	5,54±0,57%	ns
FAD 90 Min.	3,34±0,37%	4,55±0,54%	<0,05
FAD 150 Min.	5,96±0,2%	5,43±0,55 %	ns
Serum-AGE basal	11,84±1,42 U/ml	9,75±1,27 U/ml	ns
Serum-AGE 90 Min.	17,82±2,65 U/ml	13,09±1,68 U/ml	ns
Serum-AGE 150 Min.	23,57±5,27 U/ml	15,16±2,15 U/ml	ns
Plasma-PAI - 1 basal	6,63±3,2 ng/ml	6,47±0,89 ng/ml	ns
Plasma-PAI - 1 90 Min.	10,23±6,4 ng/ml	10,16±1,2 ng/ml	ns
Plasma-PAI - 1 150 Min.	13,5±3,67ng/ml	11,66±1,68 ng/ml	ns

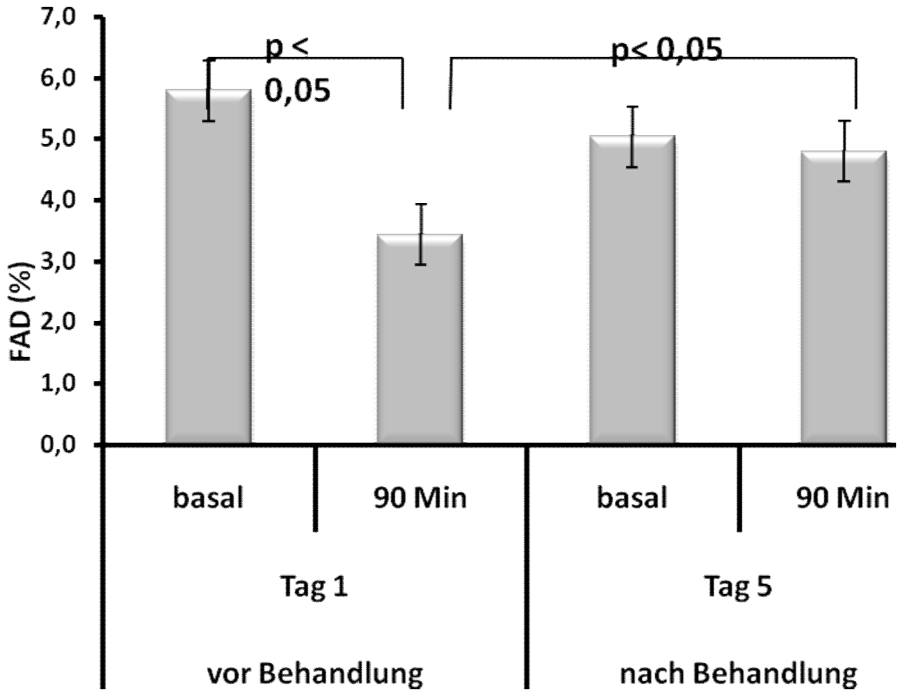
Unterteilt man die Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus nach dem Typ 1 (n=23) und Typ 2 (n=21), ergab sich kein signifikanter Unterschied im Verhalten der FAD-Werte zwischen diesen beiden Kollektiven weder basal noch 90 (mit jeweils durchschnittlich -27%) und 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes. Allerdings zeigte sich, dass Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus Typ 2 signifikant höhere PAI- 1 Ausgangswerte vor Einnahme des AGE-reichen Getränkes hatten im Vergleich zu Typ 1, die aber nach 90 und 150 Minuten nicht mehr signifikant unterschiedlich waren (Tab. 13).

Tabelle 13: Arterielle Endothelfunktion (FAD) und Serum-AGE- sowie Plasma-PAI-1- Konzentrationen von Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 vor sowie 90 und 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes ($\bar{x}$ ± SEM)

Parameter	Diabetes Typ 1 (n=23)	Diabetes Typ 2 (n=21)	p-Wert
FAD basal	5,67±0,61%	5,22±0,45%	ns
FAD 90 Min.	4,16±0,51%	3,83±0,45%	ns
FAD 150 Min.	6,12±1,39%	5,02±1,07%	ns
Serum-AGE basal	12,41±1,38 U/ml	9,11±1,08 U/ml	ns
Serum-AGE 90 Min.	16,00±1,58 U/ml	12,85±1,88 U/ml	ns
Serum-AGE 150 Min.	19,72±1,58U/ml	16,72±3,34 U/ml	ns
Plasma-PAI1 basal	5,23±0,89 ng/ml	10,42±2,59 ng/ml	p<0,05
Plasma-PAI1 90 Min.	8,37±1,71 ng/ml	15,66±7,34 ng/ml	ns
Plasma-PAI1 150 Min.	11,40±1,60 ng/ml	14,15±3,85 ng/ml	ns

Vor der Behandlung nach Protokoll B kam es bei den 11 Studienteilnehmern (9 mit und 2 ohne Diabetes mellitus) 90 Minuten nach Einnahme des AGE - reichen Getränkes zu einem Abfall der FAD um durchschnittlich 40 % von basal 5,79±0,76 % auf 3,44±0,42%(p<0,05) (Abb. 7). Die viertägige Einnahme von Folsäure (50mg/d), Vitamin C (2g/d) und einmalig L-Arginin (9g/d) unmittelbar vor der FAD-Untersuchung (Tag 5) verhinderten die akuten Effekte des AGE-reichen Getränkes auf die FAD bei allen Studienteilnehmern. Der FAD - Wert nach o.g. Behandlung betrug vor Einnahme eines AGE-reichen Getränkes 5,04±0,43 % und 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes 4,80±0,44% (p=ns). 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes war die Differenz der FAD –Werte vor und nach der Behandlung statistisch signifikant (p<0,05).

Abbildung 7: Wirkung des AGE-reichen Getränkes auf die arterielle Endothelfunktion (FAD) von Studienteilnehmern mit und ohne Diabetes mellitus (n=11) vor und nach 4-tägiger Behandlung mit Vitamin C, Folsäure und L- Arginin ($\bar{x}$ ± SEM)



Eine Follow-up Behandlung für 2 bis 6 Wochen nur mit Folsäure in niedrigerer Dosis (10 mg/d) als in Protokoll B (Protokoll B1 und B2) führte ebenfalls zu einer Verhinderung der Akuteffekte des AGE-reichen Getränkes auf die FAD. Nach 2 Wochen Follow-up Behandlung mit Folsäure bei 7 Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus lag der FAD- Wert vor Einnahme des AGE-reichen Getränkes bei 5,91±1,23% und 90 Minuten danach bei 5,68±1,06% (p=ns). Nach 6 Wochen Follow-up Behandlung mit Folsäure bei 5 Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus zeigte sich ein vergleichbarer Effekt. Der FAD-Wert betrug vor Einnahme des AGE-reichen Getränkes 4,60±0,78% und 90 Minuten danach 4,96±0,25 % (p=ns).

