

Aus dem Deutschen Diabetes-Zentrum
Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung
an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Institut für Klinische Diabetologie
Direktor: Univ.- Prof. Dr. med. Michael Roden

**Der Einfluss zweier Ernährungsinterventionen
auf die endotheliale Funktion
bei Patienten mit Typ-2-Diabetes mellitus**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Sandra Idler
2017

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Univ.- Prof. Dr. med. Michael Roden

Zweitgutachter: PD Dr. med. Christian Heiss

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	V
Abkürzungsverzeichnis.....	VII
Abbildungsverzeichnis.....	XIII
Tabellenverzeichnis.....	XV
1 Einleitung.....	1
1.1 Formen des Diabetes mellitus.....	3
1.2 Typ-2-Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Risikofaktoren.....	4
1.3 Die endotheliale Funktion.....	5
1.3.1 Aufgaben des Endothels.....	5
1.3.2 Vasoregulation in der glatten Gefäßmuskulatur.....	7
1.3.3 Diagnostische Methoden.....	9
1.3.3.1 Die flussmedierte Vasodilatation.....	9
1.3.3.2 Surrogatparameter zur Detektion einer endothelialen Dysfunktion.....	11
1.4 Endotheliale Dysfunktion bei Typ-2-Diabetes mellitus.....	12
1.4.1 Auswirkungen der Hyperglykämie.....	13
1.4.1.1 Der Sorbitolweg.....	15
1.4.1.2 Aktivierung der Proteinkinase C- β II und - δ	15
1.4.1.3 Nicht-enzymatische Glykosylierung.....	16
1.4.1.4 Hexosaminstoffwechsel.....	17
1.4.2 Auswirkungen der Insulinresistenz.....	17
1.4.3 Auswirkungen der Dyslipidämie.....	18
1.4.4 Oxidativer Stress im kardiovaskulären System.....	19
1.4.4.1 NAD(P)H-Oxidase.....	19
1.4.4.2 NO-Synthase.....	19
1.4.4.3 Reaktive oxidative Substrate.....	20
1.4.4.4 Auswirkungen erhöhter ROS-Konzentrationen.....	21
1.4.4.5 Oxidative Abwehr.....	23
1.5 Medikamente und die endotheliale Funktion.....	24
1.6 Ernährung und die endotheliale Funktion.....	24
1.6.1 Vollkorn und Getreideballaststoffe.....	25
1.6.2 Koffeinhaltiger Kaffee.....	26
1.6.3 Rotes Fleisch.....	27
2 Fragestellung.....	28
3 Methodik.....	29
3.1 Studiendesign.....	29
3.1.1 Patientenkollektiv.....	29
3.1.2 Zeitlicher Ablauf der Studie.....	30
3.1.3 Die Ernährungsintervention.....	31
3.1.4 Wöchentliche Visiten.....	32
3.2 Duplexsonographische Messung der endothelialen Funktion.....	34
3.2.1 Untersuchungsvorbereitungen.....	34
3.2.2 Durchführung der Messung.....	36
3.2.3 Auswertung der Messung.....	38
3.2.3.1 Auswertung der Bildschleifen des Gefäßdiameters.....	38
3.2.3.2 Auswertung der Flussgeschwindigkeit.....	39
3.2.3.3 Beurteilung der Bildqualität.....	39
3.2.4 Berechnung des FMD-Wertes.....	40
3.3 Mathematisch-statistische Methode.....	41
4 Ergebnis.....	42

4.1 Studienpopulation.....	42
4.2 Probandencharakteristika.....	43
4.3 Veränderungen nach der Ernährungsintervention.....	44
4.3.1 Anthropometrische Messungen.....	44
4.3.2 Zusammensetzung der Ernährungskomponenten.....	46
4.3.3 Laborparameter.....	50
4.4 Auswertung der FMD-Messung.....	51
5 Diskussion.....	53
5.1 Ernährungsinterventionsstudien.....	53
5.1.1 Die Kalorienrestriktion.....	53
5.1.2 Der Einfluss von Kohlenhydraten und Vollkorn.....	55
5.1.3 Zusammenhang mit Kaffee.....	57
5.1.4 Konsum von rotem Fleisch.....	58
5.2 Methodenkritik.....	59
5.2.1 Die FMD-Messung als richtiges Messinstrument.....	59
5.2.2 Weitere Verfahren zur Detektion endothelialer Dysfunktion und Inflammation	
.....	60
5.2.3 Zusammensetzung der Ernährungskomponenten.....	60
5.3 Laborparameter.....	61
5.4 Schlussfolgerung.....	61
6 Zusammenfassung.....	63
7 Literaturverzeichnis.....	65
Danksagung.....	83

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
A.	Arteria
Aa.	Arteriae
Abb.	Abbildung
ABI	Knöchel-Arm-Index
ADA	American Diabetes Association
ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
AGE	Advanced Glycation End Products
AHA	American Heart Association
AI	Augmentationsindex
AIDS	erworbenes Immundefektsyndrom; Aquired immunodeficiency syndrome
AMPK	Adenosinmonophosphat-aktivierte Proteinkinase
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ATP	Adenosintriphosphat
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaft e.V.
BH ₄	Tertrahydrobiopterin
BL	Baseline
BMI	Body-Mass-Index
BMI_BL	Body-Mass-Index Baseline
bzw.	beziehungsweise
Ca ²⁺	Calcium
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat

cm	Zentimeter
C-Peptid_BL	C-Peptid Baseline
CRP	C-reaktives Protein
DAG	Diacylglycerol
DDAH	Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase
DDG	Deutsche Diabetes Gesellschaft
DDIET	Deutsche Diabetes-Diät-Interventions- und Energierestriktions- Testung
DIfE	Deutsches Institut für Ernährungsforschung
dl	Deziliter
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DPS	Diabetes Prevention Study
EASD	European Association for the Study of Diabetes
ED	endotheliale Dysfunktion
EDHF	endothelabhängiger hyperpolarisierender Faktor
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EF	endotheliale Funktion
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
EPIC	European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition
ESC	Europäische Gesellschaft für Kardiologie
ET-1	Endothelin-1
EW	Eiweiß
F	Fett
FFA	freie Fettsäure
FMD	flussmedierte Vasodilatation

FMD_FU	flussmedierte Vasodilatation Follow-up
FRD	Fett-reduzierte Diät
FU	Follow-up
g	Gramm
gammaGT	Gamma-Glutamyltransferase
GI	glykämischer Index
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GTP	Guanosintriphosphat
H ₂ O	Wasser
HbA _{1c}	glykiertes Hämoglobin
HDL	high density Lipoprotein
HFKL	Fett-reich und Kohlenhydrat-reduzierte
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
hsCRP	high sensitivity C-reaktives Protein
ICAM	interzelluläres Adhäsionsmoleküle
IDF	International Diabetes Federation
IG	Interventionsgruppe
IG_BL	Interventionsgruppe Baseline
IG_FU	Interventionsgruppe Follow-up
IL	Interleukin
IMT	Intima-Media-Dicke
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
IVGTT	intravenöser Glukosetoleranztest
kcal	Kalorien

KG	Kontrollgruppe
kg	Kilogramm
KG_BL	Kontrollgruppe Baseline
KG_FU	Kontrollgruppe Follow-up
KH	Kohlenhydrate
KHK	koronare Herzkrankheit
KI	Konfidenzintervall
KRD	Kohlenhydrat-reduzierte Diät
LDL	low density Lipoprotein
LDLox	oxidiertes low density Lipoprotein
LFHK	Fett-reduziert und Kohlenhydrat-reich
Lj.	Lebensjahr
m	Meter
MetSy	Metabolisches Syndrom
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MMTT	Mixed-Meal Toleranz-Test
mtNOS	mitochondriale Stickstoffmonoxid-Synthase
M-Wert_BL	M-Wert Baseline
NADPH/H ⁺	Nicotinamidadeninukleotidphosphat
NF-κB	Nuclear Factor kappa B
ng	Nanogramm
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute
NMD	nicht-endothelabhängige Dilatation

NMD_FU	nicht-endothelabhängige Dilatation Follow-up
nNOS	neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
O ₂	Sauerstoff
PAI-1	Plasminogenaktivator Inhibitor 1
PGI ₂	Prostazyklin
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
PK	Proteinkinase
PWV	Pulswellengeschwindigkeit
RAGE	Rezeptor für Advanced Glycation End Products
RNS	Ribonukleinsäure
ROI	Region of Interest
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RR	Blutdruck nach Riva Rocci
RRsyst	Blutdruck nach Riva Rocci systolisch
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SERCA	Sarkoplasmatische und endoplasmatische Retikulum Kalzium ATPase
SOD	Superoxiddismutase
T2DM	Typ-2-Diabetes mellitus
Tab.	Tabelle
TAG	Triglyzeride
TGF- β	Transformierender Wachstumsfaktor β
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α

tPA	Gewebsplasminogenaktivator
TXA ₂	Thromboxan A ₂
UDP	Uridindiphosphat
UK	Vereinigtes Königreich
US DPP	US Diabetes Prevention Program
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
VCAM	vaskuläres Zelladhäsionsmolekül
(V)EGF	(Vascular) Endothelial Growth Factor
VLDL	very low density Lipoprotein
vWF	von-Willebrand-Faktor
WHO	Weltgesundheitsorganisation

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Weltweite Zunahme des Diabetes bis 2035 [mit freundlicher Genehmigung der International Diabetes Federation].....	1
Abb. 2: Physiologische Mechanismen der Vasoregulation in glatter Gefäßmuskulatur.....	8
Abb. 3: Stoffwechselwege der Glukose [modifiziert nach Bakker et al., 2009].....	13
Abb. 4: Auswirkungen der Hyperglykämie im Endothel und den glatten Muskelzellen.....	14
Abb. 5: Pathophysiologische Schritte in der Arteriosklerose-Entstehung [modifiziert nach Mehta et al, 2006].....	21
Abb. 6: Schema der physiologischen oxidativen Abwehr.....	23
Abb. 7: Zeitlicher Ablauf der DDIET-Studie.....	31
Abb. 8: Schema zur Platzierung der EKG-Elektroden [modifiziert nach Putz & Pabst, Sobotta, 22. Auflage, Elsevier, 2007, mit freundlicher Genehmigung des Elsevier-Verlags].....	35
Abb. 9: Sonographische und schematische Darstellung der Intima-Media-Grenze.....	36
Abb. 10: Zeitlicher Ablauf der FMD-Messung.....	38
Abb. 11: Darstellung des Gefäßdiameters mittels Sonographie.....	39
Abb. 12: Flowchart Studienpopulation.....	42
Abb. 13: Die durchschnittliche tägliche Energiezufuhr vor und während der Diät in beiden Ernährungsgruppen.....	47
Abb. 14: Prozentuale Verteilung von Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß in den Ernährungsgruppen vor und während der Diät.....	48

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Auswahl von Studien mit Einfluss auf FMD-Messergebnisse.....	10
Tab. 2: Probandencharakteristika.....	43
Tab. 3: Veränderung anthropometrischer Daten am Ende der Diätintervention.....	45
Tab. 4: Die tägliche Ernährungszusammensetzung vor Beginn der Diätintervention.....	46
Tab. 5: Veränderungen der Ernährungskomponenten nach der Diätintervention.....	49
Tab. 6: Mittelwert-Differenzen von Follow-up zu Baseline für die Laborparameter in der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe.....	50
Tab. 7: FMD- und NMD-Mittelwerte $\pm$ SD und Mittelwert-Differenzen für die Interventions- und die Kontrollgruppe.....	51

1 Einleitung

Typ-2-Diabetes mellitus (T2DM) ist eine Stoffwechselerkrankung, deren Inzidenz weltweit seit den 1980er Jahren stetig zunimmt. In den letzten 30 Jahren hat sich die Anzahl der Betroffenen mehr als verdoppelt (1). In Deutschland sind circa 6 Millionen Menschen von Diabetes betroffen, wovon 90 Prozent (%) an T2DM erkrankt sind (2). Die Prävalenz für T2DM liegt dabei zwischen dem 45. und 74. Lebensjahr (Lj.) bei über 8 % (3). In den kommenden Jahren werden die Inzidenz und Prävalenz für T2DM weltweit weiter steigen (Abbildung (Abb.) 1).

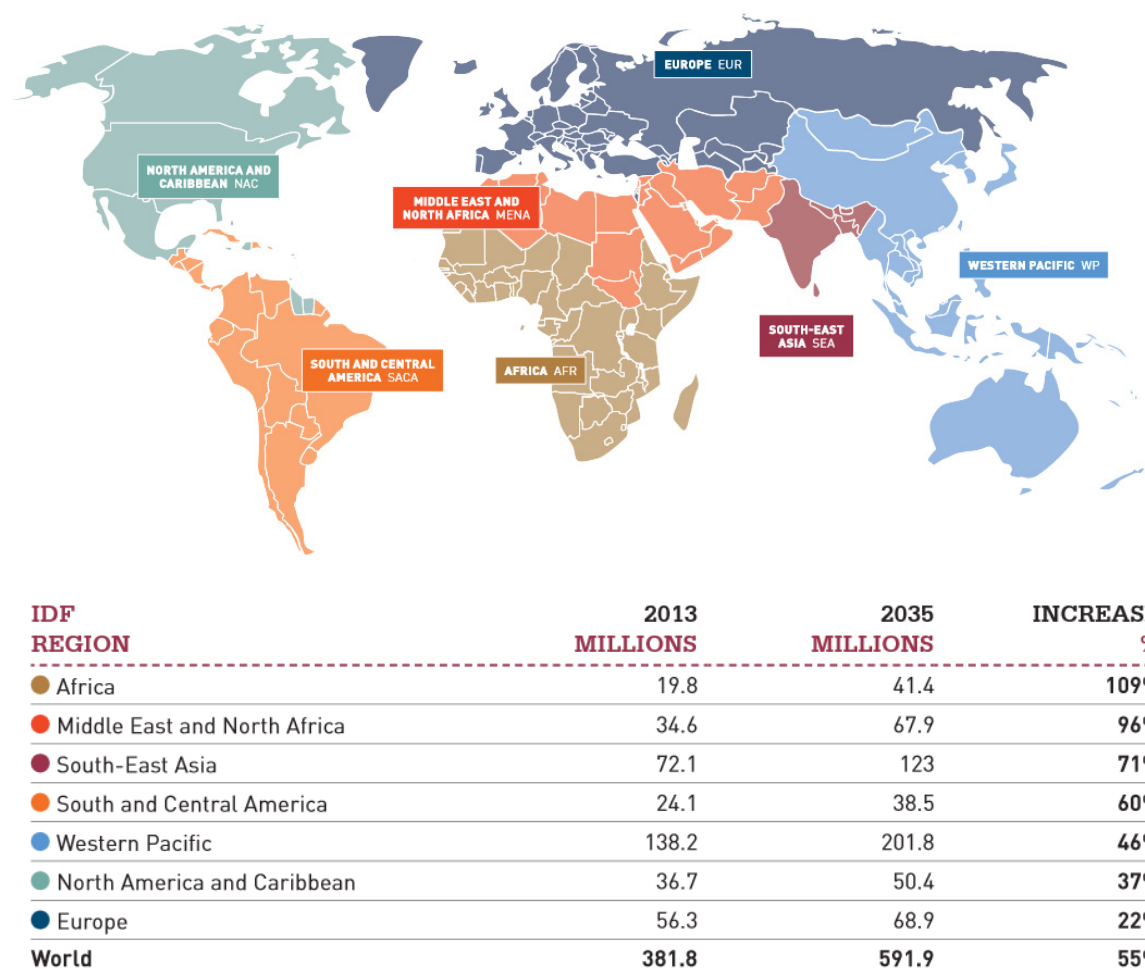


Abb. 1: Weltweite Zunahme des Diabetes bis 2035 [mit freundlicher Genehmigung der International Diabetes Federation]

Die Gründe für eine steigende Prävalenz des T2DM sind vielfältig. Zu den Risikofaktoren, die zur Entwicklung eines T2DM beitragen, gehören das Alter, der Body-Mass-Index

(BMI), eine hochkalorische Ernährung, sowie eine positive Familienanamnese (4,5). Geschlechtsspezifisch konnten bei Männern zusätzlich der systolische Blutdruck, Alkoholkonsum sowie das Rauchen und bei Frauen die fehlende körperliche Aktivität als zusätzliche Risikofaktoren herausgearbeitet werden (4). Zu den wichtigsten Prädiktoren des T2DM bei beiden Geschlechtern zählen Übergewicht beziehungsweise (bzw.) Adipositas (6,7). Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert Übergewicht als BMI 25 - 29,9 kg/m² und Adipositas als BMI $\geq$ 30 kg/m² (8). Eine Gewichtszunahme im jungen Erwachsenenalter (25. - 40. Lj.) scheint dabei mit einem höheren und auch früheren T2DM-Risiko behaftet zu sein, als eine Gewichtszunahme nach dem 40. Lj (9). Die Gewichtszunahme resultiert dabei in den meisten Fällen aus verminderter körperlicher Aktivität und gleichzeitiger Zunahme der Kalorienzufuhr.

Das überwiegende Manifestationsalter bei der Entwicklung eines T2DM liegt über dem 40. Lj. Sind Kinder oder Jugendliche von einem T2DM betroffen, weisen sie ein ähnliches Risikoprofil auf, wie es auch bei Erwachsenen gefunden wird (10). Die Zahl der von T2DM betroffenen Kinder hat sich in den letzten zehn Jahren verfünffacht und den Schätzungen zufolge sind circa 5000 Kinder in Deutschland betroffen (11).

Personen, die einen T2DM entwickeln, sind häufig von einer westlich orientierten Ernährung geprägt. Dazu zählen ein niedriger Ballaststoffanteil, ein niedriger Anteil ungesättigter bzw. ein hoher Anteil gesättigter Fettsäuren und kein oder zu viel Alkohol (12). Randomisierte kontrollierte klinische Langzeitstudien, wie die Malmö Feasibility Study, die Finnish Diabetes Prevention Study (DPS), die Da Quing Study oder das US Diabetes Prevention Programm (US DPP) legen den positiven Einfluss von Lebensstilmodifikationen auf die T2DM-Prävention dar (13-16). Diese Studien konnten zeigen, dass vermehrte körperliche Aktivität und eine Ernährungsumstellung im Sinne einer ausgewogenen Ernährung zu einer Gewichtsreduktion führen und das T2DM-Risiko senken können. Schon 1991 zeigte die Malmö Feasibility Study, dass sowohl in der T2DM-Gruppe ungefähr 54 % der Probanden und in der Gruppe mit gestörter Glukosetoleranz ungefähr 76 % der Teilnehmer eine verbesserte Glukosetoleranz nach der Lebensstilintervention hatten (13). Während der Ernährungsumstellung erfolgte dabei neben der zusätzlichen körperlichen Aktivität auch eine Ernährungsberatung und der Austausch einfacher Kohlenhydrate (KH) gegen komplexe KH mit hohem Ballaststoffanteil sowie der Austausch gesättigter Fettsäuren gegen mehrfach ungesättigte

Fettsäuren (17). In der europäischen DPS wurden 522 Probanden mittleren Alters mit nachgewiesener gestörter Glukosetoleranz eingeschlossen (18). Die Interventionsgruppe erhielt Ernährungs- und Bewegungsberatung und hatte folgende Ziele zu erreichen: 1.) BMI < 25 kg/m² bzw. Gewichtsreduktion von 5 – 10 Kilogramm (kg); 2.) > 50 % KH, < 10 % gesättigte Fettsäuren, 20 % einfach und mehrfach ungesättigte Fettsäuren, < 300 Milligramm (mg) Cholesterol, ≥ 15 Gramm (g) Ballaststoffe/1000 Kalorien (kcal) (19). Das T2DM-Risiko in der Interventionsgruppe konnte durch diese Umstellungen um 58 % reduziert werden und die T2DM-Inzidenz betrug nach vier Jahren in der Interventionsgruppe 11 % und in der Kontrollgruppe 23 % (20). Auch in der Da Quing Study konnte selbst 14 Jahre nach der Lebensstilintervention eine Verminderung der T2DM-Inzidenz bei chinesischen Probanden mit gestörter Glukosetoleranz nachgewiesen werden (21). Ein ähnliches Ergebnis zeigt sich auch in dem US DPP. Bei Probanden mit erhöhten Nüchtern-Blutglukosewerten wurde durch Kalorien- und Fettreduktion sowie einer zusätzlichen sportlichen Aktivität von 150 Minuten pro Woche eine Reduktion der T2DM-Inzidenz von 58 % erreicht (16). Interessanterweise zeigen Studien, die Lebensstilinterventionen mit Metformin vergleichen auch eine Reduktion der T2DM-Inzidenz. Eine Vergleichsstudie mit 531 indischen Probanden ergab, dass eine Lebensstilintervention (körperliche Aktivität und kalorienreduzierte Diät) mit einer relativen Risikoreduktion von 28,5 %, einer Metformintherapie, mit einer relativen Risikoreduktion von 26 %, in der Effektivität gleichgestellt werden kann (22). Im Rahmen des US DPP war die Lebensstilveränderung mit Gewichtsreduktion und körperlicher Aktivität mit einer Minderung der T2DM-Inzidenz von 58 % gegenüber der Metformintherapie mit einer Reduktion der T2DM-Inzidenz von 31 % überlegen (16).

1.1 Formen des Diabetes mellitus

Generell werden beim Diabetes mellitus vier Typen, deren Gemeinsamkeit die Hyperglykämie darstellt, unterschieden. Der Typ-1-Diabetes mellitus ist ein Autoimmungeschehen, welches zu einer Zerstörung der insulinproduzierenden Beta-Zellen des Pankreas führt. Die Insulinproduktion wird eingestellt und es kommt zu einem absoluten Insulinmangel. Bei dem T2DM kommt es zu einer Störung der Insulinsekretion aus den Langerhans-Zellen des Pankreas, dem eine gestörte Insulinwirkung, auch als Insulinresistenz bezeichnet, vorangeht. Es handelt sich hierbei um eine Störung der Glukose-abhängigen Insulinsekretion (23). Im Rahmen der Insulinresistenz, die durch

Adipositas begünstigt wird, kommt es aufgrund der herabgesetzten Insulinwirkung an den Zellen zu einer Hyperinsulinämie und zur Förderung der Entstehung von Arteriosklerose (24). Die dritte Gruppe bildet eine heterogene Form von spezifischen Diabetes-Formen, zu denen genetische Defekte des Pankreas oder der Insulinproduktion gehören, sowie Erkrankungen des exokrinen Pankreas (Zystische Fibrose) oder medikamenteninduzierte Formen (25). Eine weitere Form des Diabetes mellitus ist der Gestationsdiabetes. Der Gestationsdiabetes ist eine „Glukosetoleranzstörung, die erstmals in der Schwangerschaft mit einem 75-g oralen Glukosetoleranztest (oGTT) unter standardisierten Bedingungen und qualitätsgesicherter Glukosemessung aus venösem Plasma diagnostiziert wird“ (26). In seiner Pathophysiologie entspricht dieser Typ weitestgehend dem T2DM (26).

1.2 Typ-2-Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Risikofaktoren

Als Komplikationen des T2DM können Makroangiopathien (koronare Herzkrankheit, Herzinfarkt, Schlaganfall) und Mikroangiopathien (diabetische Neuropathie, Nephropathie, Retinopathie) unterschieden werden. Durch einen T2DM erhöht sich das Risiko zur Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen um das zwei- bis dreifache und das von Beginn an (27,28). Morrish et al. gehen davon aus, dass 52 % der Patienten mit T2DM an einer kardiovaskulären Erkrankung versterben werden (29).

Die endotheliale Dysfunktion (ED) gilt als eine der frühesten Veränderungen in der Entstehung der Arteriosklerose (30). Bei Fortschreiten der Arteriosklerose drohen makroangiopathische Komplikationen, wie koronare Herzerkrankung, zerebrovaskuläre Erkrankungen und periphere arterielle Verschlusskrankheit. Die Arteriosklerose stellt einen Hauptgrund für die Morbidität und Mortalität bei T2DM dar (31). Die jährliche Mortalität aufgrund vaskulärer Erkrankungen bei T2DM liegt bei 1,4 %, bei einer jährlich Gesamtmortalität von 2,9 % (32).

Neben erhöhten Nüchternblutglukosewerten und einer Insulinresistenz zählen Übergewicht, Hypertonie und Dyslipidämie zu den Risikofaktoren, die das kardiovaskuläre Erkrankungsrisiko erhöhen (33). Die neuesten Daten der WHO von 2015 demonstrieren, dass weltweit mehr als 1,9 Milliarden (39 %) Menschen an Übergewicht leiden, von denen wiederum knapp 600 Millionen (13 %) als adipös eingestuft werden können, mit steigender Tendenz (8,34). Übergewicht, vor allem mit einem hohen viszeralen Fettanteil, führt zu Inflammation und oxidativem Stress im kardiovaskulären System (35). Zwischen

40 % neu diagnostizierter Patienten mit T2DM aus der UK Prospective Diabetes Study und 92,7 % der T2DM-Patienten aus einer malaysischen Studie leiden an Hypertonie (36,37). In Kombination mit T2DM erhöht sich das Risiko für mikro- und makroangiopathische Komplikationen (38,39). Ein Dyslipidämie-Profil bestehend aus Hypercholesterinämie mit hohem low density Lipoprotein (LDL) und/oder einem niedrigen high density Lipoprotein (HDL) sowie Hypertriglyzeridämie wurde bei 74,8 % der untersuchten Patienten mit T2DM in einer deutsch-österreichischen Multizenter-Studie diagnostiziert (40). Bei 50 % der T2DM-Betroffenen in den USA wurde eine Hypercholesterinämie nachgewiesen (41). Die zuvor benannten Risikofaktoren werden häufig unter der Bezeichnung des Metabolischen Syndroms (MetSy) zusammengefasst. Die International Diabetes Federation (IDF) definiert das MetSy als die zentrale Adipositas und zwei weitere der folgenden Faktoren: Triglyzeride (TAG) ≥ 150 mg/dl, HDL < 40 mg/dl bei Männern, < 50 mg/dl bei Frauen, Blutdruck systolisch ≥ 130 mmHg oder diastolisch ≥ 85 mmHg und ein Nüchternblutglukosewert ≥ 100 mg/dl (42). Die Komponenten des MetSy lassen sich daher häufig auch bei Personen mit einem T2DM wiederfinden (43). In der Diabetes-in-Deutschland-Studie lag die Prävalenz für ein MetSy bei Patienten mit T2DM je nach Definition zwischen 26,1 % (WHO 1999 (44)), 79,3 % (AHA/NHLBI 2005 (45)) und 82,6 % (IDF 2005 (42)) (46).

1.3 Die endotheliale Funktion

Das Endothel, das als innerste Schicht die Arterien und Venen auskleidet und eine Barriere zwischen dem Intra- und Extravasalraum darstellt, spielt eine zentrale Rolle in der Gefäßhomöostase. Das Endothel vermittelt vor allem Stoffaustausch, Hämostase, Immunreaktion, Inflammation, Angiogenese und Vasomotorik (47). Diese Aufgaben lassen sich unter dem Oberbegriff der endothelialen Funktion (EF) zusammenfassen. Veränderungen am Endothel führen zu einer Einschränkung der physiologischen EF und begünstigen die Entwicklung der Arteriosklerose (48). Einfluss auf die EF haben unter anderem Alter, Geschlecht, Gewicht bzw. BMI, Bauchumfang, Blutdruck, Lipidprofil und das Blutglukoseprofil (49).

1.3.1 Aufgaben des Endothels

Das Endothel reguliert die Aufnahme und Verteilung von Nährstoffen und Hormonen (50). Für die Selektion der Nährstoffe ist die vom Endothel ausgehende Glykokalix

verantwortlich (51). Auch die Aufnahme von Stoffwechselendprodukten aus den umliegenden Zellen gehört dazu.

Im Rahmen der Hämostase ist das Endothel mitverantwortlich für die Aktivierung von Blutgerinnung und Fibrinolyse. Die Glykokalix auf den Endothelzellen, sowie die vom Endothel ausgeschütteten Faktoren Prostazyklin (PGI_2), Stickstoffmonoxid (NO) und Heparin sorgen im intakten Endothel für die Hemmung der Thrombozytenaktivität und -aggregation. In Folge einer Endothelverletzung wird aus den Endothelzellen von-Willebrand-Faktor (vWF) freigesetzt, mit Hilfe dessen die Thrombozyten sich an die verletzte Stelle anheften können. Durch die Anheftung kommt es zur Aktivierung der Thrombozyten und der Gerinnungskaskade, an dessen Ende die Bildung und Stabilisierung eines Thrombus steht (52). Für die Fibrinolyse schütten die Endothelzellen, stimuliert durch Stoffe wie Bradykinin, Histamin und Acetylcholin, den Gewebsplasminogenaktivator (tPA) aus, der das in der Leber synthetisierte Plasminogen in aktives Plasmin wandelt (53). Plasmin spaltet den aus Fibrin gebildeten Thrombus wieder auf.

Im Falle einer Entzündung oder Immunreaktion rekrutiert und bindet das Endothel Leukozyten über Adhäsionsmoleküle (54). Die Aktivierung des Endothels geschieht unter anderem durch inflammatorische Zytokine, wie Interleukin- (IL) 1 oder Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), die von Gewebsmakrophagen sezerniert werden. Die Leukozyten durchwandern das Endothel und es kommt zu deren Aktivierung mit anschließender Ausschüttung von Chemokinen. Durch die entstehenden freien Sauerstoffradikale kann eine Entzündung bekämpft werden. Die reaktiven Sauerstoffradikale selbst können wiederum eine Entzündung provozieren.

Das Endothel nimmt Einfluss auf die Vasomotorik, kann Scheerstress registrieren und adäquat darauf reagieren. Das Endothel ist dabei aktiv an der Blutdruckregulation beteiligt. Als wichtigste Einflussgrößen für die Vasoregulation stellt das Endothel den Vasodilatator NO und den Vasokonstriktor Endothelin-1 (ET-1) bereit. Neben der wichtigen gefäßrelaxierenden Eigenschaft wirkt NO darüber hinaus gefäßprotektiv durch Reduktion der Inflammation, der Proliferation und der Thrombozytenaggregation im Gefäß (55). Weitere vasodilatatorisch aktive Substanzen sind die Prostaglandine, Bradykinin und der endothelabhängige hyperpolarisierende Faktor (EDHF). Als weitere vasokonstriktorische

Substanzen stellt das Endothel reaktive oxidative Substrate (ROS), Thromboxan A₂ (TXA₂) und Angiotensin II zur Verfügung (55).

1.3.2 Vasoregulation in der glatten Gefäßmuskulatur

Für die Bildung von NO ist die NO-Synthase (NOS) verantwortlich. Es werden folgende Isoformen unterschieden: endotheliale NOS (eNOS), induzierbare NOS (iNOS), neuronale NOS (nNOS) und mitochondriale NOS (mtNOS) (55). Für die Aktivierung der eNOS sind Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH/H⁺), Tetrahydrobiopterin (BH₄) und Sauerstoff (O₂) wichtig. Über den Trigger Scheerstress wird freies Kalzium (Ca²⁺) aus den intrazellulären Speichern, dem endoplasmatischen Retikulum, freigesetzt. Kalzium bindet an die Calmodulin-Bindestelle der eNOS und führt dort zu einer Phosphorylierung und damit Aktivierung (56). Die aktivierte eNOS spaltet L-Arginin in NO und L-Citrullin. Über NO wird die lösliche Guanylatzyklase aktiviert, die aus Guanosintriphosphat (GTP) das zyklische Guanosinmonophosphat (cGMP) herstellt. Das cGMP aktiviert in einem weiteren Schritt die Proteinkinase (PK) G. Über diesen Mechanismus wird die intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration in den glatten Muskelzellen gesenkt und es kommt zur Relaxation. Die Schlüsselaktivatoren für die eNOS sind der Scheerstress und die intrazelluläre Kalziumausschüttung.

Als potenter Antagonist für das NO und damit Vasokonstriktor gilt das Peptid ET-1, dass an zwei G-Protein-gekoppelte Rezeptoren binden kann. Der Rezeptor ET_A findet sich vor allem in den glatten Muskelzellen, der Rezeptor ET_B befindet sich in den Endothelzellen und den glatten Muskelzellen (57). Die Bindung von ET-1 an Rezeptor ET_A und ET_B in den glatten Muskelzellen führt über einen intrazellulären Ca²⁺-Anstieg zur Vasokonstriktion. Bindet ET-1 an den Rezeptor ET_B in den Endothelzellen führt dies zu einem NO-Anstieg, der die ET-1-Synthese physiologisch inhibiert (58). Im Rahmen von Inflammation oder oxidativem Stress wird NO verbraucht und steht als Inhibitor nicht mehr zur Verfügung, sodass die Vasokonstriktion durch ET-1 überwiegt (58). Die schematische Darstellung der Vasoregulation ist in Abb. 2 dargestellt.

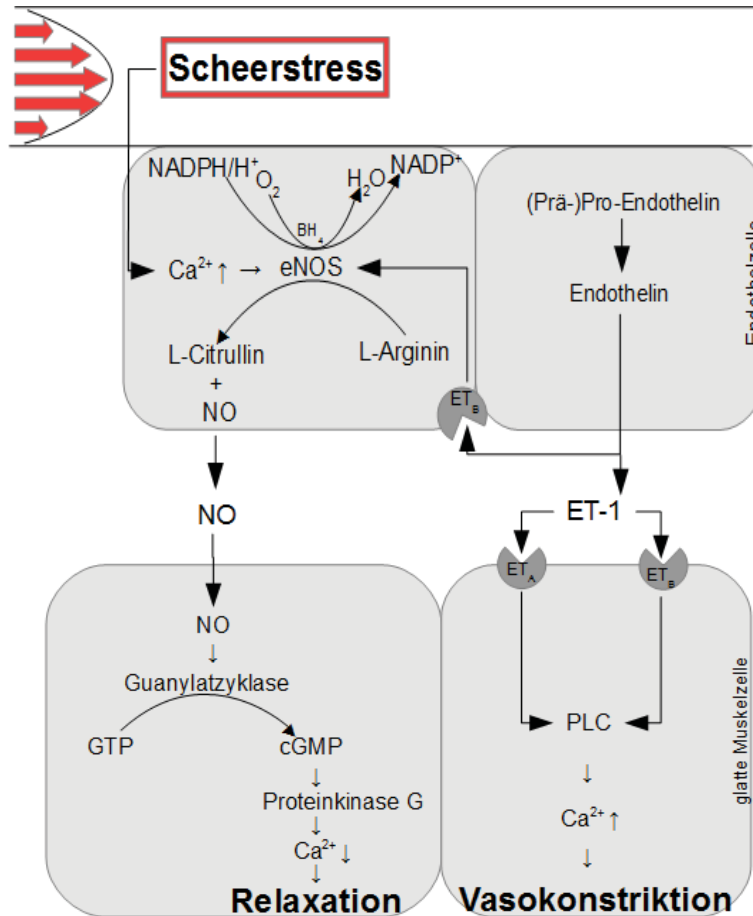


Abb. 2: Physiologische Mechanismen der Vasoregulation in glatter Gefäßmuskulatur

Scheerstress im Blutgefäß fördert in den Endothelzellen die Freisetzung von Ca^{2+} aus intrazellulären Speichern. Ca^{2+} aktiviert über die Bindung an Calmodulin die eNOS. Unter Verwendung von O_2 , BH_4 und NADPH/H^+ spaltet die eNOS L-Arginin in L-Citrullin und NO. NO diffundiert durch das Interstitium in die glatten Muskelzellen und aktiviert die Guanylatzyklase. Die Guanylatzyklase bildet aus GTP cGMP. cGMP aktiviert die Proteinkinase G, die über die Aktivierung verschiedener Mechanismen die Ca^{2+} -Konzentration in der glatten Muskelzelle senkt. Es kommt zur Relaxation der glatten Muskelzellen und zur Gefäßdilatation. Der Gegenspieler, das Peptid ET-1, wirkt über 2 Rezeptoren. Der Rezeptor ET_A befindet sich auf den glatten Muskelzellen, der Rezeptor ET_B sowohl auf den glatten Muskelzellen, als auch auf den Endothelzellen. ET-1 bewirkt in den glatten Muskelzellen über die Aktivierung der PLC eine intrazelluläre Ca^{2+} -Erhöhung, die zur Vasokonstriktion führt. In den Endothelzellen kommt es über ET-1 zur Aktivierung der eNOS und damit zur NO-Synthese mit Relaxation. Physiologisch halten sich somit NO und ET-1 die Waage.

BH_4 : Tetrahydrobiopterin; Ca^{2+} : freies Calcium; cGMP: zyklisches Guanosinmonophosphat; eNOS: endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase; ET-1: Endothelin-1; GTP: Guanosintriphosphat; H_2O : Wasser; NADPH/H^+ : Nicotinamadenindinukleotidphosphat; NO: Stickstoffmonoxid; O_2 : Sauerstoff; PLC: Phospholipase C

1.3.3 Diagnostische Methoden

Der Goldstandard zur Messung der EF ist die Koronarangiographie, ein invasiver Eingriff, mit dem die Koronarien mittels Kontrastmittel und Röntgenstrahlung sichtbar dargestellt werden können. Allerdings ist diese Methode nicht dazu geeignet, frühe Ereignisse der Arteriosklerose-Entstehung bei nicht-symptomatischen Patienten zu detektieren (59). Es gibt eine Vielzahl weiterer bildgebender Verfahren und Blutmarker, die Hinweise auf eine ED geben können. Sie können Aufschluss über die Beschaffenheit der Gefäße oder als inflammatorische Produkte Hinweise auf oxidativen Stress im kardiovaskulären System geben.

1.3.3.1 Die flussmedierte Vasodilatation

Die nicht-invasive Messmethode zur Bestimmung der EF ist die Messung der flussmedierten Vasodilatation (FMD), die als prädiktiver Marker zur Detektion von kardiovaskulären Erkrankungen bei nicht-symptomatischen Patienten eingesetzt werden kann (60). Dass die FMD-Messung ein adäquates Mittel ist, um Informationen über die Funktion der Gefäße zu erhalten, wurde 1992 zum ersten Mal von Celermajer beschrieben (61). Eine eingeschränkte FMD gilt als Zeichen für eine ED, die das Schlüsselereignis in der Entstehung der Arteriosklerose darstellt.

Die FMD-Messung beruht dabei auf dem biochemischen Prinzip der NO-Freisetzung mittels eNOS aufgrund von Scheerstress (Abb. 2). Durch das Anlegen einer Blutdruckmanschette um den Unterarm kommt es in Folge einer Hyperämie zu einer gesteigerten Schubspannung im Gefäß. Stickstoffmonoxid wird freigesetzt und das Gefäß dilatiert. Tian et al. stellten in einer klinischen Studie fest, dass selbst bei neu diagnostizierten T2DM-Patienten eine durch FMD messbare ED festzustellen ist und auch in prädiabetischen Stadien zeigt sich bereits eine verminderte FMD (62,63). Es gibt einen direkten Zusammenhang zwischen erhöhten Blutglukosewerten und der FMD (64,65).

Neben der FMD wird auch die nicht-endothelabhängige Dilatation (NMD) bestimmt, indem sublingual Nitroglycerin verabreicht wird. Mit der NMD wird festgestellt, inwiefern das Endothel an sich noch zur Relaxation fähig ist.

In der Literatur gibt es keinen einheitlichen Referenzwert, ab dem von einer ED ausgegangen werden kann, da die Messergebnisse von verschiedenen Faktoren abhängig sind. Je größer der FMD-Wert jedoch ist, desto unwahrscheinlicher ist eine ED. Eine

1 Einleitung

Auswahl, welche Faktoren Einfluss auf die FMD-Messung und -Werte haben können, findet sich in Tabelle (Tab.) 1.

<i>Studie</i>	<i>Probandengruppen</i>	<i>FMD-Messwerte (%)</i>	<i>p-Wert</i>
<i>Tian et al., 2012 (62)</i>	116 neu diagnostizierte T2DM-Patienten vs. (- Gruppe A: 51 Probanden mit Antidiabetika + Antihypertensiva + Lipidsenker - Gruppe B: 65 Probanden mit Insulintherapie) 59 gesunde Probanden	15,99±7,81 16,85±7,30 25,17±6,54	Gruppe A : $p < 0,01$ Gruppe B: $p < 0,01$
<i>Keymel et al., 2011 (64)</i>	25 Probanden mit kardiovaskulärer Erkrankung und T2DM vs. 25 Probanden mit kardiovaskulärer Erkrankung	2,5±0,2 vs. 4,8±0,4	$p \leq 0,001$
<i>Naidu et al., 2011 (66)</i>	30 Probanden mit KHK vs. 30 gesunden Probanden	9,42±7,2 vs. 21,11±9,16	$p < 0,01$
<i>Seon et al., 2011 (28)</i>	380 Patienten mit neu diagnostiziertem T2DM	5,92±3,04	
<i>Reyes-Soffer et al., 2010 (71)</i>	52 Probanden mit KHK + T2DM vs. 51 Probanden mit KHK	3,9±3,2 vs. 5,5±4,0	$p < 0,03$
<i>Parker et al., 2006 (69)</i>	14 junge Frauen zwischen 20.-30. Lj. vs. 14 ältere Frauen zwischen 60.-79. Lj.	15,8±0,8 vs. 8,1±1,5	$p < 0,05$
<i>Mavri et al., 2011 (67)</i>	40 Frauen BMI > 25 kg/m ² Vor Diätbeginn vs. 1 Woche Diät vs. 5 Monate Diät	7,7±1,8 vs. 9,1±2,7 vs. 12,4±5,3	$p = 0,03$ $p = 0,001$
<i>Iwata et al., 2012 (70)</i>	27 Patienten mit Hypertonie und T2DM Winter vs. Sommer	4,74±2,15 vs. 5,71±2,17	$p = 0,03$

Tab. 1: Auswahl von Studien mit Einfluss auf FMD-Messergebnisse

BMI: Body-Mass-Index; KHK: koronare Herzkrankheit; T2DM: Typ-2-Diabetes mellitus

Die FMD-Messung wird von verschiedenen, im Folgenden näher erläuterten Faktoren beeinflusst, die bei der Messung, Auswertung und Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen. Die meisten der beeinflussenden Faktoren zeigen sich auch im Zusammenhang mit einer ED. Möglicherweise sind diese Einflussfaktoren auch der Grund dafür, dass in der Literatur kein Referenzwert für FMD-Messwerte beschrieben ist.

Naidu et al. konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen der FMD und dem Geschlecht, dem BMI und dem Blutdruck herstellen (66). Männer haben eine niedrigere FMD als Frauen (66). Mit steigendem BMI und Blutdruck, sowohl systolisch als auch diastolisch, sinkt die FMD (66). Dagegen verbessert sich die FMD durch eine Gewichtsreduktion (66). Im Einklang mit diesem Ergebnis konnte die Studie von Mavri et al. zeigen, dass übergewichtige Frauen eine Besserung der FMD-Werte schon eine Woche nach Beginn einer Diät erreichen (67). Die viszerale Adipositas, gemessen als Taille-Hüft-Quotient $> 0,85$ ist mit der FMD negativ assoziiert (68). Auch das Alter hat Einfluss auf die FMD. An gesunden Frauen konnte eine Korrelation zwischen dem Alter und der FMD gezeigt werden. Sowohl in der Arteria (A.) brachialis also auch in der A. poplitea wurden bei den älteren Frauen niedrigere FMD-Werte gemessen (69). Selbst die Jahreszeit, zu der die FMD gemessen wird, nimmt Einfluss auf den Wert, auch wenn der Zusammenhang kontrovers diskutiert wird. Iwata et al. haben die FMD bei den gleichen Patienten sowohl zwischen November und Januar als auch zwischen Juli und September gemessen. Die in den wärmeren Monaten gemessene FMD war höher (70). Die Querschnittstudie von Patel et al. konnte hingegen keinen saisonalen Zusammenhang zwischen den Jahreszeiten und den FMD-Werten bei schlanken und adipösen Probanden feststellen (72).

1.3.3.2 Surrogatparameter zur Detektion einer endothelialen Dysfunktion

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akut-Phase-Protein, welches auch als Marker für Herz-Kreislauf-Erkrankungen herangezogen werden kann. Es steht in dem Verdacht, Superoxide freizusetzen und die iNOS vermehrt zu aktivieren (73). Das CRP wirkt somit proinflammatorisch. Die Superoxide greifen Proteine, Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS) an. Von iNOS produziertes NO wirkt in hohen Mengen zytotoxisch.

Des Weiteren haben verschiedene Lipidparameter Einfluss auf die Endothelfunktion. Vor allem oxidiertes LDL (LDLox) und freie Fettsäuren (FFA) fördern den oxidativen Stress

(74,75). Visfatin und andere Zytokine (Adipokine), die von Adipozyten ausgeschüttet werden, beeinflussen die EF negativ und können oxidativen Stress auslösen (76). 8-Isoprostaglandin und Malondialdehyd sind Abbauprodukte im Fettstoffwechsel und gelten als zuverlässige Biomarker zur Detektion von oxidativem Stress im Körper (77,78). Bei Patienten mit T2DM konnten im Vergleich zu gesunden Probanden signifikant erhöhte Malondialdehyd-Konzentrationen festgestellt werden (63).

Stickstoffmonoxid ist ein endothel-abhängiger Vasodilatator, der bei Patienten mit T2DM vermindert freigesetzt wird. Die Messung der FMD beruht auf der Freisetzung von NO und der daraus resultierenden Vasodilatation in den Gefäßen. Weitere wichtige molekulare Marker für die ED sind E-Selektin, der bei Endothelschädigung in die Blutbahn freigesetzt wird, und die Adhäsionsmoleküle interzelluläres Adhäsionsmolekül (ICAM) 1 und vaskuläres Zelladhäsionsmolekül (VCAM) 1. Das ICAM-1 ist positiv assoziiert mit T2DM und ist Ausdruck eines erhöhten kardiovaskulären Risikos (79).

Neben der FMD sind auch die Intima-Media-Dicke (IMT), die Pulswellengeschwindigkeit (PWV) und der Augmentationsindex (AI) nicht-invasive Messmethoden. Die PWV und die AI sind vor allem Marker für die Elastizität der Arterie, die IMT sagt vor allem etwas über die Struktur der Gefäße aus (80). Die IMT wird in den Arteriae (Aa.) coronariae oder carotides bestimmt. Eine verminderte FMD korreliert mit einer erhöhten PWV und IMT (64,81).

1.4 Endotheliale Dysfunktion bei Typ-2-Diabetes mellitus

Die ED ist vor allem definiert durch eine herabgesetzte endothel-abhängige Vasodilatation, infolge einer gestörten Produktion und/oder Freisetzung von NO. Ferner spielen proinflammatorische, proliferative und prokoagulatorische Komponenten eine Rolle. Diese Faktoren fördern die Entstehung von Arteriosklerose und deren Komplikationen (82). Die Risikofaktoren, die bei T2DM das Auftreten einer ED begünstigen, sind Hyperglykämie, Insulinresistenz, erhöhte FFAs und arterielle Hypertonie. Verschiedene Mechanismen können die Endothelzellen durch oxidativen Stress schädigen und führen damit zu einer ED. Diese Mechanismen sind zunächst einmal unabhängig von einem T2DM zu betrachten, werden aber durch erhöhte Plasmaglukosekonzentrationen und/oder Plasmalipidkonzentrationen verstärkt (83,84).

1.4.1 Auswirkungen der Hyperglykämie

Hyperglykämie führt über verschiedene biochemische Prozesse zu Funktionsveränderungen des Endothels und zu Mikroangiopathien. Glukose wird in der Glykolyse zu Pyruvat abgebaut, wobei in den Mitochondrien Adenosintriphosphat (ATP) gebildet wird (Abb. 3).

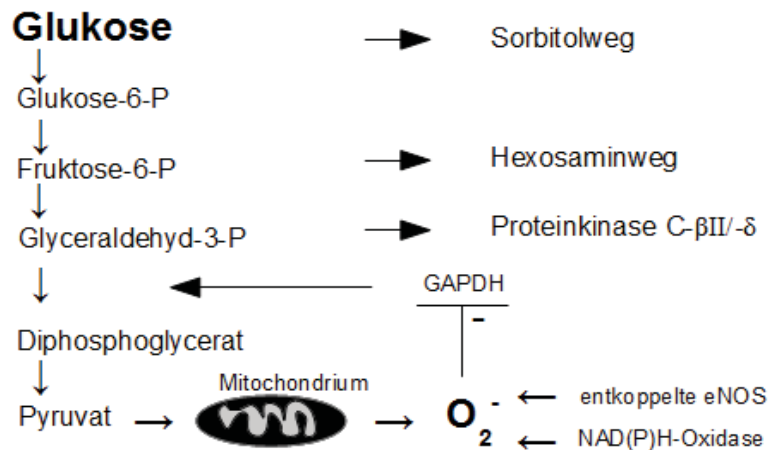


Abb. 3: Stoffwechselwege der Glukose [modifiziert nach Bakker et al., 2009]

Glukose wird über die Stoffwechselwege der Glykolyse zu Pyruvat abgebaut. In den Mitochondrien wird das Pyruvat oxidiert, wodurch ATP, die für den Körper wichtige Energieform, entsteht. Als Abbauprodukt entstehen dabei Superoxide, die unschädlich gemacht werden. Neben den Mitochondrien können auch die entkoppelte eNOS und die NAD(P)H-Oxidase Superoxide bilden. Können diese freien Radikale nicht unschädlich gemacht werden, hemmen sie im Rahmen der Glykolyse die GAPDH. Andere Stoffwechselwege treten in den Vordergrund und Glukose wird vermehrt in den Sorbitolweg eingeschleust. Als Fructose-6-Phosphat nimmt es seinen Ausgang in dem Hexosaminweg und als Glyceraldehyd-3-Phosphat aktiviert es die PKC-βII und -δ mit seinen in Abb. 4 beschriebenen Auswirkungen.

ATP: Adenosintriphosphat; eNOS: endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase; GAPDH: Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase; NAD(P)H: Nicotinamidadenindinukleotidphosphat; PKC : Proteinkinase C

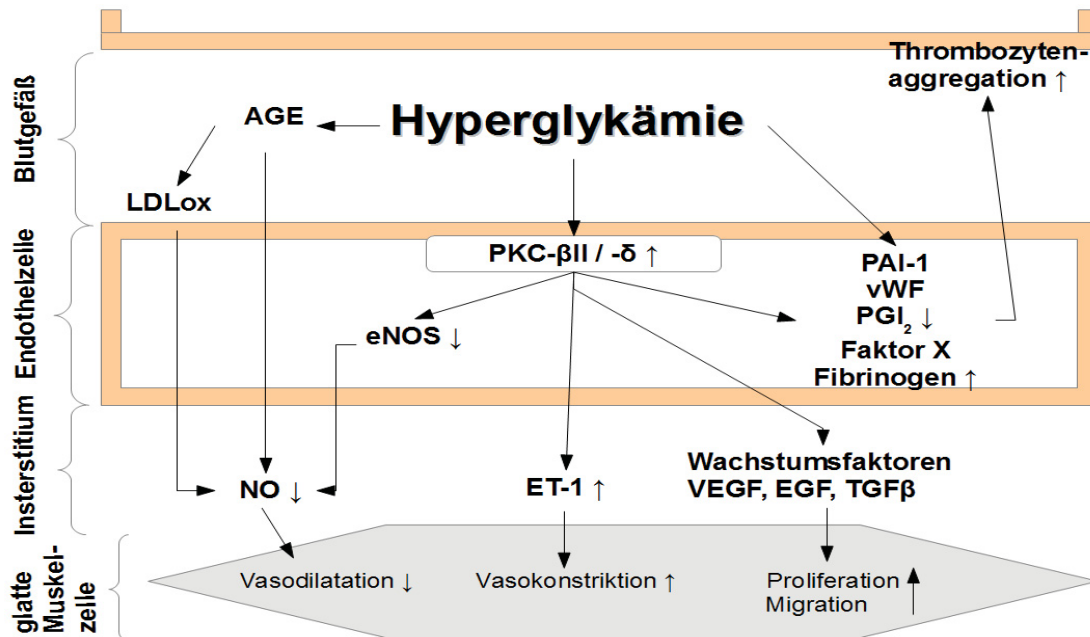


Abb. 4: Auswirkungen der Hyperglykämie im Endothel und den glatten Muskelzellen

Hyperglykämie wirkt sich sowohl auf die Endothelzellen als auch auf die glatten Muskelzellen aus. Erhöhte Blutglukosewerte fördern die Bildung von AGEs. AGEs senken direkt die NO-Verfügbarkeit und fördern die Oxidation von LDL. LDLox senkt ebenfalls die NO-Verfügbarkeit. Hyperglykämie aktiviert zudem die PKC- β II und - δ . Die aktivierten PKC-Isoformen hemmen die eNOS und damit die NO-Produktion. Eine verminderte NO-Verfügbarkeit hemmt die Vasodilatation. Im Gegenzug wird über die PKC die ET-1-Verfügbarkeit erhöht. ET-1 sorgt an den glatten Muskelzellen für Vasokonstriktion. Die PKC fördert die Bildung von Wachstumsfaktoren, wie (V)EGF und TGF- β und damit die Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen. Sowohl die PKC als auch die erhöhte Blutglukosekonzentration direkt haben Einfluss auf die Gerinnung und die Thrombozytenaggregation am Endothel. Es werden vermehrt gerinnungsfördernde Substanzen, wie PAI-1, vWF, Faktor X und Fibrinogen, freigesetzt. Die Verfügbarkeit von PGI₂ wird gehemmt.

AGE: Advanced Glycation End Products; eNOS: endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase; ET-1: Endothelin-1; LDL: low density Lipoprotein, LDLox: oxidiertes LDL; NO: Stickstoffmonoxid, PAI-1: Plasminogenaktivator Inhibitor 1; PGI₂: Prostazyklin; PKC: Proteinkinase C; TGF- β : Transformierender Wachstumsfaktor β ; (V)EGF: (Vascular) Endothelial Growth Factor; vWF: von-Willebrand-Faktor

Als Abbauprodukte fallen Sauerstoffradikale an. Können die Sauerstoffradikale nicht unschädlich gemacht werden, hemmen sie die für die Glykolyse wichtigen Enzyme. Glukose wird dadurch weniger über die Glykolyse verstoffwechselt und andere Stoffwechselwege, wie der Sorbitolweg und der Hexosaminstoffwechsel geraten in den

Vordergrund. Des Weiteren kommt es zu einer vermehrten Aktivierung der PKC- β II und - δ und zu einer vermehrten Bildung von glykosylierten Proteinen oder Advanced Glycation End Products (AGE) (Abb. 3 und 4).

Die Glukose hat neben den oben benannten Stoffwechselwegen auch Einfluss auf die Arginaseaktivität. Mit steigenden Nüchternblutglukosewerten steigt die Arginaseaktivität und es wird vermehrt Arginin im Harnstoffzyklus abgebaut (85). Arginin steht damit der NOS nicht mehr zur NO-Produktion zur Verfügung.