Diskussion

In der vorliegenden Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass schon ein einziges AGE-reiches Getränk nach 90 Minuten eine signifikante Verminderung der FAD auslöst (108). Erstmals konnte dabei auch die transiente Natur dieser AGE-Wirkung und deren rasche Reversibilität demonstriert werden, da 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes der FAD-Wert nicht mehr signifikant zum FAD-Wert vor Einnahme des AGE-reichen Getränkes vermindert war. Stirban et al. zeigten in späteren Untersuchungen, dass die Effekte einer AGE-reichen Mahlzeit auf die FAD bis zu sechs Stunden anhalten können (86,109). Ähnliche Beobachtungen wurden nach Einnahme einer zuckerhaltigen und fettsäurehaltigen Mahlzeit publiziert (88, 89, 90). Dass die Effekte eines AGE-reichen Getränkes auf die FAD nach 150 Minuten wieder reversibel waren, könnte an dem Fehlen von Zucker und Fett oder auch an einer anderen AGE- Zusammensetzung in der AGE-reichen Mahlzeit als in dem von uns verwendeten AGE-reichen Getränk liegen. Der Vergleich bei 12 Studienteilnehmer 300 ml Wasser vs. 300 ml AGE-reiches Getränk zeigte, dass ein reiner Flüssigkeitseffekt auf die FAD auszuschließen ist. Somit kann man davon ausgehen, dass die beobachteten Effekte auf die FAD nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes auf dessen Bestandteile zurückzuführen sind.

Dass eine AGE-reiche Ernährung zu einer Erhöhung der zirkulierenden AGE-Spiegel im Serum führt, ist hinreichend untersucht worden (29,32). Erhöhte AGE-Spiegel im Serum korrelierten mit einer Verminderung der FAD (85) und die Bindung von AGEs an RAGE führt zu einer verstärkten Expression von Adhäsionsmolekülen, z.B VCAM -1(95). In vitro Untersuchungen haben gezeigt, dass die AGE - induzierte endotheliale Dysfunktion mit einer Erhöhung der extrazellulären PAI - 1 –Konzentrationen, einem Marker der Angiopathieentwicklung einhergeht (32). In der vorliegenden Studie konnte auch erstmals gezeigt werden, dass bereits ein einzelnes AGE-reiches Getränk zu einer signifikanten Erhöhung der AGE-Konzentration im Serum und PAI – 1 Konzentration im Plasma führt (108).

Bemerkenswerterweise waren die höchsten Serum AGE- und Plasma-PAI 1-Werte erst nach 150 Minuten nachweisbar, während zu diesem Zeitpunkt die nach 90 Minuten signifikant erniedrigte FAD wieder auf ihren Ausgangswert

angestiegen war. Eine zu prüfende Hypothese als Erklärung dafür ist, dass 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes das arterielle Endothel nicht ausreichend Kompensationsmöglichkeiten besitzt, um die bereits beschriebenen Mechanismen zur verminderten Ansprechbarkeit des Endothels auf die Scherkräfte auszugleichen. Dagegen greifen 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes die Kompensationsmechanismen des Endothels trotz weiter steigender Serum AGE- und Plasma PAI 1-Werte. In der Literatur ist zu diesem Phänomen bisher nichts publiziert worden. Daher sind weiterführende Untersuchungen zur Klärung dieser Thematik angezeigt.

Der Raucher- /Nichtraucher -Vergleich zeigt, dass die Verminderung der FAD nach Einnahme eines AGE-reichen Getränkes bei Studienteilnehmern, die rauchen, signifikant deutlicher war. Dieser zusätzliche Raucher-Effekt wird in der Literatur auf vermehrten oxidativen Stress und Verminderung der NO-Bioverfügbarkeit im Bereich des arteriellen Endothels zurückgeführt. Damit im Einklang steht, dass zwischen Rauchern und Nichtrauchern kein signifikanter Unterschied in den Serum-AGE-Werten vor und nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes bestand.

In der vorliegenden Studie konnte dagegen kein signifikanter Unterschied in der Verminderung der FAD bzw. dem Anstieg von Serum- AGE- Werten vor und nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes zwischen Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus Typ 1 und Diabetes mellitus Typ 2 nachgewiesen werden, obwohl signifikante Unterschiede bei Diabetesdauer, Alter und HbA1c vorlagen. Dies deutet daraufhin, dass diese 3 Faktoren keine besondere Relevanz im Kontext postprandialer FAD – Änderungen haben.

Als nichtinvasive Technik bietet die Messung der FAD eine schonende Methode, um Einflüsse auf die arteriellen Gefäße zu untersuchen (58, 59,63,87). Eine eindeutige Datenlage, ab wann ein Nüchternwert der FAD bereits als Schädigung der Gefäße anzusehen ist, liegt aber nicht vor.

Die vorliegenden Daten zeigen, dass die Einnahme des AGE-reichen Getränkes auch bei Stoffwechselgesunden zu vergleichbaren Effekten wie bei Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus führt. Die FAD - Werte vor Einnahme des AGE - reichen Getränkes waren allerdings signifikant höher und die Serum-

AGE Werte signifikant niedriger als bei Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus. Die bei den Stoffwechselgesunden signifikant niedrigeren Serum - AGE Werte könnten erklären, warum die FAD - Werte vor Einnahme des AGE-reichen Getränkes signifikant höher liegen als bei Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus. Menschen mit Diabetes mellitus haben höhere AGE-Levels in der endothelialen Matrix (25, 75) mit der Konsequenz erniedrigter basaler FAD - Werte, dies könnte zu einer Verminderung der NO - Bioverfügbarkeit im Endothel bereits vor Einnahme des AGE-reichen Getränkes führen analog zu Ergebnissen bei experimentellen Diabetes-Modellen (25). Ähnliche Beobachtungen wurden nach Abschluss der vorliegenden Untersuchungen auch von der Arbeitsgruppe Vlassara bei Stoffwechselgesunden gemacht, die vermehrt AGE-reiche Nahrung zu sich nahmen (95).

Es ist allerdings bisher schwierig, AGE-reiche Nahrungsprodukte in der alltäglichen Ernährung zu vermeiden, da AGEs in zahlreichen Nahrungsprodukten angereichert vorkommen. Verschiedene Studien haben verdeutlicht, dass eine AGE-arme Ernährung ein präventiver Ansatz zur Risikoreduzierung einer ED ist (77, 86). Die unterschiedliche Zubereitung (Kochhitze, -dauer, braten oder dünsten) einer identischen Mahlzeit führt zu einem unterschiedlichen AGE-Gehalt (109, 110). Die Mahlzeit mit dem höheren AGE-Gehalt hatte stärkere Wirkungen und verlängerte akute Effekte auf die FAD und auf die Marker des oxidativen Stress als die Mahlzeit mit dem niedrigeren AGE-Gehalt (109, 110). Als eine weitere präventive Möglichkeit wird die Supplementierung von Antioxidantien diskutiert (14). Die vorliegende Studie hat ergeben, dass bereits eine viertägige Vorbehandlung mit Vitamin C, Folsäure und L-Arginin die akuten Effekte auf die FAD, die durch Einnahme des AGE-reichen Getränkes entstanden waren, wieder ausgleichen kann. Die tägliche Dosierung von 2 g Vitamin C, 50 mg Folsäure und 9g L-Arginin war allerdings deutlich höher als in üblichen Diäten. Aber auch die Follow-up Behandlung allein mit niedrig dosierter Folsäure (10mg/d) über 2 Wochen bei Studienteilnehmern mit und ohne Diabetes mellitus verhinderte ebenfalls die akute Wirkung des AGE-reichen Getränkes auf die FAD 90 Minuten nach Einnahme.