1.4.1.1 Der Sorbitolweg

Über den Sorbitol- bzw. Polyolweg wird Glukose mittels Aldolasereduktase und unter Verbrauch von NADPH/ H^+ zu Sorbit reduziert und kann dann weiter zu Fruktose verstoffwechselt werden. Durch Hyperglykämien wird dieser Stoffwechselweg vom Körper vermehrt in Anspruch genommen und der NADPH/ H^+ -Verbrauch steigt. Durch den NADPH/ H^+ -Verbrauch steht dieses nun nicht mehr für die Regeneration von Glutathion-Disulfid zur Verfügung. Die Konsequenz ist, dass ROS nicht unschädlich gemacht werden können. Von den Körperzellen produziertes Sorbit reichert sich in den Geweben an und gilt als ein Grund für diabetische Neuropathie (86). Des Weiteren kommt es zu oxidativem Stress, der unter anderem zu einem diabetischen Katarakt führen kann (87). Auch die eNOS benötigt NADPH/ H^+ , welches nicht mehr zur Verfügung steht. Die NO-Synthese ist in der Folge gehemmt und die Gefäßdilatation beeinträchtigt

1.4.1.2 Aktivierung der Proteinkinase C- β II und - δ

Durch Hyperglykämie werden über die Erhöhung von Diacylglycerol (DAG) die PKC- β II und - δ aktiviert, die zu Veränderungen in der Vasoregulation, Proliferation, Migration, Thrombozytenaggregation und zu oxidativem Stress führen können (88). Die PKC- β II und - δ erhöhen die ET-1-Freisetzung. ET-1 führt zu Vasokonstriktion, zu einer Erhöhung der ROS und Peroxynitrit und besitzt mitogene Aktivität (89). Über die PKC-Aktivierung kommt es zudem zu einer verminderten eNOS-Expression (90). Die NO-Produktion und die NO-abhängige Vasodilatation sind somit eingeschränkt.

Die Aktivierung der PKC beeinflusst auch die Expression von Wachstumsfaktoren, wie den (vascular) endothelial growth Factor ((V)EGF) und den transformierenden Wachstumsfaktor β (TGF- β) (91,92). Es kommt zu Migration und Proliferation der glatten Muskelzellen.

Die PKC aktiviert über die NAD(P)H-Oxidase die ROS-Produktion sowohl in glatten Muskelzellen als auch in Endothelzellen und führt damit zu oxidativem Stress (93). Die PKC fördert die Bildung von Plasminogenaktivator Inhibitor 1 (PAI-1), einer Serin-Protease, die mit ED und Myokardinfarkt assoziiert ist (94). Die Konzentration von vWF und die Aktivität von Faktor X und Fibrinogen werden ebenfalls verstärkt. Es kommt zu vermehrter Thrombozytenaggregation und Plaquebildung in den Gefäßen. Die Produktion von PGI₂ wird über die aktive PKC vermindert und damit ein möglicher Weg der Gefäßdilatation gehemmt. Mehta et al. konnten zeigen, dass durch Ruboxistaurin, einem Proteinkinase-C-Inhibitor, die FMD verbessert wird, was darauf hindeutet, dass die aktivierte PKC negativen Einfluss auf die EF hat (95). Darüber hinaus findet durch die aktivierte PKC eine vermehrte ICAM-1-Expression sowie die Interaktion von Leukozyten mit dem Endothel statt, infolge derer es zu inflammatorischen Prozessen kommt (96).

1.4.1.3 Nicht-enzymatische Glykosylierung

Hyperglykämie fördert die nicht-enzymatische Glykosylierung von Proteinen. Es kommt zu einer unkontrollierten, nicht-enzymatischen Reaktion von Proteinen mit Zuckern. Diese AGEs reagieren 1.) mit extrazellulären Matrixproteinen, wie Kollagen und Elastin und setzen die Compliance der Gefäße herab, 2.) mit intrazellulären Proteinen, wie dem Ryanodin-Rezeptor oder der Sarkoplasmatischen und endoplasmatischen Retikulum Kalzium ATPase (SERCA), beide verantwortlich für die Kalziumhomöostase in den Kariozyten, 3.) mit für die Arteriosklerose relevanten Rezeptoren (97). Diese AGE-Rezeptoren (RAGE) finden sich unter anderem auf Makrophagen, Monozyten, Endothelzellen und glatten Muskelzellen (98). Durch die Interaktion der AGEs mit den RAGE kommt es zu oxidativem Stress, Proinflammation, Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen durch die Freisetzung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren (99,100). Die Anlagerung an die Gefäßzellen fördert durch den bedingten Elastizitätsverlust der Gefäße mikro- und makroangiopathische Ereignisse.

Schon 1991 konnten Bucala et al. demonstrieren, dass AGEs eine wichtige Rolle in der Entwicklung der Gefäßkomplikationen bei T2DM-Patienten spielen. Advanced Glycation End Products setzen die Vasodilatation durch Hemmung der NO-Produktion herab und fördern die Oxidation von LDL, einem wichtigen Faktor in der Entstehung von Arteriosklerose (92,101).

1.4.1.4 Hexosaminstoffwechsel

Physiologischerweise werden zwischen 1 – 3 % der anfallenden Glukose über den Hexosaminstoffwechsel verstoffwechselt (102). Im Rahmen einer Hyperglykämie wird dementsprechend mehr Glukose in diesen Stoffwechselweg eingeschleust. Das Endprodukt im Hexosaminstoffwechsel ist das Uridindiphosphat (UDP)-N-Acetylglucosamin, das unter anderem die Genexpression von PAI-1 und TGF- β fördert (103). Diese Faktoren sind mit kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert. Weiterhin kommt es zu endothelschädigendem Einfluss, indem UDP-N-Acetylglucosamin mit der eNOS reagiert und die NO-Synthese inhibiert, wodurch die Vasodilatation gehemmt wird (104). Über den Hexosaminstoffwechselweg kann zudem auch die PKC aktiviert werden.

1.4.2 Auswirkungen der Insulinresistenz

Insulinresistenz wird definiert als das verminderte Ansprechen der Zellen, allen voran denen in Muskulatur, Leber und Fett, auf Insulin. Insulin kann damit seine Aufgaben in den Organen nicht mehr erfüllen. Insulinresistente Zustände finden sich vermehrt bei Menschen mit Adipositas, Hypertonie, Dyslipidämie oder kombiniert als MetSy (92).

Endothelzellen exprimieren Insulinrezeptoren, über die Insulin sowohl NO als auch ET-1 freisetzen kann. Das Insulin spielt damit eine große Rolle in der Vasoregulation (105). Insulinresistente Zustände beeinträchtigen den Signalweg, über den die Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) eNOS aktiviert und NO generiert (106). Insulin unterdrückt zudem die Genexpression der Enzyme des Harnstoffzyklus, inklusive der Arginase (107). Arginase ist für die enzymatische Umsetzung von L-Arginin zu Harnstoff und Ornithin verantwortlich. Im Fall einer Insulinresistenz ist die Gensuppression nicht mehr gegeben und der Abbau von L-Arginin wird gefördert. Damit steht der eNOS kein L-Arginin mehr zu Verfügung, um daraus NO zu gewinnen (54).

Es ist nicht abschließend geklärt, ob die ED nun als Folge oder als Auslöser für die Insulinresistenz anzusehen ist (92). Als mögliche Ursachen von Insulinresistenz-Stadien werden unter anderem erhöhte Konzentrationen von FFAs, Angiotensin II, ET-1 und TNF- α diskutiert (108). Als einen weiteren Einflussfaktor wird der oxidative Stress selbst gesehen. Reaktive Sauerstoffradikale und Peroxynitrit spielen eine wichtige Rolle bei der

Entstehung von Insulinresistenz (100). Monnier et al. konnten zeigen, dass eine Insulintherapie hemmenden Einfluss auf oxidativen Stress bei Patienten mit T2DM haben kann (109).

1.4.3 Auswirkungen der Dyslipidämie

Das Lipidprofil bei Personen mit einem T2DM zeichnet sich durch eine Hypertriglyzeridämie mit Erhöhung von very low density Lipoprotein (VLDL) und FFAs aus. Ferner ist das HDL erniedrigt und das LDL erhöht, welches häufig in oxidiert Form vorliegt. Diese Form der Dyslipidämie hat Einfluss auf die Ansammlung oxidativer Substanzen und auf mikroangiopathische Ereignisse (110).

Erhöhte Konzentrationen von FFAs führen zu einer herabgesetzten NO-Produktion und einer schlechteren Vasodilatation im Endothel. Eine Erklärung dafür ist der inhibierende Einfluss von FFAs auf die PI3K, die insulininduziert NO-Produktion vermittelt. Eine weitere Möglichkeit ist die Aktivierung der PKC durch FFAs, die zu einer verminderten Aktivität der eNOS führt (111). Mit zwei häufigen FFAs, Oleat und Palmitat, wurde in einer experimentellen Studie unter anderem die Auswirkung auf die PKC-Aktivierung untersucht. Oleate erhöhten dabei den phosphorylierten Anteil aller PKC-Isoenzyme (PKC- α /- β /- δ /- ϵ), für Palmitate konnte nur die Phosphorylierung von PKC- α und - δ festgestellt werden (112). Über die PKC können sowohl in den glatten Muskelzellen als auch in den Endothelzellen ROS produziert werden (93). Sowohl im Rattenversuchsmodell als auch beim Menschen konnte gezeigt werden, dass vorhandene FFAs selbst zu einer Insulinresistenz führen (113,114). Die Insulinresistenz durch FFAs wird ausgelöst durch eine initiale Hemmung des Glukosetransportes und -phosphorylierung und einer daraus folgenden Verminderung der Glucose um circa 50 % (115). Diese Verminderung der Glukoseverstoffwechslung zeigt sich nicht erst bei erhöhten FFA-Werten, sondern auch bei physiologischen Konzentrationen (116). Die FFAs stimulieren den Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) -Weg und sorgen für einen vermehrten Anfall von IL-1 und TNF- α (113). Leukozyten und Monozyten werden angelockt und eine systemische Inflammation wird begünstigt. Zusätzlich fördern FFAs die Konzentration von VCAM-1 im Blut, die mit einer erhöhten Konzentration von PAI-1 und folgend mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert ist (117).

1.4.4 Oxidativer Stress im kardiovaskulären System

Oxidativer Stress entsteht durch den vermehrten Anfall von ROS, die von den Zellen im Körper physiologischerweise produziert werden. Zu den ROS gehören Superoxide, Wasserstoffperoxide und Wasserstoffradikale. Diese ROS werden im Rahmen einer physiologischen Zellaktivität unschädlich gemacht. Kommt es zu einem Ausfall oder zu einer Minderung der Entgiftung, zum Beispiel durch erhöhte Blutglukosewerte, fallen vermehrt ROS an, die daraufhin Proteine, DNS und RNS schädigen können.

1.4.4.1 NAD(P)H-Oxidase

Über den NAD(P)H-Oxidase-Weg werden vor allem Superoxide gebildet. In den neutrophilen Granulozyten werden die Superoxide zur Abwehr von Bakterien gebraucht. Die NAD(P)H-Oxidase befindet sich auch in Gefäßendothelzellen, glatten Muskelzellen und in den Fibroblasten, wo sie neben den Superoxiden auch Wasserstoffperoxide bildet. Im kardiovaskulären System reagiert die NAD(P)H-Oxidase als Antwort auf vasoaktive Faktoren (Angiotensin II), inflammatorische Faktoren (TNF- α , IL-1/ -6), Wachstumsfaktoren (TGF- β) und mechanische Einflüsse (Scheerstress) (118).

1.4.4.2 NO-Synthase

Bei der Entstehung von ED und Arteriosklerose sind vor allem die eNOS und die iNOS von Bedeutung. Die Verfügbarkeit von BH₄ als Kofaktor der eNOS kann durch ROS reduziert werden. Stehen BH₄ oder L-Arginin für die eNOS nicht zur Verfügung, kommt es zur Entkoppelung der eNOS und es werden vermehrt Superoxide produziert (54). Vorhandenes NO wiederum kann mit Superoxiden zu Peroxinitrit reagieren. Peroxinitrit reagiert weiter mit den Tyrosinresten der Proteine. Die Verbindung steht im Verdacht, Apoptose zu induzieren (119). Möglicherweise verändert Peroxinitrit auch die Ausschüttung von vasodilatatorisch und vasokonstriktorisch aktiven Substanzen und ist damit ein Initiator für ED (100). Auch Peroxinitrit kann wiederum für die Entkoppelung von eNOS sorgen. In dem Fall kommt es über die Aktivierung von NAD(P)H-Oxidase durch TXA₂ zur Bildung von Sauerstoffradikalen und Peroxinitrit, welche die Entkoppelung der eNOS bewirken (120).

Die iNOS befindet sich vor allem in Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und den Endothelzellen und bildet NO, um Bakterien und Zellen abzutöten, aber auch im Rahmen anderer inflammatorischer Prozesse. Die Aktivierung der iNOS erfolgt vor allem über

Zytokine, wie IL und TNF- α . Hohe NO-Konzentrationen können selbst zum Auslöser für oxidativen Stress werden, da sie unter anderem schnell mit Superoxiden zu Peroxinitrit reagieren und damit Gewebe zerstören können (55).

1.4.4.3 Reaktive oxidative Substrate

Wichtige reaktive oxidativ Substrate im Zusammenhang mit T2DM sind unter anderem die Glukose, die AGEs und LDL. Glukose aber auch Fruktose können oxidativen Stress initiieren (121). Hyperglykämie Zustände führen indirekt über verschiedene Stoffwechselwege zu vermehrter ROS-Bildung. Auch die AGEs führen zu oxidativem Stress, da sie in der Lage sind, die Ausschüttung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen zu modulieren.

Für die Entstehung von LDLox sind unter anderem ROS verantwortlich. Peroxinitrit und die NADPH-Oxidase fördern die Oxidation von LDL. Oxidiertes LDL wird von Makrophagen und Monozyten phagozytiert, die sich durch deren Aufnahme zu Schaumzellen umwandeln. Es kommt zur Ausschüttung von inflammatorischen Zytokinen (TNF- α , IL-6) sowie Wachstumsfaktoren (TGF- β) und im weiteren Verlauf zur Thrombozytenaggregation und durch die Zerstörung des Endothels zur Ausbildung arteriosklerotischer Plaques (118) (Abb. 5). Die Komplikationen der Plaquebildung sind letztlich Thrombosen und Ischämien in den Gefäßen von Herz, Gehirn und Extremitäten.

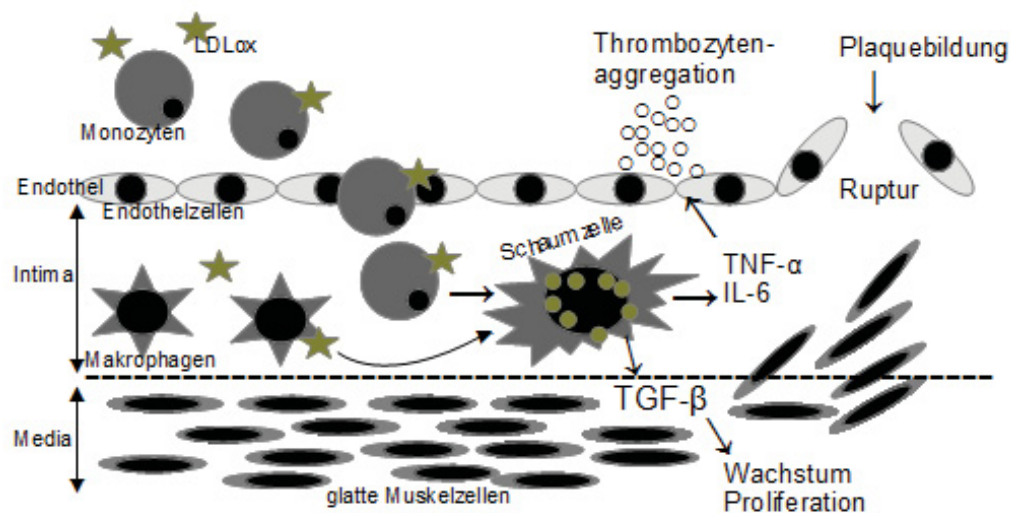


Abb. 5: Pathophysiologische Schritte in der Arteriosklerose-Entstehung [modifiziert nach Mehta et al, 2006]

Monozyten aus dem Blut und ortsständige Gewebe-Makrophagen phagozytieren LDLox und werden zu Schaumzellen umgewandelt. Diese schütten Wachstumsfaktoren, wie TGF- β aus, welche die Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen stimulieren. Es kommt zur Ruptur des Endothels und zur arteriosklerotischen Plaquebildung. Schaumzellen schütten auch Zytokine (TNF- α , IL-6) aus, welche die Thrombozytenaggregation am Endothel aktivieren.

IL-6: Interleukin-6; LDLox: oxidiertes low density Lipoprotein; TGF- β : transformierender Wachstumsfaktor β ; TNF- α : Tumornekrosefaktor α ;

Das LDLox hat zudem direkten zytotoxischen Einfluss und steht zusätzlich im Verdacht, Endothelzellen und glatte Muskelzellen anzugreifen. Ferner fördert LDLox die Freisetzung von Wachstumsfaktoren. Einfluss auf die Vasodilatation nimmt LDLox, indem es die Verfügbarkeit von L-Arginin in den Zellen herabsetzt und somit die NO-Synthese hemmt. Die herabgesetzte L-Arginin-Konzentration vermag auch die eNOS zu entkoppeln (122).

1.4.4.4 Auswirkungen erhöhter ROS-Konzentrationen

Reaktive Sauerstoffspezies können Einfluss auf die Funktion der eNOS haben und diese entkoppeln. Damit fehlt die NO-Produktion, die zur Vasodilatation im Gefäß führt und es kommt zu vermehrter Peroxynitrit-Bildung (123).

Radikale Sauerstoffspezies können unter anderem den NF- κ B-Weg aktivieren (124). NF- κ B ist ein Transkriptionsfaktor, über den Zytokine, das Immunsystem und die Zelladhäsion reguliert werden. Wichtige Zelladhäsionsmoleküle, wie das VCAM-1, das ICAM-1 und E-

Selektin sind für die Adhäsion und Aktivierung unter anderem von Monozyten und Leukozyten verantwortlich (54,125). Bei T2DM-Patienten wurden erhöhte ICAM-1-Werte gemessen, die im Vergleich zu Patienten mit einer normalen Glukosetoleranz, zu einem zweifach erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen führen (79). Auch die verminderte eNOS-Aktivität und damit verminderte NO-Produktion an sich fördert die Rekrutierung von VCAM-1, ICAM-1 und Rezeptoren für LDLox (118). Die Folgen sind Inflammation und Arteriosklerose.

Als weitere Einflussmöglichkeit inhibieren ROS die Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase (DDAH). Die DDAH sorgt physiologischerweise für die reduzierte Tätigkeit von asymmetrischem Dimethylarginin (ADMA), welches wiederum die eNOS-Phosphorylierung hemmt und ein kompetitiver Hemmer des L-Arginin ist (125). In einer klinischen Studie konnte demonstriert werden, dass eine erhöhte ADMA-Plasmakonzentration ein Risikomarker für kardiovaskuläre Erkrankungen bei T2DM ist (126).

1.4.4.5 Oxidative Abwehr

Unter physiologischen Bedingungen ist der Körper in der Lage die ROS unschädlich zu machen. Die Superoxiddismutase (SOD) ist der erste Schritt zur Entgiftung von Superoxid-Radikalen. Es bildet sich Wasserstoffperoxid, welches auf zwei Arten zu Wasser reduziert werden kann. Zum einen mittels Katalase, zum anderen über die Glutathion-Peroxidase. Um enzymatisch tätig zu werden, benötigt die Glutathion-Peroxidase Glutathion, das selbst zu Glutathion-Disulfid oxidiert wird. Das oxidierte Glutathion wird mit dem Enzym Glutathion-Reduktase und NADPH/H⁺ wieder zu Glutathion reduziert (127)(Abb. 6).

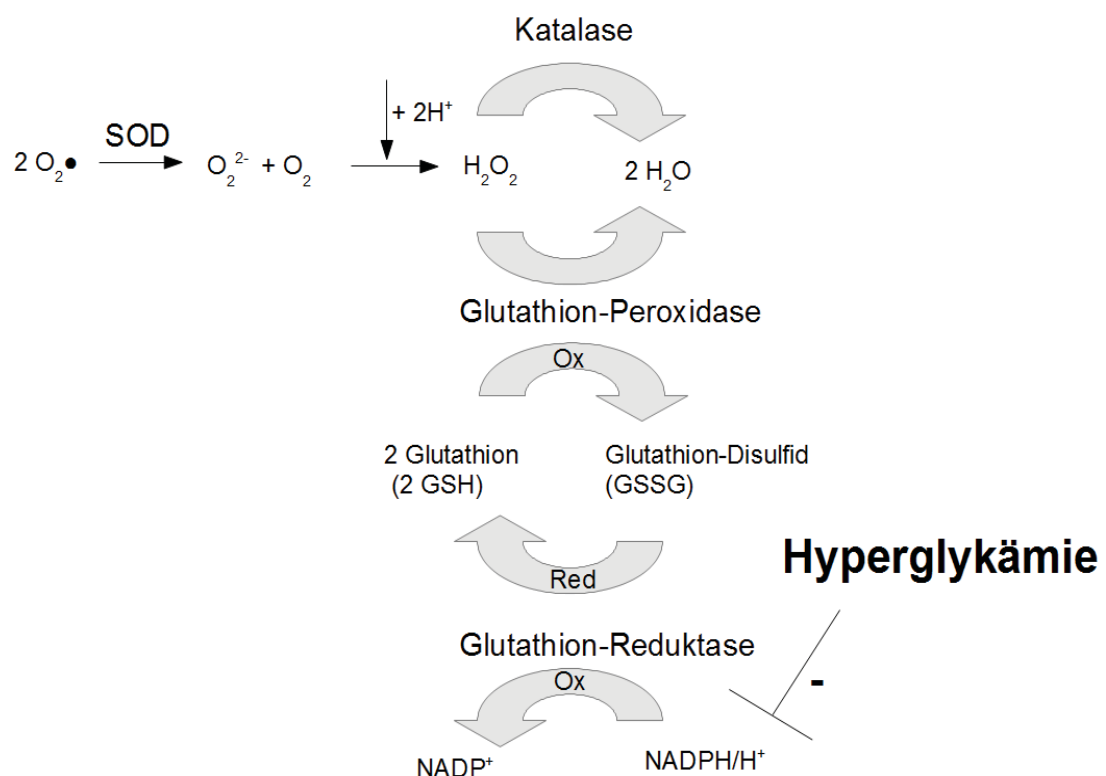


Abb. 6: Schema der physiologischen oxidativen Abwehr

In den Zellen entstehende Superoxide werden mittels SOD in zwei Teilschritten zu Wasserstoffperoxid verstoffwechselt. Wasserstoffperoxid kann über die Katalase oder die Glutathion-Peroxidase zu Wasser unschädlich gemacht werden. Die Glutathion-Peroxidase benötigt dafür zwei Glutathionmoleküle, die in dem Schritt zu Glutathion-Disulfid oxidiert werden. Damit Glutathion wieder verfügbar gemacht werden kann, reduziert die Glutathion-Reduktase unter Verbrauch von NADPH/H⁺ Glutathion-Disulfid zu Glutathion. Hyperglykämie Zustände können die NADPH/H⁺-Konzentration vermindern und damit direkten Einfluss auf die Aktivität der Glutathion-Reduktase nehmen.

H_2O : Wasser, H_2O_2 : Wasserstoffperoxid, NADPH/H^+ : Nicotinamidadenindinukleotidphosphat; $\text{O}_2^\bullet$: Superoxide, Ox: Oxidation, Red: Reduktion, SOD: Superoxiddismutase

Vor allem im Rahmen erhöhter Blutglukosewerte wird die Abwehr der ROS herabgesetzt. Die Aktivität von SOD, Glutathion-Peroxidase und Katalase können unter erhöhten Blutglukosewerten vermindert sein (128). Der Aktivitätsverlust der Glutathion-Peroxidase kann das Resultat einer herabgesetzten NADPH/H⁺-Konzentration, infolge einer Hyperglykämie, sein. Neben dem Aktivitätsverlust konnten auch herabgesetzte Glutathion-Konzentrationen bei Patienten mit T2DM festgestellt werden (129).

1.5 Medikamente und die endotheliale Funktion

Im Hinblick auf ein multifaktorielles Geschehen, welches zu T2DM führen kann, wird versucht neben Lebensstilmodifikationen, wie Ernährung, Sport und Gewichtsabnahme, das Risikoprofil durch Medikamente günstig zu beeinflussen. Aufgrund des bekannten Lipidprofils bei T2DM werden bevorzugt Statine eingesetzt. Sie haben einen positiven Effekt auf das Lipidprofil, indem sie Gesamtcholesterin, TAGs und LDL senken und HDL anheben. Ferner wirken sie gefäßprotektiv über die Adenosinmonophosphat-aktivierte Proteinkinase (AMPK) (130). Statine steigern die Genexpression von BH₄-produzierenden Enzymen, welche als Kofaktor zur NO-Produktion mittels NOS benötigt wird (131).

Entsprechend der Empfehlungen der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) wird Metformin als medikamentöse Therapie der ersten Wahl bei T2DM empfohlen (132). Auch Metformin soll eine gefäßprotektive Wirkung haben und die Inzidenz von Myokardinfarkten reduzieren (133). Metformin hat direkten Einfluss auf die EF, indem es die Ausschüttung von TNF- α und IL aus den Monozyten hemmt und auch die CRP-Konzentration reduziert (134). In einem Mausmodell hatte Metformin über die Aktivierung der AMPK auch Einfluss auf die eNOS-Aktivität und verbesserte darüber die NO-Bioverfügbarkeit und hemmte die Produktion von ROS (135,136). Über die Wirkung von Metformin auf die AMPK kann auch die NF- κ B-Aktivität inhibiert werden, einem Transkriptionsfaktor für proinflammatorisch aktive Moleküle (137).

1.6 Ernährung und die endotheliale Funktion

Über 90 % der T2DM-Erkrankungen können auf die Lebensstilfaktoren Bewegung und Ernährung und daraus resultierend Übergewicht bzw. Adipositas, sowie Rauchen und Alkoholkonsum zurückgeführt werden (138). Anhand der Potsdamer European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) – Studie konnten Faktoren identifiziert werden, die das T2DM-Risiko erhöhen. Das Deutsche Institut für Ernährungsforschung

Potsdam-Rehbrücke (DifE) hat basierend auf dieser Studie den Deutschen Diabetes Risiko Score entwickelt. Es werden 11 Parameter beschrieben, die das T2DM-Risiko positiv oder negativ beeinflussen (139). Neben dem individuellen Habitus, sowie Alkohol-/Zigarettenkonsum und körperlicher Aktivität fließen auch der verzehrte Anteil von rotem Fleisch, Vollkornbrot und Kaffee in die Bewertung mit ein. Dabei scheint der Fleischkonsum das T2DM-Risiko zu erhöhen und der Kaffee- bzw. Vollkornkonsum das T2DM-Risiko günstig zu beeinflussen (140).

Sowohl rotes Fleisch als auch Brot mit niedrigem Ballaststoffanteil sind mit hohem PAI-1- und Fibrinogenmarkern assoziiert, die beide als Risikobiomarker bei der Entwicklung eines T2DM angesehen werden (141). Allerdings ist es nicht die Art der Ernährung alleine aufgrund dessen sich im Verlauf ein T2DM entwickelt. Gefährdet sind vor allem Menschen, die ein genetisches Risikoprofil aufweisen (142). Der Verzehr von rotem Fleisch, Alkohol und frittierten Nahrungsmitteln steigert sowohl die Inzidenz als auch die Prävalenz für die Entwicklung eines MetSy (143,144).

1.6.1 Vollkorn und Getreideballaststoffe

In Studien wurden Zusammenhänge zwischen dem Vollkornkonsum und einer verminderten Inflammation festgestellt. Die Sysdimet-Studie konnte zeigen, dass eine Ernährung mit einer täglichen Einnahme von mindestens 50 % Vollkornprodukten, gemessen am Gesamtverbrauch, das high sensitivity CRP (hsCRP) sinken lässt und somit die Inflammation vermindert (145). Das CRP sinkt bereits nach einer vierwöchigen Intervention (146). Montonen et al. konnten neben einer Reduktion des hsCRP auch eine signifikante Reduktion der gamma-Glutamyltransferase (gammaGT), sowie des TNF- α -Rezeptors feststellen, zwei weitere proinflammatorische Biomarker (147). Auf das HDL, Triglyzeride und das glykierte Hämoglobin (HbA_{1c}) gab es keinen Einfluss (147). Ein Zusammenhang zwischen vollkornreicher Ernährung und der EF, gemessen über die Biomarker VCAM-1, ICAM-1 und E-Selektin konnte dabei nicht festgestellt werden (146,148).

Bei der ausgewogenen Ernährung hat vor allem der Vollkornanteil Einfluss auf die Entstehung eines T2DM. Eine gesunde Ernährung bestehend aus Gemüse, Obst und Vollkorn kann das T2DM-Risiko um 14 % senken, wohingegen der Konsum von rotem bzw. verarbeitetem Fleisch, sowie fettigen Molkereiprodukten und raffiniertem Getreide

das T2DM um 30 % steigern (140). Der Einfluss des Vollkorns in der Entstehung bzw. Prävention des T2DM scheint dabei in der verbesserten Insulinsensitivität zu liegen (149).

In einer Studie, in der die Auswirkungen unterschiedlicher Ballaststoffzusammensetzungen untersucht wurden, hat vor allem die Einnahme von Getreideballaststoffen positiven Einfluss auf das T2DM-Risiko gezeigt (150). Im Vordergrund steht hier der Anteil wasserlöslicher Ballaststoffe, der im Vollkorn bei 25 - 50 % liegt (151). Dieser Anteil hat positiven Einfluss auf die Blutglukose- und die Insulinkonzentration und scheint für die Senkung von Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin verantwortlich zu sein und damit positiven Einfluss auf das kardiovaskuläre Risiko zu nehmen (152,153). Im Rahmen der vollkornreichen Ernährung, vor allem mit einem hohen wasserlöslichen Ballaststoffanteil, konnte der Blutdruck gesenkt werden und die antihypertensive Therapie reduziert oder abgesetzt werden (154).

1.6.2 Koffeinhaltiger Kaffee

Die Wirkung von koffeinhaltigem Kaffee auf die EF wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Es wird von erhöhten Inflammationsmarkern im Plasma und verminderter FMD berichtet. Teilweise konnte keine Assoziation zwischen Koffeingenuss und kardiovaskulärer Erkrankung hergestellt werden. Auch eine Senkung der Inflammationsmarker wird beschrieben. Papamichael et al. haben die FMD an gesunden Probanden gemessen. Die Koffeingruppe hatte eine signifikant niedrigere FMD, mit dem größten Anstieg 60 Minuten nach dem Koffeinkonsum (155). In der Gruppe, die entkoffeinierten Kaffee erhielt, wurde kein Unterschied in der FMD festgestellt (155). Dies zeigt, dass Koffein einen direkten Einfluss auf die EF hat. Bei gesunden Männern und Frauen konnten infolge des Kaffeekonsums von mehr als 200 ml pro Tag erhöhte IL-6-, CRP- und TNF- α -Werte im Blut gemessen werden (156). Eine weitere Studie fand heraus, dass Frauen mit T2DM, die koffeinhaltigen Kaffee konsumierten, niedrigere CRP- und E-Selektin-Konzentrationen hatten (157). Shechter et al. konnten zeigen, dass der CRP-Wert sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Probanden mit kardiovaskulärer Erkrankung 60 Minuten nach Einnahme einer 200 mg (80 mg entsprechen einer Tasse Kaffee) Koffeinkapsel bereits sinkt (158). In der EPIC-Studie konnte kein Zusammenhang zwischen koffeinhaltigem Kaffee und einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen festgestellt werden, ferner fand sich eine Tendenz zur Risikominderung von

T2DM (159). Eine weitere Studie demonstrierte, dass koffeinhaltiger Kaffee weder Einfluss auf die Plasmaglukosekonzentration noch auf die Insulinausschüttung hat (160). Die Kaffeebohnenbestandteile Cafestol und Kahweol erhöhen bei nicht gefiltertem Kaffee den Serumcholesterinspiegel (161). Der Koffeinanteil reduziert die Insulinsensitivität, wobei die Chlorogensäure die Blutglukosekonzentration reduzieren kann (162,163). Der Bestandteil Chlorogensäure lässt den Blutdruck sinken, hat aber keinen Einfluss auf die NO-Produktion und die EF (164). Im Experiment zeigt sich der antioxidative Effekt, indem Chlorogensäure die Expression von Adhäsionsmolekülen, die Translokation von NF- κ B und die Produktion von ROS inhibiert (165). In einer Metaanalyse zeigte sich, dass der Zusammenhang zwischen Kaffee, entkoffeiniertem Kaffee und Koffein und der Inzidenz von T2DM bei Frauen stärker ist als bei Männern. Des Weiteren gab es einen größeren Zusammenhang zwischen der Inzidenz von T2DM und Nicht-Rauchern und Menschen mit einem BMI < 25 kg/m². Die T2DM-Inzidenz sank bei allen drei Varianten der Kaffeezufuhr (166).

1.6.3 Rotes Fleisch

Der Konsum von rotem Fleisch, wie Rind oder Schwein, ist mit einem erhöhten Risiko für MetSy, T2DM und kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert (167). Eine mögliche Erklärung ist der hohe Eisenanteil in rotem Fleisch. Eisen katalysiert Hydroxylradikale, die Proteine, Zellmembranlipide, DNS und RNS angreifen können. Vor allem das Häm-Eisen in rotem Fleisch scheint Einfluss auf das Entstehungsrisiko eines T2DM und auf die Insulinresistenz zu haben (168).

Erhöhter Biomarker für oxidativen Stress, wie gammaGT und CRP, wurden im Zusammenhang mit der Ernährung durch rotes Fleisch gefunden (147,169,170). Somit könnte rotes Fleisch als ein möglicher Risikofaktor für die ED in Frage kommen. Fretts et al. konnten zeigen, dass vor allem verarbeitetes rotes Fleisch das Risiko für T2DM erhöht (171). Das verarbeitete Fleisch enthält viel Nitrosamin, welches einen toxischen Effekt auf die insulinproduzierenden Beta-Zellen hat (172). Zusätzlich enthält es einen hohen Anteil an AGEs, welche oxidativen Stress provozieren können (172). Beides sind Risikofaktoren für die Entwicklung von T2DM und insulinresistenten Zuständen.

Der Einfluss von rotem Fleisch auf die FMD konnte bis jetzt noch nicht geklärt werden.

2 Fragestellung

Gefürchtete Komplikationen des Typ-2-Diabetes mellitus sind die Mikro- und Makroangiopathien. Die Gründe für deren Entstehung sind vielfältig und oftmals miteinander verknüpft. Menschen mit einem Typ-2-Diabetes mellitus bringen häufig neben der Hyperglykämie und der Insulinresistenz Risikofaktoren wie Adipositas, Hypertonie und Dyslipidämie mit. All diese Faktoren stehen im Zusammenhang mit oxidativem Stress und Inflammation, die sich negativ auf die Endothelfunktion auswirken. Es kommt zu endothelialer Dysfunktion und in Folge dessen zu Arteriosklerose.

Lebensstilinterventions-Studien zeigen dabei sowohl einen positiven Effekt auf den Typ-2-Diabetes mellitus als auch auf seine Risikofaktoren. Einen wichtigen Teil bildet dabei die Ernährung. Vor allem die Ernährung reich an Vollkorn und Getreideballaststoffen scheint dabei einen positiven Einfluss auf das Risiko für Typ-2-Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen zu haben. Der Einfluss von Kaffee wird hingegen noch kontrovers diskutiert. Studien berichten sowohl über eine Risikominderung für Typ-2-Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen, als auch von Erhöhung der Inflamationsmarker. Der Verzehr von rotem Fleisch ist mit einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes mellitus und kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert. Die meisten dieser Ernährungsstudien legen dabei den Schwerpunkt auf die Messung von Parametern des oxidativen Stresses. Ein geringer Anteil der Studien zeigt die Auswirkung auf die endotheliale Funktion gemessen als flussmedierte Vasodilatation. In der Diätstudie gilt es zu klären, ob eine vollkorn- und kaffeereiche Ernährung, die den Typ-2-Diabetes mellitus und damit auch das kardiovaskuläre Risikoprofil positiv beeinflusst, einen positiven Einfluss auf die endotheliale Funktion, gemessen als flussmedierte Vasodilatation, haben kann. Im Gegensatz dazu würde eine Ernährung, reich an rotem Fleisch und mit niedrigem Vollkornanteil, mit negativem Einfluss auf den Typ-2-Diabetes mellitus und das kardiovaskuläre Risikoprofil, die endotheliale Funktion, gemessen als flussmedierte Vasodilatation, verschlechtern.

3 Methodik

3.1 Studiendesign

Die Deutsche Diabetes-Diät-Interventions- und Energierestriktions-Testung (DDIET) (Clinicaltrials.gov Registernummer NCT01409330) ist eine randomisierte, prospektive, multizentrische, klinische Studie. Das Primärziel der Studie ist die Erhebung der Änderung der muskulären und hepatischen Insulinsensitivität infolge einer Ernährungsmodifikation. Insgesamt wurden für die Studie 37 Probanden randomisiert eingeschlossen. Jeder Proband durchlief ein Screening, eine zweiwöchige Run-in-Phase, drei Baseline- (BL) Untersuchungstage, die achtwöchige Diät und im Anschluss drei Follow-up- (FU) Untersuchungstage. Die Studie erfolgte entsprechend der Leitlinien guter klinischer Praxis und im Einklang mit der Deklaration von Helsinki. Die teilnehmenden Probanden gaben nach einer umfassenden Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Ein positives Ethikvotum (Studennummer 3521) der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf liegt vor. Untersuchungen, die in der DDIET-Studie durchgeführt wurden, sind innerhalb der Deutschen Diabetes Center-Studie des Deutschen Diabetes-Zentrums bereits durch die Ethikkommission genehmigt (Studennummer 2478). Erste Ergebnisse zur DDIET-Studie bezüglich der Insulinsensitivität sowie der autonomen kardialen Funktion sind bereits publiziert (173,174). Daten und Analysen der endothelialen Funktion bzw. FMD-Messung, die im Rahmen der DDIET-Studie durchgeführt wurden, sind bisher nicht veröffentlicht.

3.1.1 Patientenkollektiv

In die DDIET-Studie wurden 37 Probanden randomisiert eingeschlossen. Rekrutiert wurden männliche und weibliche Probanden zwischen dem 18. und dem 69. Lj. mit einem T2DM, der maximal seit fünf Jahren bestand. Der HbA_{1c} - Wert durfte zwischen 5,5 – 9,0 % liegen. Der BMI sollte 30 - 37 kg/m² betragen. Eine Medikation mit Metformin und/oder Acarbose war erlaubt. Ausschlusskriterien waren akute Infektionen, Anämien, Tumorleiden, Autoimmunkrankheiten, Immundefekte (inklusive Humanes Immundefizienz-Virus (HIV) und erworbenes Immundefektsyndrom (AIDS)), psychische Erkrankungen sowie eine Schwangerschaft. Es durften keine Kontraindikationen gegen die Bestandteile der Ernährung bestehen. Innerhalb der multizentrischen Studie wurde die

FMD-Messung nur im Deutschen Diabetes-Zentrum in Düsseldorf durchgeführt, weshalb für die Auswertung der FMD-Messung insgesamt 25 Probanden zur Verfügung standen.

3.1.2 Zeitlicher Ablauf der Studie

Zunächst erfolgte ein Screening, das dazu diente die Eignung des Probanden für die Studienteilnahme festzustellen. Im Screening wurden neben einer ausführlichen Anamnese und körperlichen Untersuchung auch Blutuntersuchungen und ein Elektrokardiogramm (EKG) durchgeführt. Konnte der Proband eingeschlossen werden, erfolgte die zweiwöchige Run-in-Phase vor den BL-Untersuchungen und dem Diätbeginn. Während dieser Zeit kamen die Probanden zur Bestimmung der anthropometrischen Daten, zur Blut- und Urinentnahme sowie zur Abgabe von selbständig ausgefüllten Ernährungsprotokollen und dem International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) -Bogen. Der IPAQ-Bogen wurde dabei immer für eine Woche ausgefüllt. Zu den anthropometrischen Daten gehörten die Körpergröße (in m), das Körpergewicht (in kg, Personenwaage von Seca® Modell 920, Fabr. Nr. 905740, seca AG, Reinach, Schweiz), Taillen- und Hüftumfang (in cm) und der Blutdruck (in mmHg, Blutdruckmanschette und -gerät: OMRON 705 IT, REF 40 15672 10146, OMRON Medizintechnik, Mannheim, Deutschland). Die Blut- und Urinentnahmen dienten zur Untersuchung der Biomarker für Vollkorn, Kaffee und Fleisch. Der Vollkornmetabolit Alkylresorcinol sowie die Kaffeeemetabolite Serumkoffein, Methylxanthine, Chlorogensäure und Kaffeesäuremetabolite wurden in Ethylendiamintetraacetat (EDTA) -Plasma und Serum mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung untersucht (160,175). Im 24-Stunden-Sammelurin wurden die Biomarker für Fleisch, das 1- und 3-Methylhistidin, bestimmt (176). Nach der zweiwöchigen Run-in-Phase erfolgten drei BL- Untersuchungstage. Der genaue Untersuchungsablauf ist in Abb. 7 ersichtlich. Zur Beurteilung der Insulinsensitivität wurde ein standardisierter hyperinsulinämisch-normoglykämischer Clamp nach dem Botnia-Protokoll durchgeführt (177). Die Insulinsekretion wurde mittels Mixed-Meal Toleranz-Test (MMTT), intravenösem Glukosetoleranztest (IVGTT) und Glukagontest ermittelt (178,179). Die Untersuchungen wurden während der FU-Untersuchungstage nach der achtwöchigen Ernährungsintervention in der gleichen Reihenfolge wie zu den BL-Untersuchungstagen wiederholt.

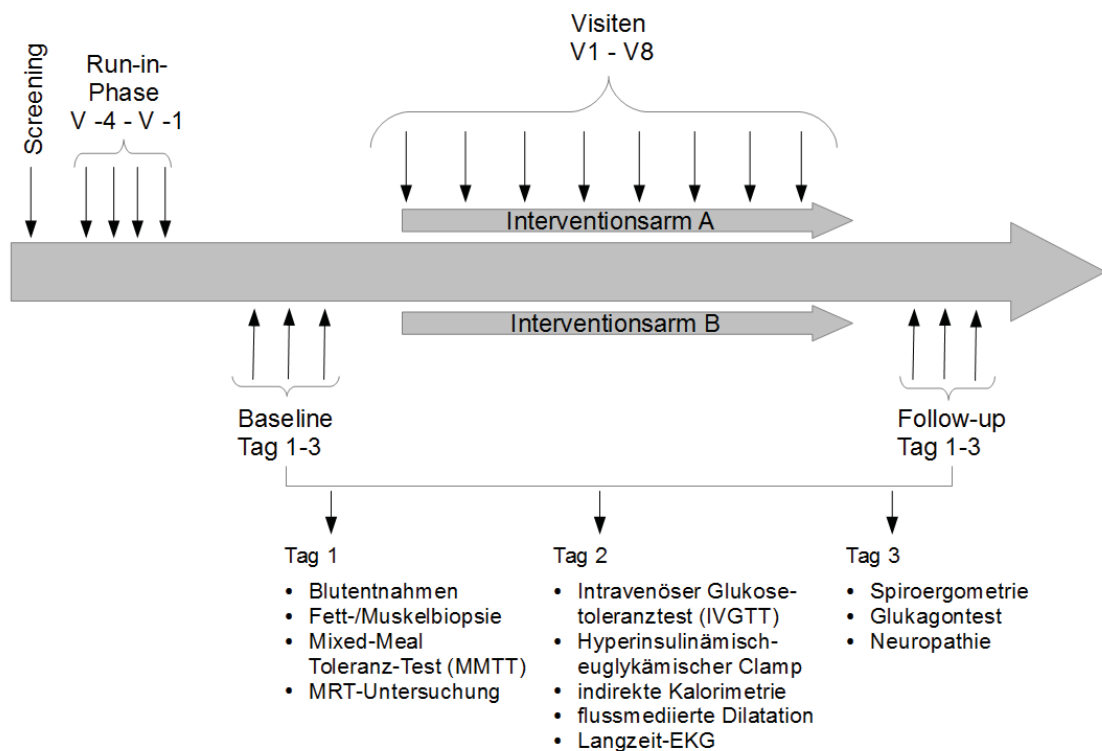


Abb. 7: Zeitlicher Ablauf der DDIET-Studie

Beide Interventionsarme erhielten eine Kalorienrestriktion von 300 kcal und eine Anpassung der prozentualen Verteilung von KH : F : EW (50 : 30 : 20). Interventionsarm A erhielt 30 – 50 g Getreideballaststoffe und mindestens 5 Tassen koffeinhaltigen Kaffee pro Tag. Nicht konsumiert werden durfte rotes Fleisch. Interventionsarm B konsumierte mindestens 150 g rotes Fleisch und durfte nicht mehr als 10 g Ballaststoffe aus weißem Mehl pro Tag zu sich nehmen. Der Konsum von Kaffee oder anderen koffeinhaltigen Produkten war nicht erlaubt.

EKG: Elektrokardiogramm, EW: Eiweiß; F: Fett; g: Gramm; kcal: Kalorien; KH: Kohlenhydrate, MRT: Magnetresonanztomographie

3.1.3 Die Ernährungsintervention

Im Rahmen der Ernährungsintervention wurde die Interventionsgruppe (IG; Interventionsarm A) von der Kontrollgruppe (KG; Interventionsarm B) unterschieden. Zunächst sollten die Probanden während ihrer Run-in-Phase ihre Ernährung genau protokollieren. Alle Nahrungsmittel, die verzehrt wurden, mussten vorher abgewogen und möglichst genau beschrieben werden (z.B. Marke, Fettanteil, Sorte). Dabei sollten mindestens zwei Wochentage und ein Wochenendtag protokolliert werden. Als Waage wurde während der gesamten Zeit die Design - Küchenwaage (KS65, Beurer GmbH, Ulm,

Deutschland) verwendet. Anhand der eigenständig angefertigten Ernährungsprotokolle wurden mit der Ernährungssoftware PRODI® 5.8 (Nutri-Science GmbH, Hausach, Deutschland) der Tagesenergiegehalt ausgerechnet. Die Berechnungen mittels PRODI® beinhalteten die aufgenommene Energiemenge in kcal, sowie die prozentuale Verteilung von KH, Fett (F) und Eiweiß (EW). Aus diesen Angaben konnte der Mittelwert für die individuelle Tagesenergiezufuhr in kcal berechnet werden. Von diesem Mittelwert wurden 300 kcal pro Tag an Energiereduktion für die neuen Ernährungspläne abgezogen. Mit der reduzierten Kalorienangabe wurden dann mittels dem Programm PRODI® neue individuelle Ernährungspläne für die Probanden erstellt. Die Verteilung von KH, F und EW wurde dabei unter Berücksichtigung der AWMF-Leitlinien für Diabetesberatung und Adipositas therapie und den Empfehlungen der DDG, der EASD und der ADA auf 50 % : 30 % : 20 % (KH : F : EW) festgelegt (180 -183). Die Ernährungspläne der IG beinhalteten die tägliche Einnahme von 30 - 50 g Getreideballaststoffen in Form von Vollkornprodukten und mindestens fünf Tassen Kaffee. Eine Tasse Kaffee sollte 7 - 8 g Kaffeepulver enthalten. Erlaubt waren des Weiteren helles Fleisch in Form von Hähnchen, Pute oder auch Fisch, sowie Alkohol. Die Ernährungspläne durften kein rotes Fleisch oder Produkte mit Mehl enthalten, welches einen niedrigen Ausmahlungsgrad (z.B. Typ E405) besitzt. Die Ernährungspläne der KG beinhalteten mindestens 150 g rotes Fleisch pro Tag. Es sollten nur Getreideprodukte mit niedrig ausgemahlenem Mehl verwendet werden, wobei der Ballaststoffanteil ≤ 10 g pro Tag bleiben sollte. Zusätzlich verzichtete die KG auf Koffein und Alkohol. Diese Ernährungspläne mussten von den Probanden beider Gruppen für acht Wochen eingehalten werden.

3.1.4 Wöchentliche Visiten

Während der Diätphase wurden die Probanden wöchentlich nüchtern zur Messung der anthropometrischen Daten und zur Blut- und Urinentnahme einbestellt. Der vom Probanden wöchentlich ausgefüllte IPAQ-Bogen wurde abgegeben und der Proband erhielt einen neuen für die kommende Woche. Das Studienprotokoll sah acht Visiten vor. Zu den anthropometrischen Messungen gehörten, wie in der Run-in-Phase auch, das Körpergewicht, Taillen- und Hüftumfang und der Blutdruck. Der Blutdruck wurde am rechten Oberarm gemessen und je nach Oberarmumfang wurde für einen Armumfang zwischen 22,0 – 31,9 Zentimeter (cm) die Manschettengröße 14 x 48 cm und bei einem Armumfang zwischen 32 – 42 cm die Manschettengröße 16 x 65 cm gewählt. Jede Woche

wurden die Ernährungspläne dahingehend mit dem Probanden besprochen, ob Nahrungsmittel ausgetauscht oder weitere Pläne erstellt werden sollten. Natürlich wurde auch darauf geachtet, dass die Nahrungsmittel der Pläne vollständig von den Probanden verzehrt wurden. Die Probanden brachten zu jeder Visite drei Urinvacutainer (BD Vacutainer®, REF 364915, BD Vacutainer Systems Preanalytik Solutions, Franklin Lakes, USA) mit und bekamen drei neue leere Urinvacutainer für die kommende Woche mit. In die Urinvacutainer wurde ein Aliquot des über 24 Stunden gesammelten Urins abgefüllt. Die Urinsammlung begann morgens, nachdem die erste Portion Urin in die Toilette verworfen wurde. Danach musste jeder Urin der kommenden 24 Stunden, einschließlich der ersten Urinmenge am nächsten Morgen, in ein Sammelgefäß (Weithalsflaschen mit Schraubverschluss (Nalgene®, 2000 ml, REF 215-7361, Nalge Nunc International Corporation, NY, USA) aufgefangen werden. Die Probanden wurden in der Run-in-Phase angeleitet, den Urin in die Vacutainer mittels einer Urin-Transfereinheit (Vacutainer®, REF 364940, BD Vacutainer Systems Preanalytik Solutions, Franklin Lakes, USA) abzufüllen, brachten diese zur Visite mit und teilten die Sammelmenge (in Milliliter (ml)) mit. Die Vacutainer wurden bei –20 Grad Celsius (°C) eingefroren. Im weiteren Verlauf wurde der Sammelurin im Labor weiter verarbeitet und auf die Menge an 1- und 3-Methylhistidin, einem Biomarker für Fleischkonsum, untersucht. Als weiterer Bestandteil der Visiten folgte zum Schluss noch die Blutentnahme. Zu jeder Visite wurden 5 ml Serum (Serumröhrchen von BD Vacutainer® SST™ II Advance Plus Collection Blood Tubes, REF 367955, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK) und 3,5 ml EDTA-Blut (EDTA Blutbild-Röhrchen von BD Vacutainer® K2E 5,4 mg, Plus Blood Collection Tubes, REF 368499, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK) entnommen. Dafür wurde eine Butterflynadel (Venofix® Safety, G21, REF 4056520-01, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland) benutzt. Zusätzlich zu den bereits genannten Blutentnahmen, wurden zu Visite 4 weitere 3,5 ml EDTA-Blut für die Kontrolle des Hämoglobingehaltes, Hämatokrits und des Ferritins, sowie zu Visite 7 2,7 ml Citrat-Blut (Citrat-Röhrchen von BD Vacutainer® 9NCO.129M, REF 353079, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK) für die Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) und des Quick-Wertes entnommen. Das Blut der wöchentlichen Blutabnahmen wurde sofort versorgt, indem die Serum- und EDTA-Röhrchen bei 4 °C und 2800 U/min für 10 Minuten zentrifugiert (Zentrifuge von Sigma 3K12, B. Braun AG Melsungen, Melsungen,

Deutschland) wurden. Von dem Serumplasma wurden jeweils 1 ml auf zwei Kryoröhrchen für Blutproben (Cryovial® 2,0 ml, frei stehend, steril, Art.Nr. 710513, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland) verteilt. Von dem EDTA-Plasma wurden jeweils 0,5 ml auf zwei Kryoröhrchen aufgeteilt. Je ein Kryoröhrchen mit Serum und EDTA-Plasma wurden bei -20 °C und bei -80 °C eingefroren. Das in den Kryoröhrchen gefrorene Material wurde zur weiteren Verarbeitung in den Laboren auf Biomarker für Koffein und Vollkorn untersucht und diente als Kontrolle für die stattgehabte Diät des Probanden.

3.2 Duplexsonographische Messung der endothelialen Funktion

Um eine Aussage über die EF zu treffen wurde nicht-invasiv die FMD mittels Duplexsonographie gemessen. Die Messung der FMD erfolgte jeweils an Tag 2 der BL- und der FU-Untersuchungstage zwischen 7:00 und 8:00 Uhr morgens. Da die FMD-Messung im Rahmen dieser Studie nur im Deutschen Diabetes-Zentrum in Düsseldorf durchgeführt wurde, konnten auch nur die Probanden in die Analyse aufgenommen werden, die in Düsseldorf in die Studie eingeschlossen wurden.

3.2.1 Untersuchungsvorbereitungen

Für die Untersuchung musste gewährleistet sein, dass der Proband seit mindestens acht Stunden nüchtern war, das heißt er durfte weder gegessen noch getrunken haben. Dazu zählten neben den festen Nahrungsbestandteilen alle Flüssigkeiten inklusive Wasser, sowie nahrungsergänzende Präparate und Rauchen. Sportliche Betätigung sollte für mindestens sechs Stunden ausgesetzt worden sein. Blutdrucksenkende Medikamente sollten, wenn gesundheitlich unbedenklich, seit drei Tagen pausiert sein. Der Proband wurde in einen vorbereiteten, ruhigen Raum mit einer Raumtemperatur von konstanten 22 °C in Rückenlage auf eine Liege positioniert. Es musste darauf geachtet werden, dass der Proband sich in seiner Liegeposition wohlfühlte. Eventuell mussten unterstützend Kissen, Decken oder Armpolster individuell dem Probanden angeboten werden. Während der gesamten Untersuchung musste gewährleistet sein, dass der Proband nicht aufstand, seine Lage veränderte oder redete. Durch die Lageveränderung hätte es zu einer Veränderung der Messbedingungen durch Blutdruckanstieg kommen können. Damit wäre eine exakte Messung des Gefäßdurchmessers nicht mehr gewährleistet gewesen. Wenn möglich sollte dicke beengende Oberbekleidung ausgezogen werden, so dass der rechte Arm frei zugänglich für die Anlage der Blutdruckmanschette und die Messung selbst war. Ein

Auskühlen des Probanden konnte durch das Reichen einer Decke verhindert werden. War der Proband bequem platziert, wurden die selbstklebenden EKG-Elektroden (Blue-Sensor, Ambu®, Bad Nauheim, Deutschland) angebracht. Die Klebeelektroden wurden wie in Abb. 8 dargestellt auf den Thorax des Probanden geklebt. War durch starke Körperbehaarung eine gute Haftung der Elektroden nicht gewährleistet, wurde der Bereich für die Elektroden mit einem Einmalrasierer enthaart. Die Blutdruckmanschette wurde um den rechten proximalen Unterarm platziert, mit dem oberen Ende ca. 2 cm vom Olecranon entfernt.