Es war nicht Ziel dieser Studie zu klären, wie diese Vorbehandlung auf die FAD gewirkt hat. Aus der Literatur bieten sich folgende Erklärungen an: Vitamin C verhindert, dass Tetrahydrobiopterin zu Dihydrobiopterin reduziert wird, einem Cofaktor der NO - Synthase, und erhöht somit die Bioverfügbarkeit von NO (34). L-Arginin ist ein Substrat des NOs, erhöht dadurch die Bioverfügbarkeit und hat zusätzlich eine antioxidative Eigenschaft (35). Folsäure kann die Plasmaspiegel von Homocystein, einem unabhängigen Risikofaktor für Atherosklerose, senken, indem es das Homocystein zu Methionin reduziert (35). Die Wirksamkeit von Vitamin C und Folsäure auf die ED wird kontrovers diskutiert. In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass Vitamin C, Folsäure und L-Arginin eine Verbesserung der ED unabhängig von einer Diät herbeiführen können(40,41). Andere Studien dagegen verdeutlichen, dass Vitamin C (96) und Folsäure (97, 98, 99,100) keinen längerfristigen präventiven Effekt auf die Verbesserung der ED haben. Die positive Wirkung von L-Arginin auf die ED konnte schon mit einer Dosierung von 4-5g/d gezeigt werden (101, 102,103).

Als ein medikamentöser Ansatz zur Verhinderung der Nahrungs-AGE Wirkung wird auch Benfotiamin diskutiert. Stirban et al. konnten zeigen, dass die Effekte (Verminderung der FAD, Anstieg der Serummarker für oxidativen Stress und ED), die durch ein AGE-reiches Testessen bei Menschen mit Diabetes Typ 2 ausgelöst wurden, durch eine Therapie mit Benfotiamin (1050 mg/d) über 3 Tage verhindert werden (86).

Die vorliegende Studie belegt erstmals, dass bereits bei Menschen mit als auch ohne Diabetes mellitus eine einzelne orale Aufnahme einer AGE-reichen Nahrung eine transiente reversible arterielle Gefäßdysfunktion verursachen kann (108). Dies könnte z.B. bei einer koronaren Herzerkrankung zur postprandialen Präzipitation akuter ischämischer Ereignisse beitragen. Eine chronische erhöhte Zufuhr von Nahrungs-AGE könnte außerdem zu einer chronischen ED führen. Dazu sind weitere Studien notwendig, die die Langzeit - Wirkung der Nahrungs-AGEs auf die ED untersuchen. Für Menschen mit Diabetes mellitus, die in deutlich erhöhten Maße von den Folgen ischämischer Ereignisse betroffen sind, könnte die Kombination akuter und chronischer Wirkungen von AGE-reicher Nahrung besonders deletär sein. Daher ist der

Nachweis einer möglichen Wirkungshemmung von AGE-reicher Nahrung auf die arterielle Endothelfunktion durch einzelne Nahrungsbestandteile oder Medikamente von grundsätzlicher Bedeutung für diesbezügliche zukünftige Therapiestudien.

Zusammenfassung

Einleitung und Fragestellung: Endogen gebildete oder mit der Nahrung aufgenommene Advanced Glycation Endproducts (AGE) sind potentiell atherogen wirksam. Da bei der Makroangiopathie-Entwicklung Funktionsstörungen des arteriellen Endothels einen wesentlichen Wirkmechanismus bilden und da bislang keine in vivo Daten zur akuten Wirkung von Nahrungs-AGE auf das funktionelle Endothelverhalten bei Menschen vorlagen, wurde bei Menschen ohne und mit Diabetes mellitus Typ 1 oder Typ 2 untersucht, ob die Einmalgabe eines AGE- reichen Getränkes eine Beeinträchtigung der arteriellen Endothelfunktion (ED) bewirkt, ob die orale Aufnahme eines AGE- reichen Getränkes zu einer Konzentrationserhöhung im Blut von AGE sowie von Parametern führt, die mit einer ED einhergehen, wie PAI-1 und VCAM1, und ob diesbezüglich Unterschiede bestehen zwischen den Studienkollektiven sowie zwischen Rauchern und Nichtrauchern. Des weiteren wurde untersucht, ob sich eine akute Beeinträchtigung der arteriellen Endothelfunktion durch ein AGE-reiches Getränk mit der Einnahme von Substanzen, die auf den endothelialen Stickstoffmonoxid-Stoffwechsel wirken, z.B. Vitamin C, L-Arginin oder Folsäure, verhindern lässt ?

Methodik: Als Parameter der Endothelfunktion wurden die mittels Ultraschall gemessene Flussabhängige Dilatation (FAD) der A. brachialis sowie die Serum-AGE-, Plasma-PAI-1- und Serum-VCAM -1-Spiegel erfasst. Die FAD wurde als prozentuale, postischämische Dilatation der Arterie bezogen auf den Ausgangswert ermittelt. Die FAD und die Blutspiegel der AGE-, PAI-1- und VCAM-1-Werte wurden morgens nüchtern vor sowie 90 und 150 Min. nach Einnahme eines AGE-reichen Getränkes (300 ml mit 1.8 Millionen AGE-Einheiten und 4.2µMol Methylglyoxal-Derivate, jedoch ohne Kohlenhydrate oder Lipide) untersucht (Studiendesign Protokoll A). Um einen Flüssigkeitseffekt auszuschließen, wurde an einem anderen Tag die FAD vor sowie 90 und 150 Min. nach Einnahme von 300 ml Leitungswasser bei 12 Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus untersucht.

Untersucht wurden 44 Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus (Typ 1/2: 22/22; m/w: 36/8; Alter 50.73±1,83 Jahre; Diabetesdauer: 15.55±1,64 Jahre, HbA1c:

8.56±0,31 %, Nüchtern-Blutglukose: 157±16 mg/dl; Raucher/Nichtraucher: 20/24) und 10 Studienteilnehmer ohne Diabetes mellitus (Alter 43±4 Jahre; m/w 5/5; Nüchtern-Blutglukose: 100±7 mg/dl).

Zur Untersuchung der Anti-AGE- Effekte auf die arterielle Endothelfunktion von Substanzen, die auf den endothelialen Stickstoffmonoxid -Stoffwechsel wirken, wurden Vitamin C (2 g/d) und Folsäure (50 mg/d) oral bei 11 Studienteilnehmern mit und ohne Diabetes mellitus aus Protokoll A über einen Zeitraum von 4 Tagen verabreicht (Protokoll B). Am 5. Tag wurde dem AGE-reichen Getränk noch 9g L-Arginin 60 Min vor der oralen Aufnahme zugefügt, und eine Stunde später wurde das o.g. FAD-Messprotokoll wiederholt Anschließend folgte eine Follow-up Behandlung von 14 Tagen (Protokoll B1, n=7) und weitere 29 Tage (Protokoll B2, n=5) mit Folsäure (10 mg/d). Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt als Mittelwert±SEM. Die statistische Prüfung auf Gruppenunterschiede erfolgte durch den zweiseitigen t-Test für unabhängige Stichproben (Signifikanzgrenze: $p<0,05$) unter Verwendung des Statistikprogramms SPSS 11,5.

Ergebnisse: Die Einnahme des AGE-reichen Getränkes (Protokoll A) führte nach 90 Minuten zu einer signifikanten Verringerung der FAD im Vergleich zum Basalwert um durchschnittlich -26% sowohl bei den Studienteilnehmern ohne als auch mit Diabetes mellitus. 150 Minuten nach Einnahme des AGE –reichen Getränkes hatte sich der zwischenzeitlich erniedrigte FAD –Wert wieder auf das Ausgangsniveau bei beiden Studienkollektiven erhöht.

Bei den Studienteilnehmern ohne Diabetes mellitus wurde die basale FAD 90 Minuten nach Einnahme des AGE - reichen Getränkes von 9.9 ± 0,7% auf 7,4 ± 0,9% gesenkt ($p=0,019$) und stieg 150 Minuten nach Einnahme wieder auf 9,58 ± 0,68% (p=ns vs. basal) an. Im Vergleich dazu war bei den Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus die basale FAD um durchschnittlich 45% erniedrigt ($p< 0,05$). Deren basale FAD wurde 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes von 5.45±0,4 % auf 4.00±0,34% gesenkt ($p<0.001$) und stieg 150 Min nach Einnahme wieder auf 5.58±0,45% (p=ns vs. basal) an. Ein unspezifischer Volumeneffekt des AGE- reichen Getränkes konnte ausgeschlossen werden.

Die Einnahme des AGE-reichen Getränkes führte bei beiden Studienkollektiven im Vergleich zum Basalwert nach 90 und 150 Minuten zu einem signifikanten Anstieg der Serum-AGE- und der Plasma-PAI-1 –Konzentrationen bei unveränderten Blutglukosespiegeln. Die Serum-AGE Konzentrationen waren dabei zu allen Zeitpunkten bei allen Studienteilnehmern mit Diabetes signifikant höher (im Mittel um 31%-53%) als bei denen ohne Diabetes. Die Unterteilung der Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus nach Typ1 und Typ 2 ergab keine relevanten Unterschiede der unter den oben genannten Bedingungen gemessenen Parameter. Dagegen war bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern der FAD- Abfall 90 Minuten nach Einnahme des AGE- reichen Getränkes um mehr als das Doppelte stärker ausgeprägt. Die akute Beeinträchtigung der arteriellen Endothelfunktion durch das AGE- reiche Getränk konnte durch die Einnahme von Substanzen gemäß Protokoll B, B1 und B2, die auf den endothelialen Stickstoffmonoxid–Stoffwechsel wirken, vollständig verhindert werden.

Diskussion und Schlussfolgerung: Die vorliegende Studie belegt erstmals, dass bei Menschen mit als auch ohne Diabetes mellitus bereits eine einzelne orale Aufnahme einer AGE-reichen Nahrung eine transiente reversible arterielle Gefäßdysfunktion verursachen kann. Dies könnte z.B. bei einer koronaren Herzerkrankung zur postprandialen Präzipitation akuter ischämischer Ereignisse beitragen. Eine chronische erhöhte Zufuhr von Nahrungs-AGE könnte außerdem zu einer chronischen ED führen. Dazu sind weitere Studien notwendig, die die Langzeit - Wirkung der Nahrungs-AGEs auf die ED untersuchen. Für Menschen mit Diabetes mellitus, die in deutlich erhöhtem Maße von den Folgen ischämischer Ereignisse betroffen sind, könnte die Kombination akuter und chronischer Wirkungen von AGE-reicher Nahrung besonders deletär sein. Daher ist der Nachweis einer möglichen Wirkungshemmung von AGE-reicher Nahrung auf die arterielle Endothelfunktion durch einzelne Nahrungsbestandteile oder Medikamente von grundsätzlicher Bedeutung für diesbezügliche zukünftige Therapiestudien.

Literatur

1. Silander K, Mohlke KL, Scott LJ, Peck EC, Hollstein P, Skol AD, Jackson AU, Deloukas P, Hunt S, Stavrides S, Chines PS, Erdos MR, Narisu N, Conneely KN, Li C, Fingerlin TE, Dhanjal SK, Valle TT, Bergmann RN, Tuomilehto J, Watanabe RM, Boehnke M, Collin FS: Genetic Variation Near the Hepatocyte Nuclear Factor-4α Gene Predicts Susceptibility to Type 2 Diabetes. *Diabetes 53:1141-1149, 2004*

2. Bowden DW , Sale M , Howard TD, Qadri A , Spray BJ , Rothschild CB , Akots G , Rich SS, Freedman BI: Linkage of genetic markers on human chromosomes 20 and 12 to NIDDM in Caucasian sib pairs with a history of diabetic nephropathy. *Diabetes 46 :882 –886, 1997*

3. Goran MI, Geoff D. Ball C , Cruz ML: Obesity and Risk of Type 2 Diabetes and Cardiovascular Disease in Children and Adolescents. *J Clin Endocrinol Metab 88: 1417- 1427, 2003*

4. Lefebreve PJ, Scheen AJ: The postprandial state and risk of cardiovascular disease *Diabet Med 15: 63-68, 1998*

5. Haller H: Postprandial Glucose and Vascular Disease. *Diabet Med 14:50-56, 1997*

6. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, Lermann A, Mancia G, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Schiffrin EL, Taddei S, Webb DJ: Endothelial function and dysfunction. Methodological issues for assessment in the different vascular beds:a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens 23: 7-17, 2005*

7. Hayden MR, Tyagi SC: Isolated low high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C): implications of global risk reduction. Case report and systematic scientific review *Cardiovasc Diabetol. 4: 1:1, 2005*

8. Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, Quagliaro L, Piconi L, Bais B, da Ros R, Motz E: Evidence for an Independent and Cumulative Effect of Postprandial Hypertriglyceridemia and Hyperglycemia on Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress Generation; Effects of Short and Long-Term Simvastatin Treatment. *Circulation 106:1211-1218, 2002*

9. Mangoni AA,, Sherwoodd RA, Swift CG, Jachson SH: Folic acid enhances endothelial function and reduces blood pressure in smokers: a randomized controlled trial. *J Intern Med 252: 497-503, 2002*