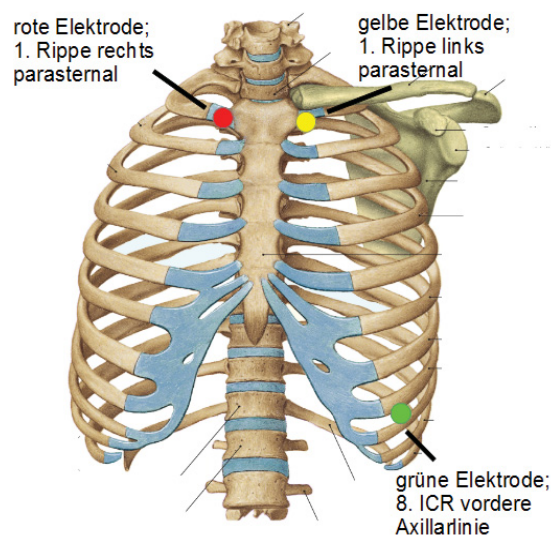


Abb. 8: Schema zur Platzierung der EKG-Elektroden [modifiziert nach Putz & Pabst, Sobotta, 22. Auflage, Elsevier, 2007, mit freundlicher Genehmigung des Elsevier-Verlags]

3.2.2 Durchführung der Messung

Bevor mit der Messung begonnen wurde, sollte der Proband für mindestens 20 Minuten ruhig gelegen haben. Der Untersucher sollte sich vergewissert haben, dass alle Materialien bereit lagen und für die nächsten 30 Minuten eine ungestörte und ruhige Atmosphäre vorherrschte. Für die FMD-Messung wurde das Ultraschallgerät Sono EnVisor C HD der Firma Philips® (Hamburg, Deutschland) mit dem hochauflösenden Linearschallkopf (5-12 Hz, Aperturlänge 35 mm) verwendet. Um die korrekte Stelle für die Messung aufzufinden, wurde der rechte Arm etwas vom Körper abgewinkelt, wobei die Handfläche nach oben zeigte. Der Schallkopf wurde mit Kontaktgel versehen und im Bereich des rechten distalen medialen Oberarmes aufgesetzt. Die A. brachialis wurde mit dem Ultraschallkopf im Längsschnitt dargestellt. Ein geeigneter Gefäßabschnitt zeichnete sich durch ein freies Gefäßlumen und eine gute Abgrenzung von der Intima (I-Linie) zur Media (M-Linie) aus (Abb. 9).

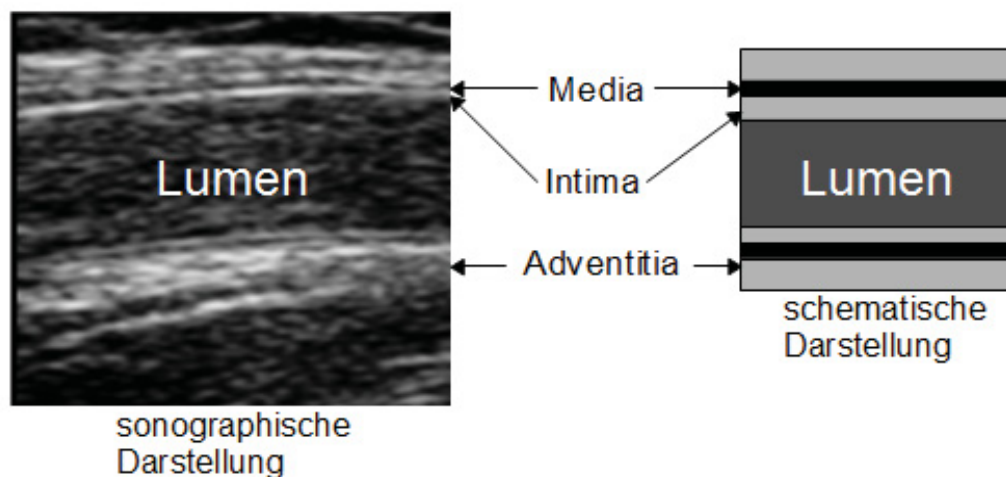


Abb. 9: Sonographische und schematische Darstellung der Intima-Media-Grenze

In dem Gefäßabschnitt sollten keine abzweigenden Gefäße vorhanden sein. Auf dem Monitor sollte mindestens eine 1 cm lange Gefäßstrecke am Stück darstellbar sein. Nachdem die korrekte Stelle gefunden war, wurde zunächst eine Aufzeichnung des Gefäßdiameters und der Flussgeschwindigkeit (cm/s) der A. brachialis in Ruhe gemacht. Eine Bildschleife umfasste dabei 6 - 10 Sekunden (s). Nachdem die Aufzeichnungen in Ruhe abgeschlossen waren, wurde die Blutdruckmanschette auf konstante 200 mmHg über fünf Minuten aufgepumpt. Die Luft wurde nach fünf Minuten abgelassen und damit der Blutstau aufgehoben. Jeweils 15 s (Stress) und 105 – 120 s (Stress 2) postischämisch wurde die Aufnahme der Flussgeschwindigkeit aufgezeichnet. Zwischen diesen beiden Aufnahmen entstand 90 s postischämisch die Bildschleife des Gefäßdiameters. Zur Bestimmung der NMD wurde eine weitere Messung unter der Verwendung von Nitrolingual®-Pumpspray (Dosierung 1 Hub = 0,4 mg Glyzerintrinitrat; PZN: 1123207, G. Pohl-Boskamp GmbH & Co. KG, Hohenlockstedt, Deutschland) gemacht. Zwischen diesen beiden Messungen musste mindestens eine Pause von zehn Minuten eingehalten werden, damit sich das Gefäß regenerieren konnte. Zunächst wurde auch hier eine Bildschleife des Gefäßdiameters in Ruhe aufgezeichnet. Danach bekamen die Probanden einen Hub Nitrolingual® sublingual verabreicht. Vier Minuten nach Nitrolingual®-Gabe erfolgte die letzte Bildschleife. Um eine Verschiebung des Ultraschallkopfes auf dem Oberarm während der Messungen zu vermeiden, wurde die Messstelle mit einem wasserfesten Stift markiert. Während den Messungen durften sowohl der Schallkopf als auch der Arm in ihrer Lage nicht verändert werden. Bei jeder Bildschleife wurde das EKG im Monitor mit angezeigt und während der Messung gespeichert. Die zeitliche Abfolge ist in Abb. 10 dargestellt.

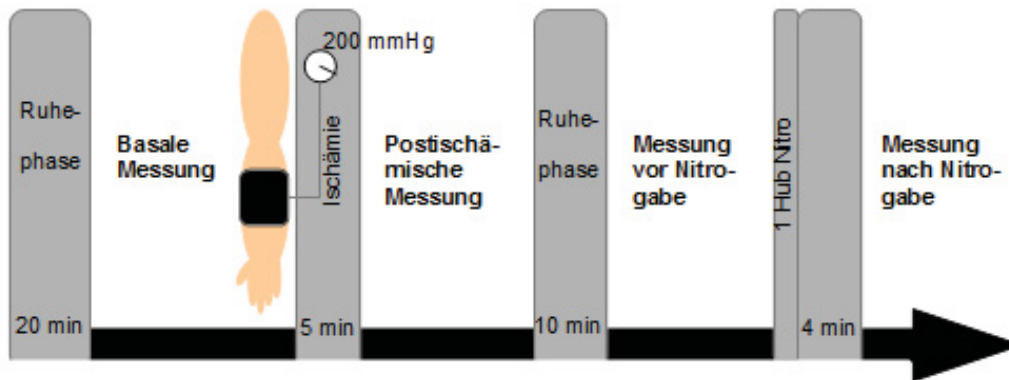


Abb. 10: Zeitlicher Ablauf der FMD-Messung
min: Minute, mmHG: Millimeter Quecksilbersäule

3.2.3 Auswertung der Messung

Nach der Messung lagen vier Bildschleifen mit dem Gefäßdiameter und drei Bilder mit der Flussgeschwindigkeit vor, die mit dem Programm Brachial Analyzer von dem Vascular Research Tool der Firma Medical Imaging Applications (Coralville, Iowa, USA) ausgewertet wurden.

3.2.3.1 Auswertung der Bildschleifen des Gefäßdiameters

Nach Aufruf der ersten Bildschleife wurde zunächst die Pixel-Kalibrierung in vertikaler und horizontaler Orientierung vorgenommen. Die Kalibration war auf zehn Einheiten festgelegt. Danach wurde in einem Gefäßabschnitt die Region of Interest (ROI) als Rahmen in einem Bereich platziert, in dem die Intima-Media-Grenze der Gefäßwand über mindestens einen cm gut zu differenzieren war. Die ROI sollte dabei zwischen 8 - 9 mm liegen. In diesem Größenbereich waren beide Gefäßwände (ultraschallkopfnah und -fern) gut eingeschlossen, aber das Gefäß umgebende Gewebe wurde größtmöglich aus dem Rahmen herausgenommen. Der Gefäßdiameter wurde als die Strecke zwischen der proximalen und der distalen I-Linie definiert, da sich in diesem Bereich das Endothel befindet (Abb. 11).

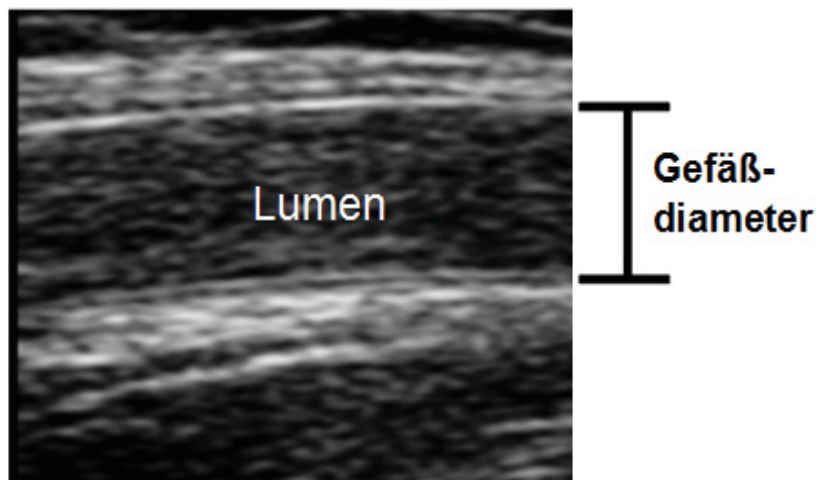


Abb. 11: Darstellung des Gefäßdiameters mittels Sonographie

Im Anschluss wurde die automatische Analyse der kompletten Bildschleife durch das Programm gestartet. Die drei weiteren Bildschleifen wurden in gleicher Weise analysiert. Dabei musste darauf geachtet werden, dass möglichst der gleiche Gefäßabschnitt in allen vier Bildschleifen gewählt wurde.

3.2.3.2 Auswertung der Flussgeschwindigkeit

Neben der Messung des Gefäßdiameters wurde auch die Flussgeschwindigkeit in Ruhe, sowie postischämisch nach 15 und 105 – 120 s gemessen und als Standbild festgehalten. Diese Flussgeschwindigkeiten wurden in das Messprotokoll eingetragen.

3.2.3.3 Beurteilung der Bildqualität

Neben der eigentlichen Analyse der Bildschleifen wurden diese auch auf ihre Qualität hin geprüft. Dies geschah für die Ruheaufnahmen vor der Hyperämie und vor der Nitro-Gabe. Geprüft wurden:

1. Liegt ein echofreies Gefäßlumen vor und ist die Intima deutlich abgrenzbar ?
 1 = sehr gut; 1,5 = sehr gut bis gut; 2 = gut; 2,5 = akzeptabel; 3 = schlecht

2. Ist die Intima-Media-Grenze über mindestens 1 cm ununterbrochen gut darstellbar ?
1 = sehr gut; 1,5 = sehr gut bis gut; 2 = gut; 2,5 = akzeptabel; 3 = schlecht
3. Wie viele auswertbare Einzelbilder (Frames in %) kann das Programm aus der Bildschleife darstellen?
1 = > 90 %; 1,5 = 80 - 89 %; 2 = 70 - 79 %; 2,5 = 60 - 69 %; 3 = < 59 %
4. Aus wie vielen einzelnen Diametern kann der Mittelwert berechnet werden?
1 ≥ 4; 1,5 = 3; 2 = 2; 2,5 = 1; 3 = 0.

Die einzelnen Werte wurden in ein Messprotokoll eingetragen und es ergab sich daraus ein Sammelwert.

3.2.4 Berechnung des FMD-Wertes

Nachdem die Bildschleife komplett von dem Programm analysiert war, wurden möglichst vier Zeitpunkte während der Analyse herausgegriffen, in denen der minimalste Gefäßdiameter angezeigt wurde. Dies war während der Diastole der Fall, die sich in der EKG-Ableitung in der Mitte der ST-Strecke darstellte. Diese wurden in ein schon bestehendes Messprotokoll zur Endothelfunktion eingetragen. Mit vier Gefäßdiametern wurde zunächst der Mittelwert nach Formel (1) berechnet.

$$(1) \quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Diese Mittelwert-Berechnung wurde für alle vier Bildschleifen durchgeführt. Es ergab sich jeweils ein Mittelwert der Gefäßdiameter in Ruhe, nach Hyperämie, vor Nitro-Gabe und nach Nitro-Gabe. Neben den Mittelwerten wurden zusätzlich die Standardabweichung und der Varianzkoeffizient, wie in den Formeln (2) und (3) dargestellt, bestimmt.

$$(2) \quad s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$(3) \quad CV = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

Die Berechnung des FMD-Wertes erfolgte mit folgender Formel:

$$FMD = \left(\frac{\text{diast. Gefäßdurchmesser nach Hyperämie} - \text{diast. Gefäßdurchmesser bei Ruhe}}{\text{diast. Gefäßdurchmesser bei Ruhe}} \right) \cdot 100$$

Für die Gefäßdurchmesser wurden die jeweiligen vorher bestimmten Mittelwerte

eingesetzt. Der berechnete FMD-Wert wurde in Prozent angegeben. Neben der FMD wurde auch der NMD-Wert berechnet. Die Formel hierfür lautete:

$$NMD = \left(\frac{\text{diast. Gefäßdurchmesser nach Nitro} - \text{diast. Gefäßdurchmesser vor Nitro}}{\text{diast. Gefäßdurchmesser vor Nitro}} \right) \cdot 100$$

Auch hier wurden die jeweiligen Mittelwerte der Gefäßdurchmesser in die Formel eingesetzt und der NMD-Wert in Prozent angegeben.

3.3 Mathematisch-statistische Methode

Die klinischen Charakteristika zum Zeitpunkt BL wurden, soweit nicht anders angegeben, als Mittelwert mit Standardabweichung berechnet und in Text, Tabellen und Diagrammen als Mittelwert $\pm$ SD angegeben. Log-normalverteilte Daten wurden in Tabelle 2 als Median (Q1, Q3) angegeben und vor der statistischen Berechnung logarithmiert. Dazu zählen HDL, LDL, TAGs, Gesamtcholesterin, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), gammaGT, hsCRP, Ferritin, Eisen, M-Wert und C-Peptid. Vergleiche innerhalb der Diätgruppen erfolgte mittels gepaartem Student-t-Test. Vergleiche zwischen den Diätgruppen zum Zeitpunkt BL wurden mittels ungepaartem Student-t-Test berechnet. Vergleiche zwischen den Diätgruppen zum Zeitpunkt FU erfolgten mittels Kovarianzanalyse (ANCOVA).

Es erfolgte eine Adjustierung der FMD- und NMD-Werte FU (FMD_FU; NMD_FU) für Alter, Geschlecht, BMI Baseline (BMI_BL), M-Wert Baseline (M-Wert_BL) und C-Peptid Baseline (C-Peptid_BL) im Rahmen der ANCOVA. Die Änderung (Δ) der FMD- und NMD-Messwerte vor und nach der Diät wurden auf Korrelationen mit einer Änderung des M-Wertes und der Insulinsekretion (C-Peptid) vor und nach der Ernährungsintervention geprüft. Aufgrund einer zu geringen Probandenzahl in den beiden Interventionsarmen erfolgte eine multivariate, lineare Regressionsanalyse der gesamten Probandengruppe mit FMD und NMD als abhängige Variablen und Alter, Geschlecht, sowie Δ Blutdruck systolisch (RRsyst), Δ BMI, Δ M-Wert und Δ C-Peptid als unabhängige Variablen. Die Auswertungen wurden mit der Software SAS 9.3 (SAS Institute GmbH, Heidelberg, Deutschland) durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

4 Ergebnis

4.1 Studienpopulation

Insgesamt wurden im Rahmen der DDIET-Studie 216 Probanden kontaktiert, wovon 90 die Einschlusskriterien nicht erfüllten, 33 die Teilnahme abgelehnt haben und 34 wegen anderer Gründe ausgeschlossen wurden. 59 verbleibende Probanden wurden insgesamt in die DDIET-Studie eingeschlossen (30 IG; 29 KG). Davon konnten 22 Probanden (13 IG; neun KG) die Studie nicht beenden. Für die Messung der FMD konnten 25 Probanden (11 IG; 14 KG) ausgewertet werden. Neun Probanden (vier IG; fünf KG) wurden in anderen Zentren (Heidelberg; Berlin) untersucht, die keine FMD-Messung durchführen, drei Probanden (zwei IG; ein KG) konnten wegen anderer Gründe nicht ausgewertet werden (Abb. 12).

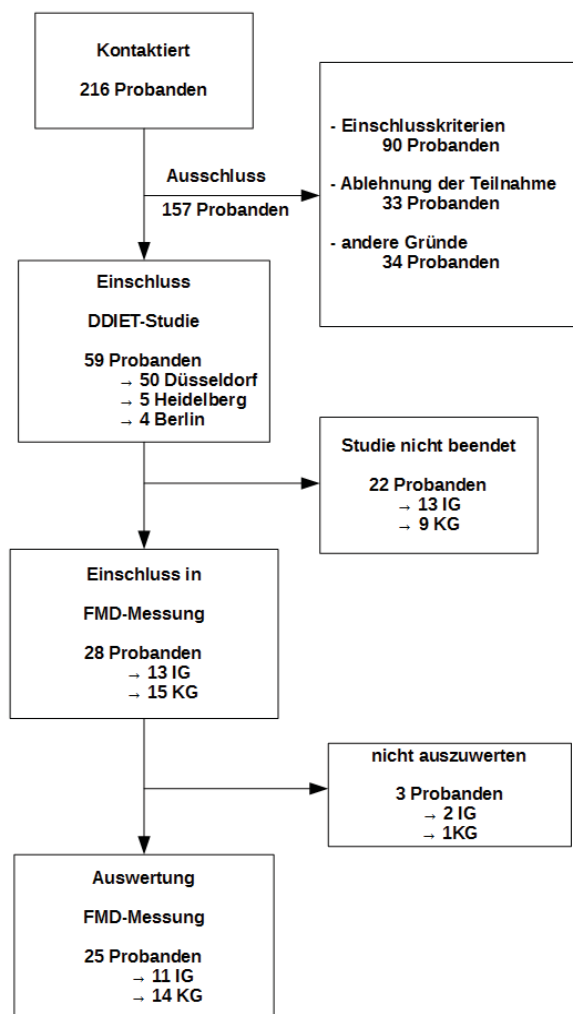


Abb. 12: Flowchart Studienpopulation

FMD: flussmedierte Dilatation, IG: Interventionsgruppe, KG: Kontrollgruppe

4.2 Probandencharakteristika

In der IG befanden sich insgesamt 11 Probanden, fünf männliche und sechs weibliche, deren Durchschnittsalter 53 Jahre betrug. Im Mittel war vor 2,3 Jahren ein T2DM diagnostiziert. Der mittlere HbA_{1c} betrug 6,5 % und die mittlere Nüchtern-Blutglukose 119 mg/dl. Neun Probanden nahmen Metformin ein.

<i>Probandencharakteristika</i>	<i>IG</i>	<i>KG</i>
Anzahl (m/w)	11 (5/6)	14 (8/6)
Alter (Jahre)	53±6,4	54±10,5
Diabetesdauer (Jahre)	2,3±1,5	1,5±1,1
Metformin	9	10
BMI (kg/m ²)	37±4,2	35,3±4,8
Taillenumfang (cm)	117±12,4	114±12,4
Hüftumfang (cm)	119±11	114±13
RR systolisch (mmHg)	134±13	138±14
RR diastolisch (mmHg)	87±10	87±8
HbA _{1c} (%)	6,4±0,5	6,4±0,8
Nüchtern-Blutzucker (mg/dl)	119±8	119±38
M-Wert (mg*kg ⁻¹ *min ⁻¹)	4,7 (3,9;5,9)	5,0 (3,7;7,0)
C-Peptid (ng/ml) *	0,7 (0,6;0,8)	0,6 (0,4;0,6)
HDL (mg/dl)	48 (40;65)	44,5 (41;55)
LDL (mg/dl)	116 (103;153)	134 (101;155)
Triglyceride (mg/dl)	133 (115;149)	145 (113;292)
Gesamtcholesterin (mg/dl)	204 (166;221)	215 (194;234)

Tab. 2: Probandencharakteristika

BMI: Body Mass Index; gammaGT: Gamma-Glutamyl-Transferase; GOT: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase; HDL: high density Lipoprotein; IG: Interventionsgruppe; KG: Kontrollgruppe; LDL: low density Lipoprotein; RR: Blutdruck nach Riva Rocci

Mittelwert±SD; Median (Q1;Q3)

* $p = 0,02$

In der KG befanden sich 14 Probanden, acht männliche und sechs weibliche, deren Durchschnittsalter bei 54 Jahren lag. Vor circa 1,5 Jahren wurde der T2DM diagnostiziert. Der mittlere HbA_{1c} betrug 6,5 % und die Nüchtern-Blutglukose 120 mg/dl. Zehn Probanden nahmen Metformin ein.

In den anthropometrischen Messungen und den Laborparametern zeigten die beiden Ernährungsgruppen keine Unterschiede zu Beginn der Ernährungsintervention. Eine Ausnahme bildete das Nüchtern-C-Peptid, welches bei der Kontrollgruppe geringer war ($p = 0,02$) (Tab. 2).

4.3 Veränderungen nach der Ernährungsintervention

Über den gesamten Zeitraum der Ernährungsintervention von acht Wochen wurden anthropometrische Daten, Laborparameter und Ernährungskomponenten dokumentiert. In allen drei Bereichen kam es im Rahmen der Ernährungsintervention zu Veränderungen.

4.3.1 Anthropometrische Messungen

Die IG startete mit einem Durchschnittsgewicht von 110 ± 20 kg, die KG mit einem Gewicht von 105 ± 16 kg. Während der Diätintervention wurde eine signifikante Gewichtsreduktion [95% Konfidenzintervall KI] in beiden Gruppen von 7 % (IG $[-11,24; -4,7]$, $p < 0,0003$; KG $[-9,8; -5,9]$, $p = 0,0001$) festgestellt. Zu Beginn betrug der BMI in der IG $37,0 \pm 4,2$ kg/m² und in der KG $35,3 \pm 4,8$ kg/m². Die durchschnittliche signifikante Reduktion des BMI in beiden Gruppen betrug 7 % (IG $[-3,6; -1,9]$, $p < 0,0001$; KG $[-7,4; -0,6]$, $p < 0,0001$). Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen nach der Diät ($p = 0,2$). Der Taillen- bzw. Hüftumfang betrug in der IG als Mittelwert $117 \pm 12,4$ cm bzw. 119 ± 11 cm und in der KG durchschnittlich $114 \pm 12,4$ cm bzw. 114 ± 13 cm. Der Taillen- bzw. Hüftumfang verminderte sich in beiden Gruppen um 5 bzw. 4 % (IG $[-9,5; -2,5]$, $p < 0,004$; $[-8,3; -1,3]$, $p = 0,01$; KG $[-8,7; -3,6]$, $p = 0,0002$; $[-8,6; 0,2]$, $p = 0,06$). Der systolische und diastolische Blutdruck betrug zu Beginn der Diät in der IG 134 ± 13 mmHg bzw. 87 ± 10 mmHg und in der KG 138 ± 14 mmHg bzw. 87 ± 8 mmHg. Nach der Diät gab es keine signifikante Veränderung. Der systolische und diastolische Blutdruck in der IG war um 0,7 % $[-10,2; 12,0]$ ($p = 0,9$) bzw. 3 % $[-7,1; 12,2]$ ($p = 0,6$) gestiegen und in der KG um 1,5 % $[-10,7; 5,9]$ ($p = 0,5$) bzw. 5 % $[-8,8; 0,5]$ ($p = 0,08$) gesunken (Tab. 3). Nach der Diätintervention gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Interventions- und

der Kontrollgruppe für Δ RRsyst ($p = 0,03$), welcher für Alter ($p = 0,007$), Geschlecht ($p = 0,37$) und BMI ($p = 0,5$) adjustiert wurde.

	<i>IG^a</i>	<i>p-Wert</i>	<i>KG^a</i>	<i>p-Wert</i>	<i>Mittelwert-Differenz^b</i>	<i>p-Wert</i>
<i>Gewicht (kg)[%]</i>	-8 [-7]	0,0003	-7,8 [-7]	<0,0001	-0,2	0,5
<i>BMI (kg/m²)[%]</i>	-2,7 [-7]	<0,0001	-2,6 [-7]	<0,0001	-0,1	0,3
<i>Taillenumfang (cm)[%]</i>	-5,9 [-5]	0,004	-5,8 [-5]	0,0002	-0,1	0,5
<i>Hüftumfang (cm)[%]</i>	-4,7 [-4]	0,01	-4,2 [-4]	0,06	-0,5	0,2
<i>RR systolisch (mmHg)[%]</i>	1,0 [0,7]	0,9	-2,0 [-1,5]	0,5	3,0	0,9
<i>RR diastolisch (mmHg)[%]</i>	2,6 [3]	0,6	-4 [-5]	0,08	0,7	0,1

Tab. 3: Veränderung anthropometrischer Daten am Ende der Diätintervention

^a Mittelwert-Veränderung innerhalb der Gruppe, ^b Mittelwert-Veränderung zwischen den Gruppen

IG: Interventionsgruppe ($n = 11$); KG: Kontrollgruppe ($n = 14$)

4.3.2 Zusammensetzung der Ernährungskomponenten

Sowohl die Gesamtenergiezufuhr (IG 2365±406 kcal; KG 2205±341 kcal; $p = 0,3$), als auch die prozentuale Verteilung von KH (IG 45±9 %; KG 42±5 %; $p = 0,37$), F (IG 37±9 %; KG 40±6 %; $p = 0,37$) und EW (IG 18±2 %; KG 19±4%; $p = 0,52$) war in beiden Diätgruppen zum Zeitpunkt der BL-Untersuchungen ähnlich. In der IG zeigte sich im Vergleich zur KG in den BL-Untersuchungen ein signifikant höherer Getreideballaststoff- (IG 10,4±2,7 g; KG 7,4±2,7 g; $p = 0,01$) und Kaffee- (IG 425±253 ml; KG 147±174 ml; $p = 0,003$) Anteil. Der Konsum von rotem Fleisch (IG 119±71 g; KG 94±43 g; $p = 0,29$) und von weißem Fleisch (IG 34±26; KG 32±39; $p = 0,93$) war nicht unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen (Tab. 4).

<i>Ernährungskomponenten</i>	<i>Interventionsgruppe</i>	<i>Kontrollgruppe</i>	<i>p-Wert</i>
<i>Energiezufuhr (kcal)</i>	<i>2365±406</i>	<i>2205±341</i>	<i>0,3</i>
<i>Kohlenhydrate (%)</i>	<i>45±9</i>	<i>42±5</i>	<i>0,37</i>
<i>Fett (%)</i>	<i>37±9</i>	<i>40±6</i>	<i>0,37</i>
<i>Eiweiß (%)</i>	<i>18±2</i>	<i>19±4</i>	<i>0,52</i>
<i>Getreideballaststoffe (g)</i>	<i>10,4±2,7</i>	<i>7,4±2,7</i>	<i>0,01</i>
<i>Kaffee (ml)</i>	<i>425±253</i>	<i>147±174</i>	<i>0,003</i>
<i>Weißes Fleisch (g)</i>	<i>34±26</i>	<i>32±39</i>	<i>0,93</i>
<i>Rotes Fleisch (g)</i>	<i>119±71</i>	<i>94±43</i>	<i>0,29</i>

Tab. 4: Die tägliche Ernährungszusammensetzung vor Beginn der Diätintervention

In beiden Gruppen wurde eine Anpassung der Ernährungskomponenten vorgenommen, die sich signifikant auswirkte (Tab. 5). Beide Gruppen hatten eine Kalorienreduktion von 316 kcal (IG -13 %, $p < 0,0001$; KG -14 %, $p = 0,0007$) (Abb. 13).

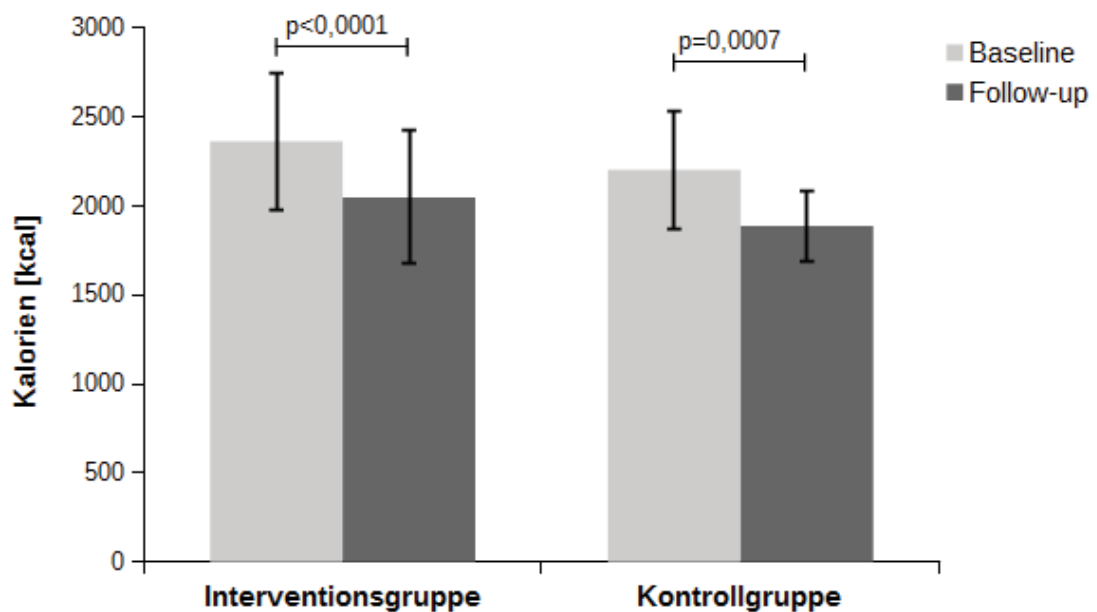


Abb. 13: Die durchschnittliche tägliche Energiezufuhr vor und während der Diät in beiden Ernährungsgruppen

IG: BL-Mittelwert 2365 kcal; Kalorienrestriktion -316 kcal während der Diät, ($p < 0,0001$); KG: BL-Mittelwert 2205 kcal; Kalorienrestriktion -316 kcal während der Diät; ($p = 0,0007$)

BL: Baseline; FU: Follow-up; IG: Interventionsgruppe; KG: Kontrollgruppe

Der prozentuale Anteil [95% KI] an Kohlenhydrat- und Eiweißzufuhr wurde erhöht. In der IG waren es im Mittel 7,4 % [12,64; 0,69] mehr für die Kohlenhydratzufuhr und 3,5 % [4,65; 2,51] für die Eiweißzufuhr. In der KG wurde die Kohlenhydratzufuhr um 7,4 % [11,21; 3,96] und die Eiweißzufuhr um 2,5 % [5,18; -0,24] im Durchschnitt erhöht. Die Fettzufuhr wurde in der IG um 7,9 % [-2,12; -13,39] und in der KG um 7,7 % [-5,37; -13,05] gesenkt (Abb. 14).

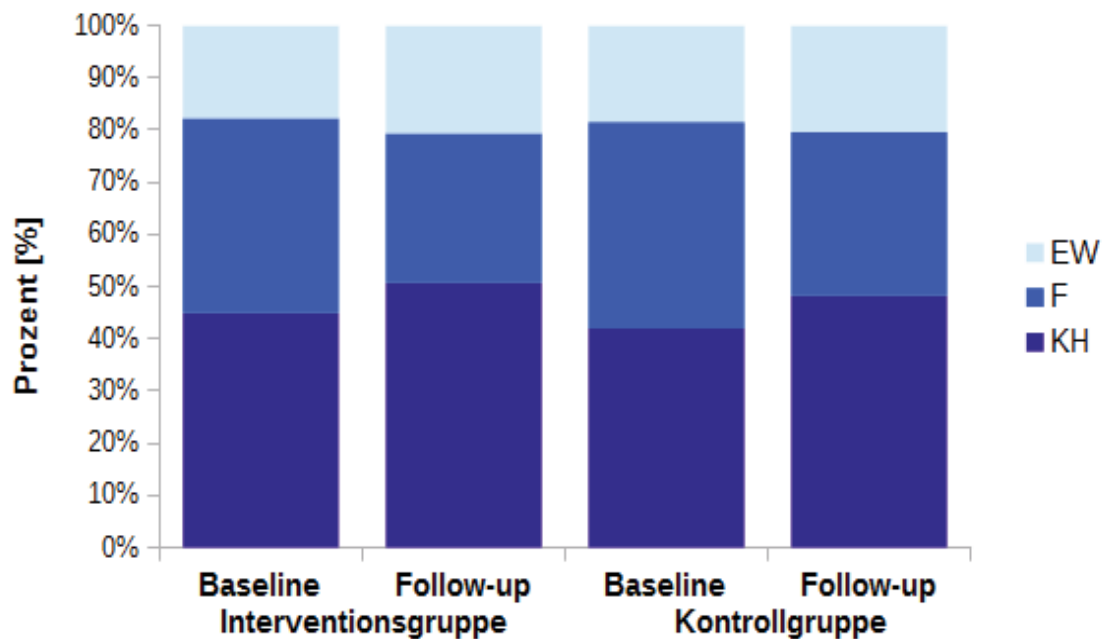


Abb. 14: Prozentuale Verteilung von Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß in den Ernährungsgruppen vor und während der Diät

Prozentuale Veränderung:

IG: KH von 45 auf 51 ($p=0,02$), F von 37 auf 30 ($p=0,007$), EW von 18 auf 20 ($p=0,001$);

KG: KH von 42 auf 50 ($p=0,03$), F von 40 auf 30 ($p=0,001$), EW von 19 auf 20 ($p=0,12$)

EW: Eiweiß; F: Fett; IG: Interventionsgruppe; KG: Kontrollgruppe; KH: Kohlenhydrate

In der IG stieg der Konsum an Getreideballaststoffen um 27 g (260 %, $p < 0,0001$), an Kaffee um 325 ml (77 %, $p = 0,002$) und an weißem Fleisch um 95 g (284 %, $p = 0,004$). Der Anteil an rotem Fleisch sank um 119 g auf Null ($p = 0,0002$). In der KG sank der Konsum von Getreideballaststoffen um 2,8 g (37 %, $p = 0,004$), an Kaffee um 147 ml auf Null ($p = 0,01$) und an weißem Fleisch um 32 g auf Null ($p = 0,03$). Der Anteil an rotem Fleisch erhöhte sich auf 113 g (120 %, $p < 0,0001$) (Tab. 5).

Ernährungskomponenten	IG ^a	KG ^a	Mittelwert-Differenz ^b
<i>Energiezufuhr (kcal)</i>	-315,9	-315,6	-0,3
<i>Kohlenhydrate (%)</i>	+7,4	+7,4	0,0 *
<i>Fett (%)</i>	-7,9	-7,7	-0,2 *
<i>Eiweiß (%)</i>	+3,5	+2,5	1,0
<i>Getreideballaststoffe (g)</i>	+26,8	-2,8	29,6 *
<i>Kaffee (ml)</i>	+325	-147	472 *
<i>Weißes Fleisch (g)</i>	+95	-32	127 *
<i>Rotes Fleisch (g)</i>	-119	+113	-232 *

Tab. 5: Veränderungen der Ernährungskomponenten nach der Diätintervention

^a Mittelwert-Differenz innerhalb der Diätgruppe; ^b Mittelwert-Differenz zwischen den Diätgruppen

* $p < 0,05$

IG: Interventionsgruppe; KG: Kontrollgruppe

Zwischen den beiden Diätgruppen gab es im Follow-up signifikante Unterschiede bei der KH- und F-Verteilung. Der Anteil an KH betrug in der IG 52,4 % und in der KG 49,8 %. Der Anteil an F betrug in der IG 29,6 % und in der KG 32,3 %. Weitere signifikante Unterschiede zeigten sich bei den Getreideballaststoffen, dem weißen und roten Fleisch und im Kaffeekonsum.

4.3.3 Laborparameter

In beiden Gruppen kam es durch die Ernährungsintervention zu einer Verminderung von HDL, TAGs und des Gesamtcholesterins (IG: $p = 0,04$). Lediglich in der IG zeigte sich eine Verminderungen des LDL. Im Glukosestoffwechsel zeigte sich eine Reduktion des HbA_{1c} in der IG ($p = 0,005$) und der Insulinsensitivität, angegeben als M-Wert in beiden Gruppen (IG: $p = 0,006$; KG: $p = 0,007$). Zwischen den Gruppen gab es nach der Ernährungsintervention keine Unterschiede in den Laborparametern. Einen Überblick über die Veränderungen der Laborparameter zeigt die Tab. 6.

	<i>Interventionsgruppe</i>		<i>Kontrollgruppe</i>	
	<i>Mittelwert-Differenz</i>	<i>p-Wert</i>	<i>Mittelwert-Differenz</i>	<i>p-Wert</i>
<i>HDL (mg/dl) [%]</i>	-4,7 [-10]	0,06	-1 [-2]	0,47
<i>LDL (mg/dl) [%]</i>	-7,6 [-6]	0,26	0,3 [<1]	0,53
<i>Triglyceride (mg/dl) [%]</i>	-34 [-22]	0,32	-55 [-26]	0,10
<i>Gesamtcholesterin (mg/dl) [%]</i>	-14,7 [-7]	0,04	-8 [-4]	0,45
<i>HbA_{1c} (%) [%]</i>	-0,7 [-11]	0,005	-0,5 [-8]	0,18
<i>M-Wert (mg*kg⁻¹*min⁻¹) [%]</i>	1,2 [24]	0,006	1,5 [28]	0,007
<i>C-Peptid (ng/ml) [%]</i>	-0,6 [-15]	0,2	0,3 [-12]	0,83

Tab. 6: Mittelwert-Differenzen von Follow-up zu Baseline für die Laborparameter in der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe

Nach der Ernährungsintervention zeigte sich ein Unterschied von Δ M-Wert zwischen den beiden Ernährungsgruppen ($p = 0,004$). Adjustiert für Alter, Geschlecht und BMI_{BL}, zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang des Δ M-Wertes mit dem Geschlecht ($p = 0,02$), nicht aber mit dem Alter ($p = 0,15$) und dem BMI_{BL} ($p = 0,23$). Keine signifikante Änderung ergab sich hingegen im C-Peptid zwischen den Diätgruppen im FU.

4.4 Auswertung der FMD-Messung

In der IG konnte vor der Diät im Durchschnitt eine FMD von $8,7 \pm 6,6$ % gemessen werden. Die KG hatte im Mittelwert eine FMD von $7,0 \pm 6,6$ %. In beiden Diätgruppen konnte keine signifikante Änderung der FMD nach der Ernährungsintervention festgestellt werden. Keine Änderung ergab sich auch für die NMD in der Interventionsgruppe. Hingegen nahm die NMD in der Kontrollgruppe von Baseline zu Follow-up ab ($p = 0,01$) (Tab. 7).

	Interventionsgruppe			Kontrollgruppe		
	Baseline	Follow-up	Mittelwert-Differenz	Baseline	Follow-up	Mittelwert-Differenz
FMD (%)	$8,7 \pm 6,6$	$4,98 \pm 3,6$	-3,7	$7,0 \pm 6,6$	$6,1 \pm 4,8$	-0,9
p-Wert			0,19			0,74
NMD (%)	$12,3 \pm 5,5$	$11,9 \pm 4,0$	-0,5	$15,6 \pm 7,8$	$9,6 \pm 6,3$	-6,0
p-Wert			0,8			0,01

Tab. 7: FMD- und NMD-Mittelwerte $\pm$ SD und Mittelwert-Differenzen für die Interventions- und die Kontrollgruppe

FMD: flussmedierte Vasodilatation; NMD: nicht-endothelabhängige Dilatation

Nach der Ernährungsintervention konnten zwischen den Gruppen sowohl für die FMD als auch für die NMD keine signifikanten Unterschiede erhoben werden (FMD_FU: $p = 0,3$; NMD_FU: $p = 0,5$). Eine Adjustierung für FMD_BL bzw. NMD_BL, Alter, Geschlecht, BMI_BL, M-Wert_BL und C-Peptid_BL mit FMD_FU bzw. NMD_FU konnte keinen signifikanten Zusammenhang feststellen.

Die Korrelationsanalyse ergab für Δ FMD mit Δ BMI einen signifikanten Pearson-Korrelationskoeffizient $r = 0,44$ ($p = 0,03$). Die weiteren Korrelationsanalysen von Δ FMD mit Alter ($r = 0,24$; $p = 0,25$), Geschlecht ($r = -0,02$; $p = 0,9$), RR_{syst}_BL ($r = 0,1$; $p = 0,63$), RR_{diast}_BL ($r = -0,02$; $p = 0,9$), Δ M-Wert ($r = -0,3$; $p = 0,1$) und Δ C-Peptid ($r = -0,2$; $p = 0,35$) waren nicht signifikant. In der Korrelationsanalyse von Δ NMD mit Geschlecht ($r = 0,11$; $p = 0,58$), Alter ($r = 0,23$; $p = 0,27$), Δ BMI ($r = 0,31$; $p = 0,15$), RR_{syst}_BL ($r = 0,07$; $p = 0,75$), RR_{diast}_BL ($r = 0,12$; $p = 0,59$), Δ M-Wert ($r = 0,24$; $p = 0,28$) und Δ C-Peptid ($r = -0,01$; $p = 0,96$) gab es keine Signifikanzen.

In der multivariaten Regressionsanalyse zeigte sich für die gesamte untersuchte Gruppe ($n = 25$) für Δ FMD und der Variable (Parameterschätzer; p-Wert) BMI_BL (-1,33; 0,003) ein signifikanter Zusammenhang. Für alle weiteren Variablen Alter (-0,03; 0,6), Geschlecht (2,0; 0,6), RRsyst_BL (0,24; 0,06), Δ M-Wert (-4,2; 0,6) und Δ C-Peptid (-9,5; 0,2) gab es keinen signifikanten Zusammenhang. Das gleiche gilt für Δ NMD und die Variablen (Parameterschätzer; p-Wert) Alter (0,09; 0,7), Geschlecht (1,1; 0,8), RRsyst_BL (0,1; 0,4), Δ M-Wert (10,0; 0,3) und Δ C-Peptid (-2,1; 0,8).

5 Diskussion

Innerhalb der DDIET-Studie sollte geklärt werden, ob eine Ernährung mit einer moderaten Kalorienreduktion und hohem Ballaststoffanteil kombiniert mit hohem Kaffeekonsum im Vergleich mit niedrigem Ballaststoffanteil und hohem rotem Fleischkonsum zu einer Verbesserung der EF, gemessen als FMD, führen kann und somit positiven Einfluss auf die Frühstufen der Arteriosklerose haben kann. Ein solcher Effekt konnte durch die Studie nicht gezeigt werden. In beiden Gruppen kam es zu keiner Änderung der FMD. Hingegen zeigte sich durch die Kalorienrestriktion ein signifikanter positiver Einfluss auf Gewicht, BMI und Taillenumfang in beiden Gruppen, sowie auf den Hüftumfang in der IG. Bei den Laborparametern kam es in beiden Gruppen zu einer Verbesserung des Lipidprofils. Eine signifikante Veränderung zeigte sich allerdings nur in der Reduktion des Gesamtcholesterins in der IG. Im Glukosestoffwechsel kam es in der IG zu einer Reduktion des HbA_{1c}, sowie in der IG und der KG zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität.

5.1 Ernährungsinterventionsstudien

In der DDIET-Studie und anderen Ernährungsinterventions-Studien konnte gezeigt werden, dass eine Kalorienreduktion und der Konsum bestimmter Nahrungsmittel zielführend sein können, um positiven Einfluss auf Risikofaktoren eines T2DM und kardiovaskulärer Erkrankungen zu haben.

5.1.1 Die Kalorienrestriktion

In der DDIET-Studie zeigte sich unter der vorgenommenen Diät eine Verbesserung der Insulinsensitivität und eine Verminderung des Körpergewichts um ca. 5 % in beiden Diätgruppen. Es ergab sich kein Unterschied zwischen den Diätgruppen, so dass davon auszugehen ist, dass es nicht die Ernährungszusammensetzung ist, sondern eher die Kalorienrestriktion, durch die es zu einer Veränderung gekommen ist (173). Dies zeigt sich auch in dem Kollektiv, dass aus der gesamten DDIET-Studie für die FMD-Messung ausgewählt wurde. In beiden Gruppen kam es zu einer Reduktion des Körpergewichts und des BMIs um knapp 7 %. Auch hier spricht die Reduktion in beiden Gruppen für die Kalorienreduktion als Ursache und weniger für die Nahrungsbestandteile. Ebenfalls konnte auch in der kleineren Gruppe von 25 Probanden eine Verbesserung der Insulinsensitivität

in der IG um $1,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ und in der KG um $1,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ unabhängig von der Diätform festgestellt werden. Dies zeigte sich auch in der Gesamtauswertung der DDIET-Studie (173).

Vergleicht man ähnliche Studiendesigns im Hinblick auf eine Verbesserung der FMD fällt auf, dass es einer Gewichtsreduktion von mindestens 10 % bedarf, um einen positiven Effekt zu erzielen. In den meisten Fällen geschah dies durch eine Kalorienrestriktion, die $> 300 \text{ kcal}$ liegt oder mit sportlicher Aktivität kombiniert wurde (184). Der alleinige Gewichtsverlust von 10 % durch eine Kalorienrestriktion (Energiezufuhr BL minus 33 %) in einer 12-wöchigen Intervention bei gesunden adipösen Probanden ($\text{BMI } 32,4 \pm 0,8 \text{ kg/m}^2$) führte zu einer signifikanten Verbesserung der FMD gegenüber einer Kontrollgruppe (185). Der Gewichtsverlust resultierte in einer 30 – prozentigen Zunahme des FMD-Wertes (185). Ein ähnlicher Effekt stellt sich auch nach einwöchiger hypokalorischer Diät ($\sim 1190 \text{ kcal}$), ebenso wie nach einer Langzeitstudie über 12 Monate mit 10 % Gewichtsverlust ein (67,186). Eine 16-wöchige Studie mit 20 adipösen jungen Frauen ($\text{BMI } 32,4 \pm 0,8 \text{ kg/m}^2$) zeigte, dass eine Kalorienrestriktion von 500 kcal kombiniert mit einem Sportprogramm (zusätzlich minus 250 kcal) Gewicht (-6 %) und BMI reduziert und die FMD, bei gleichbleibenden Biomarkern der ED (ET-1, IL-6), verbessert (184). Es gab keine Korrelation der FMD-Ergebnisse mit der Gewichtsabnahme. Auch bei 28 adipösen Männern und Frauen ($\text{BMI } 33,1 \pm 4,2 \text{ kg/m}^2$), die eine Kalorienrestriktion von 600 – 800 kcal erhielten und eine zusätzliche Walking-Einheit von 30 Minuten pro Tag absolvierten, zeigte sich eine signifikante Reduktion von Gewicht und BMI (-17 %), die assoziiert war mit einer signifikant verbesserten endothel-abhängigen und -unabhängigen Vasodilatation (187). Diese wurde intraarteriell mittels Acetylcholin und Nitroprussid gemessen. In einer sechsmonatigen Studie mit adipösen Probanden und T2DM und Hypertonie konnte ein alleiniges Sportprogramm zwar eine signifikante Verbesserung des BMI um 0,7 % erzielt werden, einen Effekt auf die FMD und die endothelialen Biomarker gab es nicht (188).

In der hier durchgeführten Intervention wurde eine moderate Kalorienrestriktion von durchschnittlich 316 kcal erzielt und damit ein Gewichtsverlust von ca. 8 kg bzw. 7 % erzielt. Die körperliche Aktivität sollte während der acht Wochen nicht verändert werden. Die Diätinterventionen in denen sich eine signifikante Gewichtsreduktion und eine Verbesserung der FMD-Werte zeigte, enthielten eine weitaus höhere Kalorienrestriktion

mit > 500 kcal und zusätzlicher körperlicher Aktivität, oder hatten prozentual einen höheren Gewichtsverlust.

5.1.2 Der Einfluss von Kohlenhydraten und Vollkorn

In der durchgeführten Diät-Studie konnte kein Einfluss von KH und allen voran von Getreideballaststoffen auf die FMD nachgewiesen werden. Dies zeigt sich auch in anderen Ernährungsstudien. In einer Ernährungsintervention mit 1500 kcal über 12 Wochen wurde eine Kohlenhydrat-reduzierte Diät (KRD) (KH : F : EW = 12 % : 59 % : 28 %) gegenüber einer Fett-reduzierten Diät (FRD) (KH : F : EW = 56 % : 24 % : 20 %) bei gesunden adipösen Probanden (BMI > 25 kg/m²) auf den Einfluss von FMD, Lipidprofil und Insulin geprüft (189). Es kam in der Gruppe der KRD nach 12 Wochen Diät und Einnahme einer hochkalorischen Mahlzeit vor der FMD-Messung zu einer Verbesserung der FMD-Werte postprandial, allerdings ergab sich keine Veränderungen nüchtern nach der Diät (189). Zusätzlich kam es in der KRD zu einer Verminderung der TAGs und der Insulinsekretion. In einer sechswöchigen KRD (< 50 g KH/Tag, BL/FU: KH 46/11 % : F 36/58 % : EW 17/28 %) mit gesunden adipösen Probanden (BMI 29,5±3,0 kg/m²) unter Statintherapie konnte kein Effekt auf die FMD festgestellt werden (190). Es kam zu einer Gewichtsreduktion von durchschnittlich 4 % durch eine Kalorienrestriktion von ca. 420 kcal. Eine signifikante Verbesserung ergab sich beim systolischen und diastolischen Blutdruck. Zusätzlich kam es zu einer Verminderung der TAGs und zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität. Keinen Einfluss gab es auf das restliche Lipidprofil (Gesamtcholesterin, HDL, LDL) und die Blutglukose. In einer weiteren sechswöchigen Studie, in der auch der Einfluss einer FRD gegen eine KRD auf die EF getestet wurde, erhielten die gesunden adipösen Probanden eine Kalorienrestriktion von 750 kcal. Die Gruppe der FRD bekam 30 % der Gesamtenergie in Form von Fett, die KRD sollte < 20 g KH konsumieren. Unter dieser Testanordnung zeigte sich eine signifikante Gewichtsabnahme. In der FRD-Gruppe verbesserte sich die FMD, während die FMD sich in der KRD-Gruppe reduzierte (191). Getestet wurde auch der Einfluss einer Fett-reichen und Kohlenhydrat-reduzierten (HFLK) Ernährung gegenüber einer Fett-reduzierten und Kohlenhydrat-reichen (LFHK) Ernährung bei adipösen gesunden Probanden. Eine Kalorienreduktion von ca. 500 kcal wurde vorgenommen. In beiden Gruppen kam es zu einer Gewichtsabnahme, aber es gab keine Veränderung in der FMD. In der Gruppe HFLK gab es dagegen eine Verminderung der Nüchtern-Blutglukose, der TAGs und eine

Verbesserung des HDL (192). 60 Probanden unter Statintherapie bei Hypercholesterinämie erhielten eine vierwöchige Diät bestehend aus Kalorienrestriktion (500 – 700 kcal) und entweder 150 g Haferkleiebrot oder 150 g Weizenbrot (193). In der Gruppe, die das Brot mit hohem Getreideballaststoff-Anteil konsumierte, konnte lediglich eine signifikante Reduktion des Gesamtcholesterins gezeigt werden (193). Dieser Effekt zeigte sich auch in der IG. Hier kam es zu einer Reduktion des Gesamtcholesterin. In der FMD-Messung ergab sich in beiden Gruppen keine Veränderung (193). Ähnliche Ergebnisse zeigen sich auch in der IG und der KG, in der es zu keiner Veränderung der FMD-Werte kam, bei unterschiedlicher Getreideballaststoff-Anteile.

30 übergewichtige Probanden ($\text{BMI } 28,3 \pm 2,0 \text{ kg/m}^2$) erhielten in einer zweiteiligen sechswöchigen klinischen Studie zunächst eine Ernährung mit $30 \pm 4,9 \text{ g}$ Ballaststoffanteil aus Vollkorn und danach eine Ernährung mit $17,3 \pm 5,5 \text{ g}$ Ballaststoffanteil aus raffiniertem Getreide. Es wurde keine Kalorienrestriktion vorgenommen (194). Es ergab sich während der ersten Phase eine geringe, aber signifikante Erhöhung des BMI. Keine der Ernährungsformen hatte Einfluss auf den Glukosestoffwechsel, das Lipidprofil und die Inflammations-Marker. Allerdings konnte im Mausmodell gezeigt werden, dass im Rahmen einer achtwöchigen vollkornreichen Ernährung neben einer Gewichtszunahme von fast 15 % eine Verbesserung der Insulinsensitivität und eine Minderung des Gesamtcholesterins zu erkennen war (195).

Dass Vollkornprodukte ein wichtiger Baustein sind und ihr Verzehr möglicherweise das kardiovaskuläre und das T2DM-Risiko positiv beeinflussen, zeigt sich darin, dass die allgemeinen Ernährungsempfehlungen der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) den Verzehr von 30 – 45 g Ballaststoffen pro Tag vorsieht (196). Hierbei geht es um Ballaststoffe aus Vollkornprodukten, Hülsenfrüchten, Obst und Gemüse, die postprandial hohe Blutglukosekonzentrationen sowie das Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin vermindern (197). Der alleinige Verzehr von Vollkornprodukten scheint diesen Effekt nicht zu bestätigen, vor allem im Bezug auf die Inflammation (198). Eine verminderte Insulinsensitivität im Gefäß führt zu einer verminderten Gefäßrelaxation und kann somit auch zu einer verminderten FMD führen (199). Insulin kann sowohl NO als auch ET-1 über die von Endothelzellen exprimierten Insulinrezeptoren freisetzen und ist damit direkt an der Vasoregulation beteiligt (105).

Es zeigt sich, dass vor allem wieder eine Kalorienrestriktion ausschlaggebend für einen Effekt auf die FMD zu sein scheint. Es scheint aber gleichzeitig auch vom Zeitraum der Intervention abzuhängen. Nach vierwöchiger Diät kam es zu keiner Änderung der FMD trotz hoher Kalorienreduktion, ab einer Dauer von sechs Wochen stellten sich Veränderungen ein. Somit müsste die Studiendauer von acht Wochen ausreichend sein, um einen Effekt zu erzielen. Zum anderen scheint auch die Anpassung von KH und F Einfluss zu haben.