10. Bush DE, Jones CE, Bass KM, Walters GK, Bruza JM, Ouyang P: Estrogen replacement reverses endothelial dysfunction in postmenopausal women. *Am J Med 104: 552- 558, 1998*

11. McVeig GE, Brennan, Johnston GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR, Andrews JW, Hayes JR: Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia 35:771-776 , 1992*

12. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Loyd JK, Deafield JE: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosklerosis. *Lancet 340: 1111-1115, 1992*

13. Kelm M, Strauer BE: Endotheliale Dysfunktion, Therapeutische und prognostische Relevanz. *Internist 40:1300-1307, 1999*

14. Kay CD, Holub BJ: The postprandial effects of dietary antioxidants in humans. *Curr Atheroscler Rep 5:452-458, 2003*

15. Tomiyama H, Kimura Y, Mitsuhashi H, Kinouchi T, Yoshida H, Kushiro T, Doba N: Relationship Between Endothelial Function and Fibrinolysis in Early Hypertension. *Hypertension 19, 321-327, 1998*

16. Ling L, Zhao SP, Gao M, Zhou QC, Li YL, Xia B: Vitamin C preserves endothelial function in patients with coronary heart disease after a high-fat meal. *Clin Cardiol 25:219-24, 2002*

17. Hanratty CG, McGrath LT, McAuley DF, Young IS, Johnston DG: The effect on endothelial function of vitamin C during methionine induced hyperhomocysteinaemia. *BMC Cardiovasc Disord 1:1-8, 2001* ,

18. Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, Skatchkov M, Thaiss F, Stahl RA, Warnholtz A, Meinertz T, Griendling K, Harrison DG, Forstermann U, Munzel T: Mechanisms Underlying Endothelial Dysfunction in Diabetes Mellitus. *Circ Res 88: 14-22, 2002*

19. Baron AD: Hemodynamic actions of insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab 267: 187-202, 1994*

20. Bierhaus A, Hoffmann MA, Ziegler R, Nawroth P: AGEs and their interaction with AGE-Rezeptor in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE-Concept. *Cardiovasc Res 37: 586-600, 1997*

21. Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD: Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest 943:1172-9, 1994*

22. Schiekofer S, Andrassy M, Chen J, Rudofsky G, Schneider J, Wendt T, Stefan N, Humpert P, Fritsche A, Stumvoll M, Schleicher E, Häring HU, Nawroth PP, Bierhaus A : Acute Hyperglycemia Causes Intracellular Formation of CML and activation of ras, kp42/44 MAPK, And Nuclear Factor κB in PBMCs. *Diabetes 52, 621-633, 2003*

23. Aronson D and Rayfield EJ: How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanismus.! *Cardiovasc Diabetol 1: 1-10, 2002*

24. Ahmed N: Advanced glycation endproducts--role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract 67: 3-21, 2005*

25. Bucala R, Tracey KJ, Cerami A: Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium dependent vasodilation in experimental diabetes. *J Clin Invest 87: 432-438, 1991*

26. Beisswenger PJ, Howell SK, O'Dell RM, Wood ME, Touchette AD, Szwergold BS : a-Dicarbonyls Increase in the Postprandial Period and Reflect the Degree of Hyperglycemia. *Diabetes Care 24:726–732, 2001*

27. American Diabetes Association: Postprandial blood glucose, *Diabetes Care 24: 775-778, 2001*

28. Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, Heitmann K, Vlassara H : Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): An environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA, 94: 6474-6479, 1997*

29. Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, Hori O, Moss RA, Schmidt AM*:* Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J Biol Chem 272: 17810-4 , 1997.*

30. Neumann A, Schinzel R, Palm D, Riederer P: High molecular weight hyaluronic acid inhibits advanced glycation endproduct-induced NF-kappaB activation and cytokine expression. *FEBS Lett 453: 283-287, 1999*

31. Yan SD Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, Pinsky D, Stern D*:* Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem 269: 9889-9897 ,1994*

32. Vlassara H, Cai W, Crandall J, Goldberg T, Oberstein R, Dardaine V, Peppa M, Rayfield EJ : Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy. *Proc Natl Acad Sci USA 99:15596-601, 2002*

33. Wolfenbuttel BH, Boulanger CM, Crijns FR, Huijberts MS, Poitevin P, Swennen GN, Vasan S, Egan JJ, Ulrich P, Cerami A, Lévy BI: Breakers of advanced glycation end products restore large artery properties in experimental diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA 95: 4630-4634, 1998*

34. van Etten RW, de Koning EJ, Verhaar MC, Gaillard CA, Rabelink TJ: Impaired NO-depend vasodilation in patients with Type II (non-insulin-dependent) diabetes is restored by acute administration of folate. *Diabetologia 45:1004-1010, 2002*

35. Hinderliter AL, Caughey M: Assessing Endothelial Function: A Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Curr Atheroscler Rep 5: 506-513, 2003*

36. Tan KC, Chow WS, Ai VH, Metz C, Bucala R, Lam KS: Advanced Glycation End Products and Endothelial Dysfunction in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care 25:1055-59, 2002*

37. Katz J, Caudle RM, Bhattacharyya I, Steward CM, Cohen DM: Receptor for advanced glycation end procucts (RAGE) upregulation in human gingival fibroblasts incubated with nornicotine. *J Peridonto 76: 1171-1174, 2005*

38. Kilhovd BK, Berg TJ, Birkeland KI, Thorsby P, Hanssen KF: Serum levels of advanced glycation end products are increased in patients with type 2 diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Care 22: 1543-1548, 1999*

39. Machado AP, Pinto RS, Moyses ZP, Nakandakare ER, Quintao EC, Passarelli M: Aminoguanidine and metformin prevent the reduced rate of HDL-mediated cell cholesterol efflux induced by formation of advanced glycation end products. *Int J Biochem Cell Biolog 38: 392-403, 2006*

40. Ling L, Zhao SP, Gao M, Zhou QC, Li YL, Xia B: Vitamin C preserves endothelial function in patients with coronary heart disease after a high-fat meal. *Clin Cardiol 25:219-24, 2002*

41. Hammes HP, Du X, Edelstein D, Taguchi T, Matsumura T, Ju Q, Lin J, Bierhaus A, Nawroth P, Hannak D, Neumaier M, Bergfeld R, Giardino I, Brownlee M: Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. *Nat Med 3:294-9,2003*

42. Karachalias N, Babaei-Jadidi R, Kupich C, Ahmed N, Thornalley PJ: High-dose thiamine therapy counters dyslipidemia and advanced glycation of plasma protein in streptozotocin-induced diabetic rats. *Ann N Y Acad Sci 1043:777-83, 2005*

43. Giles WH, Kittner SJ, Anda RF, Croft JB, Casper ML: Serum folate and risk for ischemic stroke: First National Health and Nutrition Examination Survey epidemiologic follow-up study*. Stroke 26:1166–1170, 1995*

44. Morrison HI, Schaubel D, Desmeules M, Wigle DT: Serum folate and risk of fatal coronary heart disease. *JAMA 275:1893–1896, 1996*