5.1.3 Zusammenhang mit Kaffee

Welche Auswirkungen Kaffee bzw. Kaffeebestandteile auf das kardiovaskuläre Risiko und den T2DM haben, ist weiterhin noch nicht abschließend geklärt. Ein moderater Kaffeekonsum scheint eher protektiv auf die kardiovaskulären Erkrankungen und den T2DM zu wirken, während der tägliche hohe Konsum infolge des Fettanteils in den Kaffeebohnen zu einem erhöhten Serumcholesterin führen kann (200). Buscemi et al. haben in mehreren Studien die Auswirkungen von koffeinhaltigem und entkoffeiniertem Kaffee auf die FMD und die ED untersucht. Der Verzehr von koffeinhaltigem Espresso führte bei gesunden Probanden zu einer direkten Verschlechterung der FMD gemessen zum Zeitpunkt 0, 30 und 60 Minuten (201). In einer achtwöchigen Interventionsstudie mit gesunden übergewichtigen Probanden (BMI 25 – 35 kg/m²) wurden die Auswirkungen von koffeinhaltigem und entkoffeiniertem Kaffee gegen eine Kontrollgruppe auf die Risikofaktoren des T2DM untersucht (202). Lediglich eine Reduktion des IL-6 durch koffeinhaltigen Kaffee zeigte sich. Keinen Einfluss gab es auf den Glukosestoffwechsel und das Lipidprofil. 47 gesunde Probanden mit einem erhöhten Risiko für T2DM wurden in einer dreiteiligen Studie (Monat eins: kein Kaffee, Monat zwei: vier Tassen Kaffee, Monat drei: acht Tassen Kaffee) auf Inflammation und weitere Risikofaktoren für T2DM untersucht (160). Eine signifikante Verbesserung zeigte sich in den Inflammationsmarkern und dem HDL. Dagegen gab es keinen Effekt auf den Glukosestoffwechsel.

In der hier durchgeführten Intervention wurde die FMD-Messung nach Beendigung der Diätintervention und während einer Nüchternphase durchgeführt. Studien in denen die FMD-Messung zu einem ähnlichen Zeitpunkt durchgeführt wurde, zeigten keine Änderung.

In einer Studie an zehn gesunden jungen Männern wurde der Effekt von koffeinhaltigem sowie entkoffeiniertem Kaffee in Kombination mit einem MMTT mit einem Cereal aus hohem sowie niedrigem glykämischen Index (GI) auf den Glukosestoffwechsel untersucht (203). Jeder Proband erhielt mit ausreichend zeitlichem Abstand vier verschiedene Kombinationen. Die Kombination aus koffeinhaltigem Kaffee und dem Cereal, unabhängig vom GI, erhöhte die Blutglukose und das C-Peptid signifikant. Insulin erhöhte sich nicht signifikant. Die Insulinsensitivität verminderte sich in der Kombination von koffeinhaltigem Kaffee mit dem Cereal mit hohem GI und nicht signifikant mit dem Cereal mit niedrigem GI. Dies deckt sich allerdings nicht mit den Ergebnissen, welche in der DDIET-Studie gefunden wurden. Hier kam es zu einer Verbesserung des M-Wertes und damit der Insulinsensitivität in der Kombination aus Getreideballaststoffen und Kaffee in der IG und der KG. Weshalb auch dies wieder unter Berücksichtigung der Kalorienreduktion zu sehen ist.

5.1.4 Konsum von rotem Fleisch

Die Probanden in der DDIET - Studie aßen vor der Diätintervention in der IG durchschnittlich 119 g rotes und 34 g weißes Fleisch pro Tag, in der KG 94 g rotes und 32 g weißes Fleisch pro Tag. Während der Diät konsumierte die KG im Schnitt circa 208 g rotes Fleisch pro Tag. Epidemiologische Studien deuten darauf hin, dass der Verzehr von Fleisch > 50 g und dabei vor allem der Verzehr von rotem Fleisch ein Risikofaktor für T2DM darstellt (204). Durch den hohen Konsum von rotem Fleisch bzw. dessen Bestandteilen, allen voran Zink und Eisen, steigt auch das Risiko für MetSy und kardiovaskuläre Erkrankungen. Die biochemischen Prozesse sind bis jetzt nicht vollständig aufgeklärt. Eine mögliche Erklärung könnte die Erhöhung von Biomarkern der ED, wie E-Selektin, ICAM und VCAM sein (205). In der KG wurde eine Verminderung der NMD nach der Diätintervention festgestellt. Die NMD kann als ein Maß für die Funktion des Gefäßes angesehen werden. Bei gesunden Probanden konnte durch Eisengabe oxidativer Stress in Form erhöhter Werte für Superoxidradikale festgestellt werden. Stickstoffmonoxid, welches aus dem Nitroglycerin-Spray frei wird, kann mit Superoxiden zu Peroxinitrit reagieren (119,206). Stickstoffmonoxid würde damit abgefangen werden und könnte nicht mehr in die glatten Muskelzellen diffundieren um eine Vasodilatation auszulösen. Dies wäre eine mögliche Erklärung für die verminderte NMD in der KG. Es

gibt bisher keine klinischen Studien, in denen der Einfluss von rotem Fleisch auf die FMD, NMD oder die ED näher erläutert wurde.

5.2 Methodenkritik

Im Rahmen der Auswertung konnte weder in der Interventions- noch in der Kontrollgruppe eine Verbesserung der FMD erzielt werden. Im Folgenden sollen mögliche Gründe für das Ausbleiben des gewünschten Effektes diskutiert werden.

5.2.1 Die FMD-Messung als richtiges Messinstrument

Die FMD-Messung gilt in der Forschung als ein nicht-invasives Verfahren, um frühzeitig arteriosklerotische Veränderungen festzustellen und wird dabei von einigen äußeren und probandenspezifischen Faktoren beeinflusst. Durch unterschiedliche Untersucher an BL und FU können unterschiedliche Messergebnisse zustande kommen, zum einen durch die Untersucher selbst, zum anderen weil es schwierig ist, exakt die selbe Stelle von BL zu FU zu detektieren (207). Wobei vor allem unter Verwendung eines Standards für die FMD-Messung, wie er auch für die DDIET-Studie verwendet wurde, sowohl die inter- als auch die intrapersonelle Variabilität zu vernachlässigen ist (208). Auch der Durchmesser der A. brachialis zum BL-Zeitpunkt spielt eine Rolle. Ein großer Durchmesser der Arterie zu Beginn der Messung führt zu einer geringeren prozentualen Veränderung während der Messung nach Scheerstress, was wiederum zu einem geringeren prozentualen FMD-Wert führt. In Studien in denen die FMD-Messung zu den Zeitpunkten BL und FU durchgeführt werden, sollten der BL-Durchmesser, die absolute Veränderung, sowie die prozentuale Veränderung angegeben werden (209). Zudem fehlen einheitliche Referenzwerte, ab denen von einer ED gesprochen werden kann. Die Probanden der Diätstudie zeigten in der IG einen FMD-Wert von $8,7 \pm 6,6$ % und in der KG einen FMD-Wert von $7,0 \pm 6,6$ % zum BL-Zeitpunkt. In der Gutenberg Gesundheitsstudie der Universitätsklinik Mainz wurde bei 5000 Probanden die FMD gemessen. Die Probanden hatten teilweise kardiovaskuläre Risikofaktoren, wie Hypertonie, T2DM oder Rauchen in der Anamnese. Insgesamt ergab sich für die komplette Studienpopulation eine FMD von $8,08 \pm 4,88$ % (Männer $6,53 \pm 3,73$ %, Frauen $9,69 \pm 5,39$ %) (210). Bei 100 jungen gesunden Männern mit niedrigem und moderatem kardiovaskulärem Risiko, errechnet anhand des Framingham Risk Score, zeigten sich FMD-Werte von $2,8 \pm 1,6$ % (211). Stellt man diese FMD-Werte auch denen aus Tab. 1 und den in der Studie gemessenen FMD-Werten gegenüber, dann wird eine

deutliche Spannbreite sichtbar. Probanden mit kardiovaskulären Risikofaktoren hatten teilweise bessere FMD-Werte, als gesunde Probanden.

5.2.2 Weitere Verfahren zur Detektion endothelialer Dysfunktion und Inflammation

Eventuell stellt die FMD-Messung in diesem Kollektiv ein nicht geeignetes Messverfahren dar, da eine größere Probandenzahl benötigt wird, um den zu erwartenden Unterschied bei der gegebenen Messungenauigkeit herauszuarbeiten. Neben der FMD-Messung gibt es weitere bildgebende Verfahren die zum Einsatz kommen können, um eine kardiovaskuläre Erkrankung zu detektieren. Die ESC hält vor allem die Sonographie der Aa. carotides sowie die Messung des Knöchel-Arm-Index (ABI) bei Menschen mit einem symptomlosen moderaten kardiovaskulären Risikoprofil als zielführend (196). Die ABI – Messung hat eine Sensitivität von 77 % und eine Spezifität von 99 %, sodass ein $ABI < 0,9$ ein verlässlicher Marker für die periphere arterielle Verschlusskrankheit darstellt (212). Die FMD-Messung spielt dabei im klinischen Alltag keine Rolle. Gründe dafür könnten zum einen die fehlenden Referenzwerte sein. Bei der ABI-Messung sind diese gegeben. Zum anderen können durch zuvor beschriebene Einflussfaktoren schwieriger einheitliche Aussagen getroffen werden. Neben den bildgebenden Verfahren gibt es auch verschiedene zirkulierende Biomarker, die eine ED oder eine Inflammation detektieren. Laborparameter wie vWF, ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin, IL-1, $TNF\alpha$, tPA, PAI-1 oder Thrombomodulin können hinweisend für eine ED sein, hsCRP oder Homocystein sind mit einer Inflammation assoziiert (196,205). Nicht alle sind für den klinischen Gebrauch gleich gut geeignet, da sie teilweise sehr unspezifisch sind. Ein unabhängiger Risikofaktor und damit besserer Vorhersage-Parameter ist die Messung der ADMA-Konzentration (213).

5.2.3 Zusammensetzung der Ernährungskomponenten

In beiden Gruppen gab es während der Diätintervention Unterschiede in der Ernährungszusammensetzung. Gewünscht als wesentlicher Bestandteil der Diätintervention kam es zu Unterschieden in den Diätgruppen bei den Anteilen an Getreideballaststoffen, rotem und weißem Fleisch, sowie Kaffee. Ausgeglichen sollte hingegen in beiden Gruppen die prozentuale Verteilung von KH : F : EW mit 50 : 30 : 20 sein. Insgesamt lassen sich die signifikanten Unterschiede in der Verteilung von KH und F in den Diätgruppen auch durch die Diät erklären. Durch den zum einen hohen Anteil an

Getreideballaststoffen in der IG war der prozentuale Anteil an KH etwas erhöht, zum anderen ist der hohe Anteil an rotem Fleisch mit einem erhöhten Fettanteil assoziiert (214). Dass diese zwar signifikanten, aber prozentual geringen Differenzen Einfluss auf die FMD- bzw. NMD-Messung, Laborwerte oder anthropometrische Daten haben ist unwahrscheinlich. Studien in denen es zu Veränderungen kam, zeigte höhere Schwankungen in der Ernährungszusammensetzung (191,192)

5.3 Laborparameter

Bei Betrachtung der Laborparameter in beiden Gruppen von BL zu FU ist festzustellen, dass sich die meisten Werte teilweise sogar deutlich verbessert haben.

Im Lipidprofil zeigte sich ein Trend zur Verschlechterung des HDL in beiden Gruppen. In der IG lag die Reduktion bei 10 %, in der KG bei 2 %. Das HDL spielt eine protektive Rolle bei kardiovaskulären Erkrankungen, da es Cholesterin aus dem Gewebe abtransportiert. Aus diesem Grund sollte das HDL möglichst hoch sein bzw. nicht absinken. In der IG sank gleichzeitig auch das LDL um 6 %, in der KG stieg es um < 1 %. In beiden Gruppen gab es positive Veränderungen für die TAGs und in der IG auch für das Gesamtcholesterin. Ähnliches zeigte sich auch in anderen Diätstudien mit Vollkornkonsum. In einer Diätinterventionsstudie von 12 Wochen wurden 50 adipöse Probanden mit MetSy in eine vollkornmeidende und eine vollkornkonsumierende Gruppe eingeteilt. Neben einer Verminderung von Gewicht und Taillenumfang zeigte sich eine signifikante Reduktion von Gesamtcholesterin, HDL und LDL in beiden Gruppen (215). Gerade in der aktiven Abnehmperiode scheint es häufiger der Fall zu sein, dass das HDL absinkt, während HDL bei stabilisiertem Gewicht nach Abnahme wieder steigt (216). In einem systemischen Review und Meta-Analyse zeigte sich, dass bei gesunden Personen nach Vollkorn-Einnahme vor allem das LDL und das Gesamtcholesterin reduziert wurden, es aber keinen Effekt auf das HDL gibt (217).

5.4 Schlussfolgerung

Verschiedene Ernährungsinterventions-Studien und auch Leitlinien zur Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen und T2DM konnten auf unterschiedlichen Wegen zeigen, dass vor allem eine mediterrane Kost mit Fisch, ungesättigten Fettsäuren und hohem Ballaststoffanteil wichtig sind. Unter anderem gehören dazu Ballaststoffe aus Vollkorn, Obst oder Gemüse. Die Ernährungskomponenten können vor allem positiven Einfluss auf

Laborparameter der Inflammation bzw. Biomarker der ED haben. Die Bestandteile des roten Fleisch, wie Eisen oder Zink, begünstigen dagegen die ED und Inflammation. Die Rolle von Kaffee und dessen Bestandteilen ist weiterhin kontrovers diskutiert.

Mehr als die Nahrungsbestandteile scheint allerdings in den meisten Ernährungsinterventions-Studien vor allem die hohe Kalorienrestriktion von > 500 kcal und eine darauf folgende starke Gewichtsreduktion zu einer Verbesserung von Risikofaktoren des T2DM und der kardiovaskulären Erkrankungen zu führen. Die Kalorienrestriktion bzw. der daraus resultierende Gewichtsverlust kombiniert mit sportlicher Aktivität war am ehesten zielführend um das Lipidprofil, den Glukosestoffwechsel, aber auch die FMD positiv zu beeinflussen. Die Nahrungsbestandteile spielen eher eine untergeordnete Rolle oder hatten gar keinen Einfluss, v.a. auf die FMD-Werte. Dies zeigt sich auch in der DDIET-Studie und in der für die FMD-Messung ausgewählten Probanden.

In der vorliegenden Studie, beeinflusste die Änderung der Diät die FMD nicht. Mögliche Ursachen sind die nur moderate Kalorienreduktion und/oder die multiplen Einflussfaktoren auf die Messung der FMD. Zukünftige Studien sollten des Weiteren auch andere Methoden, wie die ABI-Messung oder die Bestimmung der ED mittels Biomarkern, wie ADMA, dass unabhängig von anderen Zuständen, wie Entzündungen, Infekten im Körper, aussagekräftig sein soll, herangezogen werden.

6 Zusammenfassung

Epidemiologische und klinische Studien belegen den positiven Einfluss von Kalorienreduktion und Nahrungsbestandteilen, wie Kaffee und Vollkorn auf das Risiko von Typ-2-Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen. Im Deutschen Diabetes Risiko Score wird der Kaffee- und Vollkornkonsum positiv und der Konsum von rotem Fleisch negativ auf das Risiko für Typ-2-Diabetes mellitus bewertet. Kaffee- und Vollkornbestandteile wirken sich dabei günstig auf den Glukosestoffwechsel und das Lipidprofil aus, wohingegen rotes Fleisch mit Inflammation, oxidativem Stress und damit verbundener endothelialer Dysfunktion assoziiert ist. Endotheliale Dysfunktion gilt als ein früher Faktor in der Pathogenese der Arteriosklerose. Eine Methode, um frühzeitig bei nicht-symptomatischen Personen eine Aussage über die endotheliale Funktion zu bekommen, ist die flussmedierte Vasodilatation. In einer Teiluntersuchung im Rahmen der Deutschen Diabetes-Diät-Interventions- und Energierestriktions-Testung wurde der Einfluss einer Ernährungsintervention auf die endotheliale Funktion mittels flussmediiertter Vasodilatation bei Patienten mit neu erkanntem Typ-2-Diabetes mellitus untersucht.

Von 37 Probanden der Deutschen Diabetes-Diät-Interventions- und Energierestriktions-Testungs-Studie konnten 25 Probanden, welche die Diät erfolgreich abschlossen, in die Messung der flussmediierten Vasodilatation eingeschlossen werden. Drei Probanden wurden für die Auswertung ausgeschlossen. Während der achtwöchigen Diät erhielten die Probanden eine Kalorienreduktion von 300 kcal und entweder eine vollkorn- und kaffeereiche Ernährung (IG) (30 – 50 g Getreideballaststoffe/Tag; mindestens fünf Tassen Kaffee/Tag) mit Verzicht auf rotes Fleisch (weißes Fleisch erlaubt) oder sie erhielten eine fleischreiche Ernährung (KG) (≥ 150 g rotes Fleisch/Tag; ≤ 10 g Ballaststoffe/Tag) mit dem Verzicht auf Kaffee. Die flussmedierte Vasodilatation wurde mittels Duplexsonographie in der A. brachialis zu den Zeitpunkten Baseline und Follow-up gemessen. Weitere Messungen umfassten anthropometrische Daten (Gewicht; Taille- und Hüftumfang, Blutdruck); Laborparameter (HbA_{1c}, high density Lipoprotein; low density Lipoprotein, Triglyzeride, Gesamtcholesterin), Insulinsensitivität mittels hyperinsulinämisch-normoglykämischem Clamp, Insulinsekretion mittels Mixed-Meal Toleranz-Test, intravenösem Glukosetoleranztest und Glukagontest.

In beiden Diätgruppen kam es zu einer signifikanten Verminderung des Gewichtes (IG: 3 %; KG 10 %), des Body-Mass-Index um 7 % und des Taillenumfang um 5 %. In der IG verminderte sich zusätzlich auch der Hüftumfang um 4 %. In der Messung der flussmedierten Vasodilatation konnte in beiden Gruppen keine signifikante Veränderung von Baseline zu Follow-up aufgezeigt werden. In der Messung der nicht-endothelabhängigen Vasodilatation fand sich eine signifikante Änderung in der Kontrollgruppe von Baseline zu Follow-up. Laborchemisch gab es eine signifikante Verbesserung für beide Gruppen in der Insulinsensitivität und in der Interventionsgruppe zusätzlich eine signifikante Minderung des HbA_{1c} und des Gesamtcholesterins.

Die moderate Kalorienreduktion beeinflusste Risikofaktoren des Typ-2-Diabetes mellitus und kardiovaskulärer Erkrankungen positiv, führte aber zu keiner Änderung der flussmedierten Vasodilatation. Allerdings zeigte sich in der fleischreichen Gruppe eine Verschlechterung der nicht-endothelabhängigen Vasodilatation. Dies kann ein Ausdruck für oxidativen Stress durch den erhöhten Eisenanteil im roten Fleisch sein.

7 Literaturverzeichnis

1. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, Lin JK, Farzadfar F, Khang YH, Stevens GA, Rao M, Ali MK, Riley LM, Robinson CA, Ezzati M; Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Blood Glucose). National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2·7 million participants. *Lancet*. 2011 Jul 2;378(9785):31-40.
2. diabetesDE Deutsche Diabetes-Hilfe, Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2013, ISSN 1614-824X
3. Schipf S, Werner A, Tamayo T, Holle R, Schunk M, Maier W, Meisinger C, Thorand B, Berger K, Mueller G, Moebus S, Bokhof B, Kluttig A, Greiser KH, Neuhauser H, Ellert U, Icks A, Rathmann W, Völzke H. Regional differences in the prevalence of known Type 2 diabetes mellitus in 45-74 years old individuals: results from six population-based studies in Germany (DIAB-CORE Consortium). *Diabet Med*. 2012 Jul;29(7):e88-95.
4. Meisinger C, Thorand B, Schneider A, Stieber J, Döring A, Löwel H. Sex differences in risk factors for incident type 2 diabetes mellitus: the MONICA Augsburg cohort study. *Arch Intern Med*. 2002 Jan 14;162(1):82-9.
5. Bi Y, Wang T, Xu M, Xu Y, Li M, Lu J, Zhu X, Ning G. Advanced research on risk factors of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012 Dec;28 Suppl 2:32-9.
6. Hu Y, Bhupathiraju SN, de Koning L, Hu FB. Duration of obesity and overweight and risk of type 2 diabetes among US women. *Obesity (Silver Spring)*. 2014 Oct;22(10):2267-73.
7. Kwon JW, Song YM, Park Hs, Sung J, Kim H, Cho SI. Effects of age, time period, and birth cohort on the prevalence of diabetes and obesity in Korean men. *Diabetes Care*. 2008 Feb;31(2):255-60.
8. World Health Organisation, Fact Sheet Number 311, May 2012, Updated January 2015 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
9. Schienkiewitz A, Schulze MB, Hoffmann K, Kroke A, Boeing H. Body mass index history and risk of type 2 diabetes: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Am J Clin Nutr*. 2006 Aug;84(2):427-33.
10. Silverstein JH, Rosenbloom AL. Type 2 diabetes in children. *Curr Diab Rep*. 2001 Aug;1(1):19-27.
11. Zylka-Menhorn V. Diabetes mellitus: Kinder und Jugendliche bedürfen einer engmaschigen Betreuung. *Dtsch Arztebl* 2012; 109(50): A-2523 / B-2065 / C-2021.
12. Parillo M, Riccardi G. Diet composition and the risk of type 2 diabetes: epidemiological and clinical evidence. *Br J Nutr*. 2004 Jul;92(1):7-19.
13. Eriksson KF, Lindgärde F. Prevention of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus by diet and physical exercise. The 6-year Malmö feasibility study. *Diabetologia*. 1991 Dec;34(12):891-8.

14. Lindström J, Ilanne-Parikka P, Peltonen M, Aunola S, Eriksson JG, Hemiö K, Hämäläinen H, Härkönen P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Mannelin M, Paturi M, Sundvall J, Valle TT, Uusitupa M, Tuomilehto J; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study. *Lancet*. 2006 Nov 11;368(9548):1673-9.
15. Pan XR, Li GW, Hu YH, Wang JX, Yang WY, An ZX, Hu ZX, Lin J, Xiao JZ, Cao HB, Liu PA, Jiang XG, Jiang YY, Wang JP, Zheng H, Zhang H, Bennett PH, Howard BV. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Care*. 1997 Apr;20(4):537-44.
16. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM; Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002 Feb 7;346(6):393-403.
17. Lindgärde F, Eriksson KF, Lithell H, Saltin B. Coupling between dietary changes, reduced body weight, muscle fibre size and improved glucose tolerance in middle-aged men with impaired glucose tolerance. *Acta Med Scand*. 1982;212(3):99-106.
18. Eriksson J, Lindström J, Valle T, Aunola S, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Lauhkonen M, Lehto P, Lehtonen A, Louheranta A, Mannelin M, Martikkala V, Rastas M, Sundvall J, Turpeinen A, Viljanen T, Uusitupa M, Tuomilehto J. Prevention of Type II diabetes in subjects with impaired glucose tolerance: the Diabetes Prevention Study (DPS) in Finland. Study design and 1-year interim report on the feasibility of the lifestyle intervention programme. *Diabetologia*. 1999 Jul;42(7):793-801.
19. Uusitupa M, Louheranta A, Lindström J, Valle T, Sundvall J, Eriksson J, Tuomilehto J. The Finnish Diabetes Prevention Study. *Br J Nutr*. 2000 Mar;83 Suppl 1:S137-42.
20. Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. 2001 May 3;344(18):1343-50.
21. Li G, Zhang P, Wang J, Gregg EW, Yang W, Gong Q, Li H, Li H, Jiang Y, An Y, Shuai Y, Zhang B, Zhang J, Thompson TJ, Gerzoff RB, Roglic G, Hu Y, Bennett PH. The long-term effect of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20-year follow-up study. *Lancet*. 2008 May 24;371(9626):1783-9.
22. Ramachandran A, Snehalatha C, Mary S, Mukesh B, Bhaskar AD, Vijay V; Indian Diabetes Prevention Programme (IDPP). The Indian Diabetes Prevention Programme shows that lifestyle modification and metformin prevent type 2 diabetes in Asian Indian subjects with impaired glucose tolerance (IDPP-1). *Diabetologia*. 2006 Feb;49(2):289-97.
23. Roden M, Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation und Diagnose, *Wien Klin Wochenschr* 124 [Suppl 2]:1–3, 2012
24. Bornfeldt KE, Tabas I. Insulin resistance, hyperglycemia, and atherosclerosis. *Cell Metab*. 2011 Nov 2;14(5):575-85.

25. American Diabetes Association. Position Statement. Standards of Medical Care in Diabetes – 2012. *Diabetes Care* 32 Suppl 1:11–63, 2012
26. Herausgeber DDG: Kellner M, Matthaei S; Herausgeber DGGG: Kreienberg R; Autoren: Kleinwechter H, Schäfer-Graf U, Bühner C, Hoesli I, Kainer F, Kautzky-Willer A, Pawlowski B, Schunck K, Somville T, Sorger M, Gestationsdiabetes mellitus (GDM), Diagnostik, Therapie und Nachsorge, Praxisleitlinie der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG) und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), 10/2011, AWMF:Registernummer: 057/008
27. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham study. *Circulation*. 1979 Jan;59(1):8-13.
28. Seon CS, Min KW, Lee SY, Nho KW, Park SH, Koo BK, Han KA. Cardiovascular Risk Assessment with Vascular Function, Carotid Atherosclerosis and the UKPDS Risk Engine in Korean Patients with Newly Diagnosed Type 2 Diabetes. *Diabetes Metab J*. 2011 Dec;35(6):619-27.
29. Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia*. 2001 Sep;44 Suppl 2:S14-21.
30. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III27-32.
31. Rask-Madsen C, King GL. Vascular complications of diabetes: mechanisms of injury and protective factors. *Cell Metab*. 2013 Jan 8;17(1):20-33.
32. Kanters SD, Banga JD, Stolk RP, Algra A. Incidence and determinants of mortality and cardiovascular events in diabetes mellitus: a meta-analysis. *Vasc Med*. 1999;4(2):67-75.
33. Prasad H, Ryan DA, Celzo MF, Stapleton D. Metabolic syndrome: definition and therapeutic implications. *Postgrad Med*. 2012 Jan;124(1):21-30.
34. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, Singh GM, Gutierrez HR, Lu Y, Bahalim AN, Farzadfar F, Riley LM, Ezzati M; Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Body Mass Index) National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9·1 million participants. *Lancet*. 2011 Feb 12;377(9765):557-67.
35. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH; American Heart Association; Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006 Feb 14;113(6):898-918.
36. Hypertension in Diabetes Study (HDS): II. Increased risk of cardiovascular complications in hypertensive type 2 diabetic patients. *J Hypertens*. 1993 Mar;11(3):319-25.
37. Abougambou SS, Abougambou AS, Sulaiman SA, Hassali MA. Prevalence of hypertension, control of blood pressure and treatment in hypertensive with type 2 diabetes in Hospital University Sains Malaysia. *Diabetes Metab Syndr*. 2011 Jul-Sep;5(3):115-9.