45. Verhaar MC, Wever MF, Kastelein JP, Douwe van Loon, Milstien S, Koomans HA, Rabelink TJ: Effects of oral folic acid supplemenatation on endothelial function in familial hypercholesterolemia. *Circulation 100: 335-338, 1999*

46. Gori T, Burstein JM, Ahmed S, Miner ES, Al-Heysayen, Kelly S, Parker JD: Folic acid prevents nitroglycerin-induced nitric oxide synthase dysfunction and nitrate tolerance. *Circulation 104:1119-1123, 2001*

47. Verhaar MC, Wever RMF, Kastelein JJP, van Dam T, Koomans HA, Rabelink TJ: 5 Methyltetrahydrofolate, the active form of folic acid, improves endothelial function in familial hypercholesterolemia. Circulation. *97:237–241, 1998*

48. Heitzer T, Just H, Munzel T: Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation 94: 6-9, 1996*

49. Hornig B, Arakawa N, Kohler C, Drexler H: Vitamin C improves endothelial function of conduit arteries in patients with chronic heart failure. *Circulation 97: 363-8, 1998*

50. Hamabe A, Takase B, Uehata A, Kurita A, Ohsuzu F, Tamai S: Impaired endothelial-dependent vasodilation in the brachial artery in variant angina pectoris and the effect of intravenous administration of vitamin C. *Am J Cardiol 87:1154-9, 2001*

51. Darko D, Dornhorst A, Kelly FJ, Ritter JM, Chowienczyk PJ: Lack of effect of oral vitamin C on blood pressure, oxidative stress and endothelial function in Type II diabetes. *Clin Sci (Lon) 103:339-344, 2002*

52. Quyyumi AA: Does acute improvement of endothelial dysfunction in coronary artery disease improve myocardial ischemia? A double-blind comparison of parenteral D- and L-arginine. *Am Coll Cardiol 32: 904-11, 1998*

53. Maxwell AJ, Anderson B, Zapien MP, Cooke JP: Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is reversed by nutritional product designed to enhance nitric oxide activity. *Cardiovasc Drugs Ther 14: 309-16, 2002*

54. Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, Donald AE, McCredie R, Robinson J, McCarthy SN, Keech A, Celermajer DS, Deanfield JE: Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest 97: 1989-94, 1996*

55. Lerman A, Burnett JC, Higano ST, McKinley LJ, Holmes DR: Long-term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation 97:2123-8, 1998*

56. Panzram G: Mortality and survival in Type II (noninsulin - dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia 30: 123-31, 1987*

57. Raman M, Nesto RW: Heart disease in diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am 25: 425-38, 1996*

58. Berry KL, Skyrme-Jones RA, Meredith IT : Occlusion cuff position is an important determinant of the time course and magnitude of human brachial artery flow-mediated dilation. *Clinical Science 99, 261-67, 2000*

59. Wendelhag I, Gustavsson T, Suurkula M, Berglund G, Wikstrand J: Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analyzing system. Clin *Physiol 11: 565-577, 1991*

60. Campisi-R, Czernin J, Schröder H, Sayre JW, Schelbert HR: L-arginine normalizes coronary vasomotion in long-term smokers. *Circulation 99: 491-7, 1999*

61. Bellamy MF, Goodfellow J, Tweddel AC, Dunstan FD, Lewis MJ, Henderson AH: Syndrome X and endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res 40: 410-7, 1998*

62. Piatti PM, Monti LD, Valsecchi , Magni F, Setola E, Marchesi F, Galli-Kienle M, Pozza G, Alberti MM: Long-term oral L-argine administration improves peripheral and hepatic insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care 24 : 875-80, 2001*

63. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, Deanfield JE:Non-invasive measurement of human endothelium dependen arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J 74: 247-253, 1995*

64. Lawrence M, Peter M. Cummings, Karen Giddens, Bassam A. Nassar: Oral Glucose Loading Acutely Attenuates Endothelium-Dependent Vasodilation in Healthy Adults without Diabetes: An effect Prevented by Vitamin C and E. *J Am Coll Cardiol 36: 2185-2191, 2000*

65. Bosch J, Lonn E, Pogue J, Arnold JM, Dagenais GR, Yusuf S: HOPE/HOPE-TOO Study Investigators. Long-term effects of ramipril on cardiovascular events and on diabetes: results of the HOPE study extension. *Circulation 30: 1339-1346, 2005*

66. Halcox JP, Schenke WH, Zalos G, Mincemoyer R, Prasad A, Waclawiw MA, Nour KR, Quyyumi AA: Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation 106:653-658, 2002*

67. Robinson SD, Ludlam CA, Boon NA, Newby DE: Phosphodiesterase type 5 inhibition does not reverse endothelial dysfunction in patients with coronary heart disease. *Heart 92: 170-176, 2006*

68. Karnafel W, Juskowa J, Maniewski R, Liebert A, Jasik M, Zbiec A: Microcirculation in the diabetic foot as measured by a multichannel laser Doppler instrument. *Med Sci Monit 8: 137-144, 2002*

69. International Diabetes Federation: Diabetes epidemic out of control, Diabetes Atlas, 3. Edition, *2006*

70. Tousoulis D, Charakida M, Stefanadis C: Endothelial function and inflammation in coronary artery disease. *Heart 10: 441-444, 2005*

71. Poredos P: Endothelial dysfunction in the pathogenesis of atherosclerosis. *Int Angiol 21: 109-116, 2002*

72. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, Sampson M, Sorensen KE, Adams M, Yue DK, Betteridge DJ, Deanfield JE: Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Am Coll Cardiol 28: 573-579, 1996*

73. Stirban A, Negrean M. Endotheldysfunktion: Verbindung von Insulinresistenz, Diabetes und Atherosklerose? *Diabetes, Stoffwechsel und Herz* 2: 41-52, 2006.

74. Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, Quagliaro L, Piconi L, Bais B, da Ross R, Motz E: Evidence for an independent and cumulative effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on endothelial dysfunction and oxidative stress generation: effects of short- and long-term simvastatin treatment. *Circulation 106: 1211-1218, 2002*.

75. Huebschmanyn AG, Regensteiner JG, Vlassara H, Reusch JE: Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes Care 29: 1420-1432*, 2006

76. Januszewski AS, Alderson NL, Jenkins AJ, Thorpe SR, Baynes JW: Chemical modification of proteins during peroxidation of phospholipids. *J Lipid Res 46: 1440-1449, 2005*

77. Goldberg T, Cai W, Peppa M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J, Vlassara H: Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc 104:1287-1291, 2004*

78. Forster A, Kuhne Y, Henle T. Studies on absorption and elimination of dietary maillard reaction products. *Ann N Y Acad Sci 1043: 474-481, 2005*

79. Foerster A, Henle T: Glycation in food and metabolic transit of dietary AGEs (advanced glycation end-products): studies on the urinary excretion of pyrraline. *Biochem Soc Trans 31: 1383-1385, 2003*

80. Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, Stern DM, Nawroth P: Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. J Mol Med 83:876-886, 2005

81. Vlassara H: Advanced glycation in health and disease: role of the modern environment. *Ann N Y Acad Sci 1043:452-460, 2005*

82. Ahmed N, Thornalley PJ: Advanced glycation endproducts: what is their relevance to diabetic complications? *Diabetes Obes Metab 9: 233-245, 2007*

83. Peppa M, Uribarri J, Vlassara H: The role of advanced glycation end products in the development of atherosclerosis*. Curr Diab Rep 4: 31-36, 2004*

84. Takeuchi M, Kikuchi S, Sasaki N, Suzuki T, Watai T, Iwaki M: Involvement of advanced glycation end-products (AGEs) in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res 1: 39-46, 2004.*

85. Tan KC, Chow WS, Ai VH, Metz C, Bucala R, Lam KS: Advanced glycation end products and endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care 25:1055-1059, 2002*

86. Stirban A, Negrean M, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Götting C, Kleesiek K, Mueller-Roesel M, Koschinsky T, Uribarri J, Vlassara H, Tschoepe D: Benfotiamine Prevents Macro- and Microvascular Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress Following a Meal Rich in Advanced Glycation End Products in Individuals With Type 2. *Diabetes Care 29:2064-2071, 2006*

87. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ: Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of the Brachial Artery. *J Am Coll Cardiol 39: 257–65, 2002*

88. Kawano H, Motoyama T, Hitashima O, Hirai N, Miyao Y, Skamoto T, Kugiyama K, Ogawa H, Yasue H: Hyperglycemia rapidly suppresses flowmediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol 34:146-154, 1999*

89. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD: Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol 79:350-354, 1997*

90. Anderson RA, Evans ML, Ellis GR, Graham J, Morris K, Jackson SK Lewis MJ, Rees A, Frenneaux MP: The relationships between postprandial lipaemic, endothelial function and oxidative stress in healthy individuals and patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis 154: 475-483, 2001*

91. Cai W, Cao Q, Zhu L, Peppa M, He CJ, Vlassara H: Oxidative stressinducing carbonyl compounds from common foods: Novel mediators of cellular dysfunction. *Mol Med 8:337-46, 2002*

92. Makita Z, Vlassara H, Cerami A, Bucala R: Immunochemical detection of advanced glycosylation end products in vivo. J *Biol Chem 267:5133-8*, 1992

93. Oya T, Hattori N, Mizuno Y, Miyata S, Maeda S, Osawa T, Uchida K: Methylglyoxal modification of protein. Chemical and immunochemical characterization of methylglyoxal-arginine adducts. *J Biol Chem 274:18492-502, 1999*

94. Cai W, He JC, Zhu L, Peppa M, Lu C, Uribarri J, Vlassara H: High levels of dietary advanced glycation end products transform low-density lipoprotein into a potent redox-sensitive mitogen-activated protein kinase stimulant in diabetic patients. *Circulation 110:285-91, 2004*

95. Uribarri J, Cai W, Peppa M, Goodman S, Ferrucci L, Striker G, Vlassara H: Circulating glycotoxins and dietary AGEs; two links to inflammatory response, oxidative stress and aging*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 62: 427-433, 2007*

96. Cook NR, Albert CM, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E, Buring JE, Manson JE: Randomized Factorial Trial of Vitamins C and E and Beta Carotene in the Secondary Prevention of Cardiovascular Events in Women: Results From the Women's Antioxidant Cardiovascular Study. *Arch Intern Med 167:1610-1618, 2007*

97. Albert CM, Cook NR, Gaziano JM: Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial. *JAMA* 299:2027-2036, 2008

98. Lonn E. Homocysteine-lowering B vitamin therapy in cardiovascular prevention — Wrong again? *JAMA* 299:2086-2087, 2008

99. Bazzano LA, Reynolds K, Holder KN, He J: Effect of Folic Acid Supplementation on Risk of Cardiovascular Diseases A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *JAMA 296:2720-2726, 2006*

100. Kerr M: Folic Acid Doesn't Prevent Heart Diseases Meta-analysis: No secondary prevention of cardiovascular disease with folic acid supplementation *DOC News 4*: 1-9, 2007

101. Dhawan V, Handu SS, Nain CK, Ganguly NK: Chronic L-arginine supplementation improves endothelial cell vasoactive functions in hypercholesterolemic and atherosclerotic monkeys. *Mol Cell Biochem 269: 1-11, 2005*

102. Böger RH, Ron ES: L-Arginine Improves Vascular Function by Overcoming the Deleterious Effects of ADMA, a Novel Cardiovascular Risk Factor. *Altern Med Rev 10: 14-23, 2005.*

103. Böhm U: L-Arginin mit Folsäure – ein innovatives Therapieregime bei kardio-vaskulären Krankheiten und erektiler Dysfunktion. *Ärztezeitschrift für Naturheil-verfahren 49: 438-442, 2005.*

104. Rheng F, He C, Cai W, Hattori M, Steffes M, Vlassara H: Prevention of diabetic nephropathy in mice by a diet low in glycoxidation products. *Diabetes Metab Res Rev 18: 224-237, 2002*

105. Cerami C, Found H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giordano D, Vanpattern S, Lee A, Al Abed Y, Vlassara H, Bucala R, Cerami A: Tobacco smoke is a source if toxic reactive glycation products. *Proc Natl Acad Sci USA 94:13915-13920, 1997*

106. Stirban A, Laude D, Elghozi JL, Sander D, Agelink MW, Hilz MJ, Ziegler D: Acute effects of sildenafil on flow mediated dilatation and cardiovascular autonomic nerve function in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab Res Rev 25: 136-143, 2009*

107. Kerner W, Brückel J: Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Diabetologie 3: 131-133, 2008*

108. Uribarri J, Stirban A, Sander D, Cai W, Negrean M, Buenting C. E, Koschinsky T, Vlassara H: Single Oral Challenge by Advanced Glycation End Products Acutely Impairs Endothelial Function in Diabetic and Nondiabetic Subjects. *Diabetes Care 30: 2579 – 2582, 2007*

109. Negrean M, Stirban A, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Götting C, Kleesiek K, Mueller-Roesel M, Koschinsky T, Uribarri J, Vlassara H, Tschoepe D: Effects of low- and high-advanced glycation endproduct meals on macro- and microvascular endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr 85: 1236-43, 2007*

110. Stirban A, Negrean M, Stratmann B,Götting C, Salomon J, Kleesiek K, Tschoepe D: Adiponectin decreases postprandially following a heat-processed meal in individuals with type 2 diabetes: an effect prevented by benfotiamine and cooking method. *Diabetes Care 30: 2514–6, 2007*

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Prof. Dr. med. Koschinsky für die Ermöglichung dieser Arbeit. Insbesondere bedanke ich mich für die persönliche und geduldige Betreuung und das Engagement während der gesamten Arbeit.

Ich bedanke mich bei der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. med. H. Vlassara aus New York, USA, für die Messung der Serum-AGE - und VCAIM-1-Spiegel.

Vor allem bedanke ich mich bei Herrn Dr. med. Stirban für das Unterrichten in der Messung der FAD, sowie für die hervorragende Unterstützung während meiner Dissertation. Danke, dass Du meine Fragen immer geduldig beantwortet hast.

Besonders bedanke ich mich Frau R. Rütter , U. Poschen, C. Buenting und Frau E. Moll für die Unterstützung während der Durchführung meiner Studien, für die tollen Gespräche und natürlich den Kaffee, ohne den ich keine Untersuchung hätte machen können.

Mein Dank gilt auch meinem Studienteilnehmer ohne die die Durchführung dieser Studie nicht möglich gewesen wäre.

Ich widme diese Arbeit meinem Mann Markus Bastian, der mich während meines gesamten Studiums liebevoll unterstützt hat. Danke dass Du immer für mich da warst, mich aufgebaut hast, meine Launen ertragen hast und Dich um alles gekümmert hast, wofür ich in Prüfungszeiten keine Geduld hatte.

The best and beautiful things in the world cannot be seen or even touched.

They must be felt with the heart.

Diese Arbeit ist auch den Menschen gewidmet, die immer an mich geglaubt haben, für mich da waren und sehr viel dazu beigetragen haben, dass ich mein Ziel erreicht habe.

Meinen Eltern Christel und Wilfried Sander

Meiner Tanti Adelheid und Onkel Siegfried Wichmann

Lebenslauf

Denise Bastian geb. Sander

Geburtsdatum	09.08.1977
Geburtsort	Düsseldorf
Familienstand	verheiratet mit Markus Bastian, IT System Engineer
Nationalität	deutsch
Konfession	evangelisch
Eltern	Christel Sander geb. Jöckel, Betriebswirtin
	Wilfried Sander, Polizeibeamter

Schullaufbahn

1984-1988	Grundschule, Zons
1988-1997	Bettina von Arnim Gymnasium, Dormagen

Berufsausbildung

1998-2001	Ausbildung zur Krankenschwester
	Werner-Forßmann Krankenhaus, Eberswalde
1.04.2001	Staatsexamen Krankenschwester

Studium

SS 2001	Humanmedizin,
	Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Staatsexamen	08.05.2007
Ärztliche Approbation	24.05.2007

Berufserfahrung

18.06.2007-30.06.2009	Assistenzärztin für Anästhesie
	Hospital zum Heiligen Geist, Kempen
seit 01.07.2009	Assistenzärztin für Anästhesie
	Elisabeth Krankenhaus, Mönchengladbach-Rheydt

Abstract

Wirkung und Wirkungshemmung von Nahrungs-Advanced Glycation Endproducts (AGE) auf die arterielle Endothelfunktion bei Menschen mit und ohne Diabetes mellitus

Denise Bastian, Institut für Klinische Diabetologie/ Deutsche Diabetes-Zentrum/ Leibnitz-Zentrum für Diabetes-Forschung an der HHU Düsseldorf

Einleitung und Fragestellung: Nahrungs-AGE sind potentiell atherogen wirksam. Da aber die akute Wirkung von Nahrungs-AGE auf die arterielle Endothelfunktion beim Menschen unbekannt war, sollte untersucht werden, ob bereits die Einmalgabe eines AGE-reichen Getränkes die arterielle Endothelfunktion beeinträchtigt, ob dabei Unterschiede bestehen zwischen Menschen mit und ohne Diabetes mellitus sowie zwischen Rauchern und Nichtrauchern und ob eine solche akute AGE-Wirkung pharmakologisch gehemmt werden kann. **Methodik:** Dazu wurden die Flussabhängige Dilatation (FAD) der A. brachialis sowie die Serum-AGE- und -VCAM-1- sowie die Plasma-PAI-1-Spiegel bei 44 Menschen mit Diabetes mellitus (Typ 1:n=22; Typ 2:n=22; Nichtraucher:n=24; Raucher:n=20) und 10 ohne Diabetes vor und 90 sowie 150 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes (300 ml mit 1.8 Millionen AGE-Einheiten und 4.2µMol Methylglyoxal-Derivate, jedoch ohne Kohlenhydrate oder Lipide) untersucht (Protokoll A). Zur Wirkungshemmung der AGE wurden oral über 4 Tage Vitamin C (2g/d) und Folsäure (50mg/d) gegeben. Am 5. Tag wurde L-Arginin (9g) dem AGE-reichen Getränk 60 Minuten vor Einnahme zugefügt und danach die FAD-Messung nach Protokoll A bei 11 Studienteilnehmern durchgeführt. **Ergebnisse:** Bereits die einmalige Einnahme des AGE-reichen Getränkes führte bei allen Studienkollektiven nach 90 Minuten zu einer signifikanten Verringerung der FAD im Vergleich zum Basalwert um durchschnittlich -26% (mit Diabetes: FAD von 5,45±0,4% auf 4,00±0,34% $p< 0,05$; ohne Diabetes: FAD von 9,9±0,7 % auf 7,4±0,9% $p< 0,05$). Nach 150 Minuten hatte sich der zwischenzeitlich erniedrigte FAD-Wert bei beiden Studienkollektiven wieder auf das Ausgangsniveau erhöht. Die Einnahme des AGE-reichen Getränkes führte bei beiden Studienkollektiven im Vergleich zum Basalwert nach 90 Minuten zu einem signifikanten Anstieg der Serum-AGE-Spiegel um durchschnittlich 29% bis 35%($p=0,02$) und der Plasma-PAI-1-Spiegel um durchschnittlich 26% bis 54%($p<0,05$) bei unveränderten Blutglukosewerten. Bei Rauchern war im Vergleich zu Nichtrauchern der FAD-Abfall 90 Minuten nach Einnahme des AGE-reichen Getränkes um mehr als das Doppelte stärker ausgeprägt, wogegen die Unterteilung nach Diabetes Typ 1 und 2 keine relevanten Unterschiede ergab. Die o.g. AGE-Wirkung konnte durch die Einnahme der o.g. Substanzen vollständig verhindert werden. **Diskussion und Schlussfolgerung:** Die Studie belegt erstmals, dass bei Menschen mit als auch ohne Diabetes mellitus bereits eine einzelne orale Aufnahme einer AGE-reichen Nahrung eine transiente reversible arterielle Gefäßdysfunktion verursachen kann. Dies könnte z.B. bei einer koronaren Herzerkrankung zur postprandialen Präzipitation einer akuten koronaren Ischämie führen. Für Menschen mit Diabetes mellitus, die in deutlich erhöhtem Maße von den Folgen ischämischer Ereignisse betroffen sind, könnte die Kombination akuter und chronischer Wirkungen von AGE-reicher Nahrung besonders deletär sein. Daher ist der Nachweis einer möglichen Wirkungshemmung von AGE-reicher Nahrung auf die arterielle Endothelfunktion durch einzelne Nahrungsbestandteile oder Medikamente von grundsätzlicher Bedeutung für diesbezügliche zukünftige Therapiestudien.