38. Estacio RO, Jeffers BW, Gifford N, Schrier RW. Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2000 Apr;23 Suppl 2:B54-64.
39. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*. 1998 Sep 12;352(9131):837-53.
40. Awa WL, Fach E, Krakow D, Welp R, Kunder J, Voll A, Zeyfang A, Wagner C, Schütt M, Boehm B, de Souza M, Holl RW; DPV Initiative; German BMBF Competence Networks Diabetes mellitus and Obesity. Type 2 diabetes from pediatric to geriatric age: analysis of gender and obesity among 120,183 patients from the German/Austrian DPV database. *Eur J Endocrinol*. 2012 Aug;167(2):245-54.
41. Saydah SH, Fradkin J, Cowie CC. Poor control of risk factors for vascular disease among adults with previously diagnosed diabetes. *JAMA*. 2004 Jan 21;291(3):335-42.
42. International Diabetes Federation, The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome Update 2006
http://www.idf.org/webdata/docs/MetS_def_update2006.pdf
43. Wilson PW, D'Agostino RB, Parise H, Sullivan L, Meigs JB. Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2005 Nov 15;112(20):3066-72.
44. World Health Organization .Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of WHO consultation 1999, WHO/NCD/NCS/99.2
45. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005 Oct 25;112(17):2735-52.
46. Koehler C, Ott P, Benke I, Hanefeld M; DIG Study Group. Comparison of the prevalence of the metabolic syndrome by WHO, AHA/NHLBI, and IDF definitions in a German population with type 2 diabetes: the Diabetes in Germany (DIG) Study. *Horm Metab Res*. 2007 Sep;39(9):632-5.
47. Sumpio BE, Riley JT, Dardik A. Cells in focus: endothelial cell. *Int J Biochem Cell Biol*. 2002 Dec;34(12):1508-12.
48. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007 Mar 13;115(10):1285-95.
49. Viridis A, Neves MF, Duranti E, Bernini G, Taddei S. Microvascular endothelial dysfunction in obesity and hypertension. *Curr Pharm Des*. 2013;19(13):2382-9.
50. Cersosimo E, DeFronzo RA. Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases. *Diabetes Metab Res Rev*. 2006 Nov-Dec;22(6):423-36.
51. van Haaren PM, VanBavel E, Vink H, Spaan JA. Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Dec;285(6):H2848-56.

52. Wolberg AS, Aleman MM, Leiderman K, Machlus KR. Procoagulant activity in hemostasis and thrombosis: Virchow's triad revisited. *Anesth Analg*. 2012 Feb;114(2):275-85.
53. McMichael M. New models of hemostasis. *Top Companion Anim Med*. 2012 May;27(2):40-5.
54. Bakker W, Eringa EC, Sipkema P, van Hinsbergh VW. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell Tissue Res*. 2009 Jan;335(1):165-89.
55. Levine AB, Punihaole D, Levine TB. Characterization of the role of nitric oxide and its clinical applications. *Cardiology*. 2012;122(1):55-68.
56. Fleming I, Busse R. Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovasc Res*. 1999 Aug 15;43(3):532-41.
57. Haynes WG, Webb DJ. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. *J Hypertens*. 1998 Aug;16(8):1081-98.
58. Bourque SL, Davidge ST, Adams MA. The interaction between endothelin-1 and nitric oxide in the vasculature: new perspectives. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011 Jun;300(6):R1288-95.
59. Lane HA, Smith JC, Davies JS. Noninvasive assessment of preclinical atherosclerosis. *Vasc Health Risk Manag*. 2006;2(1):19-30.
60. Yeboah J, Crouse JR, Hsu FC, Burke GL, Herrington DM. Brachial flow-mediated dilation predicts incident cardiovascular events in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2007 May 8;115(18):2390-7.
61. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992 Nov 7;340(8828):1111-5.
62. Tian J, Wen Y, Yan L, Cheng H, Yang H, Wang J, Kozman H, Villarreal D, Liu K. Vascular endothelial dysfunction in patients with newly diagnosed type 2 diabetes and effects of 2-year and 5-year multifactorial intervention. *Echocardiography*. 2011 Nov;28(10):1133-40.
63. Su Y, Liu XM, Sun YM, Jin HB, Fu R, Wang YY, Wu Y, Luan Y. The relationship between endothelial dysfunction and oxidative stress in diabetes and prediabetes. *Int J Clin Pract*. 2008 Jun;62(6):877-82.
64. Keymel S, Heinen Y, Balzer J, Rassaf T, Kelm M, Lauer T, Heiss C. Characterization of macro-and microvascular function and structure in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiovasc Dis*. 2011;1(1):68-75.
65. Henry RM, Ferreira I, Kostense PJ, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Kamp O, Bouter LM, Stehouwer CD. Type 2 diabetes is associated with impaired endothelium-dependent, flow-mediated dilation, but impaired glucose metabolism is not; The Hoorn Study. *Atherosclerosis*. 2004 May;174(1):49-56.
66. Naidu OA, Rajasekhar D, Latheef SA. Assessment of endothelial function by brachial artery flow mediated dilatation in microvascular disease. *Cardiovasc Ultrasound*. 2011 Dec 9;9:40.
67. Mavri A, Poredoš P, Suran D, Gaborit B, Juhan-Vague I, Poredoš P. Effect of diet-induced weight loss on endothelial dysfunction: early improvement after the first week of dieting. *Heart Vessels*. 2011 Jan;26(1):31-8.

68. Brook RD, Bard RL, Rubenfire M, Ridker PM, Rajagopalan S. Usefulness of visceral obesity (waist/hip ratio) in predicting vascular endothelial function in healthy overweight adults. *Am J Cardiol*. 2001 Dec 1;88(11):1264-9.
69. Parker BA, Ridout SJ, Proctor DN. Age and flow-mediated dilation: a comparison of dilatory responsiveness in the brachial and popliteal arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Dec;291(6):H3043-9.
70. Iwata M, Miyashita Y, Kumagai H. Seasonal variation of endothelium-dependent flow-mediated vasodilation measured in the same subjects. *Am J Cardiovasc Dis*. 2012;2(2):111-5.
71. Reyes-Soffer G, Holleran S, Di Tullio MR, Homma S, Boden-Albala B, Ramakrishnan R, Elkind MS, Sacco RL, Ginsberg HN. Endothelial function in individuals with coronary artery disease with and without type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2010 Sep;59(9):1365-71.
72. Patel YR, Han KA, Lteif AA, Wallace JP, Mather KJ. A cross-sectional evaluation of seasonality as a determinant of endothelial function. *Nitric Oxide*. 2011 Oct 30;25(3):282-7.
73. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. C-reactive protein decreases prostacyclin release from human aortic endothelial cells. *Circulation*. 2003 Oct 7;108(14):1676-8.
74. Boden G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2011 Apr;18(2):139-43.
75. Holvoet P. Relations between metabolic syndrome, oxidative stress and inflammation and cardiovascular disease. *Verh K Acad Geneeskde Belg*. 2008;70(3):193-219.
76. Takebayashi K, Suetsugu M, Wakabayashi S, Aso Y, Inukai T. Association between plasma visfatin and vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2007 Apr;56(4):451-8.
77. Schwedhelm E, Bartling A, Lenzen H, Tsikas D, Maas R, Brümmer J, Gutzki FM, Berger J, Frölich JC, Böger RH. Urinary 8-iso-prostaglandin F2alpha as a risk marker in patients with coronary heart disease: a matched case-control study. *Circulation*. 2004 Feb 24;109(7):843-8.
78. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*. 1997 Jul;43(7):1209-14.
79. Becker A, van Hinsbergh VW, Jager A, Kostense PJ, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. Why is soluble intercellular adhesion molecule-1 related to cardiovascular mortality? *Eur J Clin Invest*. 2002 Jan;32(1):1-8.
80. Djaberri R, Beishuizen ED, Pereira AM, Rabelink TJ, Smit JW, Tamsma JT, Huisman MV, Jukema JW. Non-invasive cardiac imaging techniques and vascular tools for the assessment of cardiovascular disease in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2008 Sep;51(9):1581-93.
81. Naka KK, Papathanassiou K, Bechlioulis A, Kazakos N, Pappas K, Tigas S, Makriyiannis D, Tsatsoulis A, Michalis LK. Determinants of vascular function in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2012 Oct 12;11:127.

82. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, Kiowski W, Lüscher TF, Mancia G, Natali A, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Spieker LE, Taddei S, Webb DJ; Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005 Feb;23(2):233-46.
83. van Sloten TT, Henry RM, Dekker JM, Nijpels G, Unger T, Schram MT, Stehouwer CD. Endothelial dysfunction plays a key role in increasing cardiovascular risk in type 2 diabetes: the Hoorn study. *Hypertension*. 2014 Dec;64(6):1299-305.
84. Hamilton SJ, Watts GF. Endothelial dysfunction in diabetes: pathogenesis, significance, and treatment. *Rev Diabet Stud*. 2013 Summer-Fall;10(2-3):133-56.
85. Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE, Labazi M, El-Remessy AB, Bartoli M, Caldwell RB, Caldwell RW. Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. *Circ Res*. 2008 Jan 4;102(1):95-102.
86. Yagihashi S, Yamagishi SI, Wada Ri R, Baba M, Hohman TC, Yabe-Nishimura C, Kokai Y. Neuropathy in diabetic mice overexpressing human aldose reductase and effects of aldose reductase inhibitor. *Brain*. 2001 Dec;124(Pt 12):2448-58.
87. Lee AY, Chung SS. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J*. 1999 Jan;13(1):23-30.
88. Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I κ B- α . *Diabetes*. 2002 Jul;51(7):2005-11.
89. Wedgwood S, McMullan DM, Bekker JM, Fineman JR, Black SM. Role for endothelin-1-induced superoxide and peroxynitrite production in rebound pulmonary hypertension associated with inhaled nitric oxide therapy. *Circ Res*. 2001 Aug 17;89(4):357-64.
90. Chakravarthy U, Hayes RG, Stitt AW, McAuley E, Archer DB. Constitutive nitric oxide synthase expression in retinal vascular endothelial cells is suppressed by high glucose and advanced glycation end products. *Diabetes*. 1998 Jun;47(6):945-52.
91. Amadio M, Osera C, Lupo G, Motta C, Drago F, Govoni S, Pascale A. Protein kinase C activation affects, via the mRNA-binding Hu-antigen R/ELAV protein, vascular endothelial growth factor expression in a pericytic/endothelial coculture model. *Mol Vis*. 2012;18:2153-64.
92. Guerci B, Böhme P, Kearney-Schwartz A, Zannad F, Drouin P. Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. Part 2: altered endothelial function and the effects of treatments in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab*. 2001 Sep;27(4 Pt 1):436-47.
93. Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, Aoki T, Etoh T, Hashimoto T, Naruse M, Sano H, Utsumi H, Nawata H. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*. 2000 Nov;49(11):1939-45.
94. Rikitake Y, Liao JK. Rho-kinase mediates hyperglycemia-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in vascular endothelial cells. *Circulation*. 2005 Jun 21;111(24):3261-8.

95. Mehta NN, Sheetz M, Price K, Comiskey L, Amrutia S, Iqbal N, Mohler ER, Reilly MP. Selective PKC beta inhibition with ruboxistaurin and endothelial function in type-2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2009 Feb;23(1):17-24.
96. Smolock AR, Mishra G, Eguchi K, Eguchi S, Scalia R. Protein kinase C upregulates intercellular adhesion molecule-1 and leukocyte-endothelium interactions in hyperglycemia via activation of endothelial expressed calpain. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Feb;31(2):289-96.
97. Hegab Z, Gibbons S, Neyses L, Mamas MA. Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. *World J Cardiol.* 2012 Apr 26;4(4):90-102.
98. Basta G, Schmidt AM, De Caterina R. Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. *Cardiovasc Res.* 2004 Sep 1;63(4):582-92.
99. Gugliucci A. Glycation as the glucose link to diabetic complications. *J Am Osteopath Assoc.* 2000 Oct;100(10):621-34. Xu J, Zou MH. Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction. *Circulation.* 2009 Sep 29;120(13):1266-86.
100. Xu J, Zou MH. Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction. *Circulation.* 2009 Sep 29;120(13):1266-86.
101. Bucala R, Tracey KJ, Cerami A. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes. *J Clin Invest.* 1991 Feb;87(2):432-8.
102. Gabriely I, Yang XM, Cases JA, Ma XH, Rossetti L, Barzilai N. Hyperglycemia induces PAI-1 gene expression in adipose tissue by activation of the hexosamine biosynthetic pathway. *Atherosclerosis.* 2002 Jan;160(1):115-22.
103. Buse MG. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006 Jan;290(1):E1-E8.
104. Beleznaï T, Bagi Z. Activation of hexosamine pathway impairs nitric oxide (NO)-dependent arteriolar dilations by increased protein O-GlcNAcylation. *Vascul Pharmacol.* 2012 Mar-Apr;56(3-4):115-21.
105. Potenza MA, Addabbo F, Montagnani M. Vascular actions of insulin with implications for endothelial dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009 Sep;297(3):E568-77.
106. Muniyappa R, Sowers JR. Role of insulin resistance in endothelial dysfunction. *Rev Endocr Metab Disord.* 2013 Mar;14(1):5-12.
107. Kashyap SR, Lara A, Zhang R, Park YM, DeFronzo RA. Insulin reduces plasma arginase activity in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2008 Jan;31(1):134-9.
108. Gual P, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie.* 2005 Jan;87(1):99-109.
109. Monnier L, Colette C, Mas E, Michel F, Cristol JP, Boegner C, Owens DR. Regulation of oxidative stress by glycaemic control: evidence for an independent inhibitory effect of insulin therapy. *Diabetologia.* 2010 Mar;53(3):562-71.
110. Toth PP, Simko RJ, Palli SR, Koselleck D, Quimbo RA, Cziraky MJ. The impact of serum lipids on risk for microangiopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2012 Sep 14;11:109.
111. Davda RK, Stepniakowski KT, Lu G, Ullian ME, Goodfriend TL, Egan BM. Oleic acid inhibits endothelial nitric oxide synthase by a protein kinase C-independent mechanism. *Hypertension.* 1995 Nov;26(5):764-70.

112. Ragheb R, Shanab GM, Medhat AM, Seoudi DM, Adeli K, Fantus IG. Free fatty acid-induced muscle insulin resistance and glucose uptake dysfunction: evidence for PKC activation and oxidative stress-activated signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Nov 13;389(2):211-6.
113. Boden G, She P, Mozzoli M, Cheung P, Gumireddy K, Reddy P, Xiang X, Luo Z, Ruderman N. Free fatty acids produce insulin resistance and activate the proinflammatory nuclear factor-kappaB pathway in rat liver. *Diabetes*. 2005 Dec;54(12):3458-65.
114. Roden M. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle. *News Physiol Sci*. 2004 Jun;19:92-6.
115. Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest*. 1996 Jun 15;97(12):2859-65.
116. Roden M, Krssak M, Stingl H, Gruber S, Hofer A, Fürsinn C, Moser E, Waldhäusl W. Rapid impairment of skeletal muscle glucose transport/phosphorylation by free fatty acids in humans. *Diabetes*. 1999 Feb;48(2):358-64.
117. Krebs M, Geiger M, Polak K, Vales A, Schmetterer L, Wagner OF, Waldhäusl W, Binder BR, Roden M. Increased plasma levels of plasminogen activator inhibitor-1 and soluble vascular cell adhesion molecule after triacylglycerol infusion in man. *Thromb Haemost*. 2003 Sep;90(3):422-8.
118. Mehta JL, Rasouli N, Sinha AK, Molavi B. Oxidative stress in diabetes: a mechanistic overview of its effects on atherogenesis and myocardial dysfunction. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38(5-6):794-803.
119. Dickhout JG, Hossain GS, Pozza LM, Zhou J, Lhoták S, Austin RC. Peroxynitrite causes endoplasmic reticulum stress and apoptosis in human vascular endothelium: implications in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Dec;25(12):2623-9.
120. Zhang M, Song P, Xu J, Zou MH. Activation of NAD(P)H oxidases by thromboxane A2 receptor uncouples endothelial nitric oxide synthase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011 Jan;31(1):125-32.
121. Cannizzo B, Luján A, Estrella N, Lembo C, Cruzado M, Castro C. Insulin resistance promotes early atherosclerosis via increased proinflammatory proteins and oxidative stress in fructose-fed ApoE-KO mice. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:941304.
122. Vergnani L, Hatrik S, Ricci F, Passaro A, Manzoli N, Zuliani G, Brovkovich V, Fellin R, Malinski T. Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production : key role of L-arginine availability. *Circulation*. 2000 Mar 21;101(11):1261-6.
123. Karbach S, Wenzel P, Waisman A, Munzel T, Daiber A. eNOS uncoupling in cardiovascular diseases-the role of oxidative stress and inflammation. *Curr Pharm Des*. 2014;20(22):3579-94.
124. Brink TC, Regenbrecht C, Demetrius L, Lehrach H, Adjaye J. Activation of the immune response is a key feature of aging in mice. *Biogerontology*. 2009 Dec;10(6):721-34.
125. Tesfamariam B, DeFelice AF. Endothelial injury in the initiation and progression of vascular disorders. *Vascul Pharmacol*. 2007 Apr;46(4):229-37.

126. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Wolzt M, Schernthaner G. Asymmetric dimethylarginine predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007 Jul;30(7):1834-9.
127. Hecker PA, Leopold JA, Sachin A, Gupte Z, Recchia FA, Stanley WC. Impact of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency on the pathophysiology of cardiovascular disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013 Feb 15; 304(4): H491–H500.
128. Ramakrishna V, Jailkhani R. Oxidative stress in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) patients. *Acta Diabetol*. 2008 Mar;45(1):41-6.
129. Abou-Seif MA, Youssef AA. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta*. 2004 Aug 16;346(2):161-70.
130. Choi HC, Song P, Xie Z, Wu Y, Xu J, Zhang M, Dong Y, Wang S, Lau K, Zou MH. Reactive nitrogen species is required for the activation of the AMP-activated protein kinase by statin in vivo. *J Biol Chem*. 2008 Jul 18;283(29):20186-97.
131. Hattori Y, Nakanishi N, Akimoto K, Yoshida M, Kasai K. HMG-CoA reductase inhibitor increases GTP cyclohydrolase I mRNA and tetrahydrobiopterin in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Feb 1;23(2):176-82.
132. Deutsche Diabetes Gesellschaft, Nationale Versorgungsleitlinien - Therapie des Typ-2-Diabetes, 1. Auflage, Version 1, August 2013, AWMF-Register:Nr.:nvl-001g
133. Kao J, Tobis J, McClelland RL, Heaton MR, Davis BR, Holmes DR Jr, Currier JW; Investigators in the Prevention of Restenosis With Tranilast and Its Outcomes Trial. Relation of metformin treatment to clinical events in diabetic patients undergoing percutaneous intervention. *Am J Cardiol*. 2004 Jun 1;93(11):1347-50, A5.
134. Krysiak R, Okopien B. The effect of metformin on monocyte secretory function in simvastatin-treated patients with impaired fasting glucose. *Metabolism*. 2013 Jan;62(1):39-43.
135. Davis BJ, Xie Z, Viollet B, Zou MH. Activation of the AMP-activated kinase by antidiabetes drug metformin stimulates nitric oxide synthesis in vivo by promoting the association of heat shock protein 90 and endothelial nitric oxide synthase. *Diabetes*. 2006 Feb;55(2):496-505.
136. Kim SA, Choi HC. Metformin inhibits inflammatory response via AMPK-PTEN pathway in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Sep 7;425(4):866-72.
137. Hattori Y, Suzuki K, Hattori S, Kasai K. Metformin inhibits cytokine-induced nuclear factor kappaB activation via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. *Hypertension*. 2006 Jun;47(6):1183-8.
138. Tamayo T, Rosenbauer J, Wild SH, Spijkerman AM, Baan C, Forouhi NG, Herder C, Rathmann W. Diabetes in Europe: an update. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014 Feb;103(2):206-17.
139. Schulze MB, Hoffmann K, Boeing H, Linseisen J, Rohrmann S, Möhlig M, Pfeiffer AF, Spranger J, Thamer C, Häring HU, Fritsche A, Joost HG. An accurate risk score based on anthropometric, dietary, and lifestyle factors to predict the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007 Mar;30(3):510-5.

140. Maghsoudi Z, Ghiasvand R, Salehi-Abargouei A. Empirically derived dietary patterns and incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis on prospective observational studies. *Public Health Nutr.* 2016 Feb;19(2):230-41.
141. Liese AD, Weis KE, Schulz M, Toozé JA. Food intake patterns associated with incident type 2 diabetes: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care.* 2009 Feb;32(2):263-8.
142. Qi L, Cornelis MC, Zhang C, van Dam RM, Hu FB. Genetic predisposition, Western dietary pattern, and the risk of type 2 diabetes in men. *Am J Clin Nutr.* 2009 May;89(5):1453-8.
143. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas Y, Stefanadis C. The association between food patterns and the metabolic syndrome using principal components analysis: The ATTICA Study. *J Am Diet Assoc.* 2007 Jun;107(6):979-87; quiz 997.
144. Lutsey PL, Steffen LM, Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation.* 2008 Feb 12;117(6):754-61.
145. de Mello VD, Schwab U, Kolehmainen M, Koenig W, Siloaho M, Poutanen K, Mykkänen H, Uusitupa M. A diet high in fatty fish, bilberries and wholegrain products improves markers of endothelial function and inflammation in individuals with impaired glucose metabolism in a randomised controlled trial: the Sysdimet study. *Diabetologia.* 2011 Nov;54(11):2755-67.
146. Price RK, Wallace JM, Hamill LL, Keaveney EM, Strain JJ, Parker MJ, Welch RW. Evaluation of the effect of wheat aleurone-rich foods on markers of antioxidant status, inflammation and endothelial function in apparently healthy men and women. *Br J Nutr.* 2012 Nov 14;108(9):1644-51.
147. Montonen J, Boeing H, Fritsche A, Schleicher E, Joost HG, Schulze MB, Steffen A, Pischon T. Consumption of red meat and whole-grain bread in relation to biomarkers of obesity, inflammation, glucose metabolism and oxidative stress. *Eur J Nutr.* 2013 Feb;52(1):337-45.
148. Qi L, van Dam RM, Liu S, Franz M, Mantzoros C, Hu FB. Whole-grain, bran, and cereal fiber intakes and markers of systemic inflammation in diabetic women. *Diabetes Care.* 2006 Feb;29(2):207-11.
149. Pereira MA, Jacobs DR Jr, Pins JJ, Raatz SK, Gross MD, Slavin JL, Seaquist ER. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. *Am J Clin Nutr.* 2002 May;75(5):848-55.
150. Schulze MB, Schulz M, Heidemann C, Schienkiewicz A, Hoffmann K, Boeing H. Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2007 May 14;167(9):956-65.
151. Ye EQ, Chacko SA, Chou EL, Kugizaki M, Liu S. Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain. *J Nutr.* 2012 Jul;142(7):1304-13.
152. Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, von Bergmann K, Grundy SM, Brinkley LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2000 May 11;342(19):1392-8.
153. Glore SR, Van Treeck D, Knehans AW, Guild MJ. Soluble fiber and serum lipids: a literature review. *Am Diet Assoc.* 1994 Apr;94(4):425-36.

154. Pins JJ, Geleva D, Keenan JM, Frazel C, O'Connor PJ, Cherney LM. Do whole-grain oat cereals reduce the need for antihypertensive medications and improve blood pressure control? *J Fam Pract.* 2002 Apr;51(4):353-9.
155. Papamichael CM, Aznaouridis KA, Karatzis EN, Karatzi KN, Stamatelopoulos KS, Vamvakou G, Lekakis JP, Mavrikakis ME. Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. *Clin Sci (Lond).* 2005 Jul;109(1):55-60.
156. Zampelas A, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Stefanadis C. Associations between coffee consumption and inflammatory markers in healthy persons: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2004 Oct;80(4):862-7.
157. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Qi L, Hu FB. Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *Am J Clin Nutr.* 2006 Oct;84(4):888-93.
158. Shechter M, Shalmon G, Scheinowitz M, Koren-Morag N, Feinberg MS, Harats D, Sela BA, Sharabi Y, Chouraqui P. Impact of acute caffeine ingestion on endothelial function in subjects with and without coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2011 May 1;107(9):1255-61.
159. Floegel A, Pischon T, Bergmann MM, Teucher B, Kaaks R, Boeing H. Coffee consumption and risk of chronic disease in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Germany study. *Am J Clin Nutr.* 2012 Apr;95(4):901-8.
160. Kempf K, Herder C, Erlund I, Kolb H, Martin S, Carstensen M, Koenig W, Sundvall J, Bidel S, Kuha S, Tuomilehto J. Effects of coffee consumption on subclinical inflammation and other risk factors for type 2 diabetes: a clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2010 Apr;91(4):950-7.
161. Ranheim T, Halvorsen B. Coffee consumption and human health--beneficial or detrimental?--Mechanisms for effects of coffee consumption on different risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Mol Nutr Food Res.* 2005 Mar;49(3):274-84.
162. Keijzers GB, De Galan BE, Tack CJ, Smits P. Caffeine can decrease insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care.* 2002 Feb;25(2):364-9.
163. Bassoli BK, Cassolla P, Borba-Murad GR, Constantin J, Salgueiro-Pagadigorria CL, Bazotte RB, da Silva RS, de Souza HM. Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: effects on hepatic glucose release and glycaemia. *Cell Biochem Funct.* 2008 Apr;26(3):320-8.
164. Mubarak A, Bondonno CP, Liu AH, Considine MJ, Rich L, Mas E, Croft KD, Hodgson JM. Acute effects of chlorogenic acid on nitric oxide status, endothelial function, and blood pressure in healthy volunteers: a randomized trial. *J Agric Food Chem.* 2012 Sep 12;60(36):9130-6.
165. Chang WC, Chen CH, Lee MF, Chang T, Yu YM. Chlorogenic acid attenuates adhesion molecules upregulation in IL-1beta-treated endothelial cells. *Eur J Nutr.* 2010 Aug;49(5):267-75.
166. Jiang X, Zhang D, Jiang W. Coffee and caffeine intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of prospective studies. *Eur J Nutr.* 2014 Feb;53(1):25-38.

167. Babio N, Sorlí M, Bulló M, Basora J, Ibarrola-Jurado N, Fernández-Ballart J, Martínez-González MA, Serra-Majem L, González-Pérez R, Salas-Salvadó J; Nureta-PREDIMED Investigators. Association between red meat consumption and metabolic syndrome in a Mediterranean population at high cardiovascular risk: cross-sectional and 1-year follow-up assessment. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012 Mar;22(3):200-7.
168. Jiang R, Ma J, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Dietary iron intake and blood donations in relation to risk of type 2 diabetes in men: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr*. 2004 Jan;79(1):70-5.
169. Lee DH, Jacobs DR Jr, Gross M, Kiefe CI, Roseman J, Lewis CE, Steffes M. Gamma-glutamyltransferase is a predictor of incident diabetes and hypertension: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Clin Chem*. 2003 Aug;49(8):1358-66.
170. Azadbakht L, Esmailzadeh A. Red meat intake is associated with metabolic syndrome and the plasma C-reactive protein concentration in women. *J Nutr*. 2009 Feb;139(2):335-9.
171. Fretts AM, Howard BV, McKnight B, Duncan GE, Beresford SA, Mete M, Eilat-Adar S, Zhang Y, Siscovick DS. Associations of processed meat and unprocessed red meat intake with incident diabetes: the Strong Heart Family Study. *Am J Clin Nutr*. 2012 Mar;95(3):752-8.
172. Song Y, Manson JE, Buring JE, Liu S. A prospective study of red meat consumption and type 2 diabetes in middle-aged and elderly women: the women's health study. *Diabetes Care*. 2004 Sep;27(9):2108-15.
173. Nowotny B, Zahiragic L, Bierwagen A, Kabisch S, Groener JB, Nowotny PJ, Fleitmann AK, Herder C, Pacini G, Erlund I, Landberg R, Haering HU, Pfeiffer AF, Nawroth PP, Roden M. Low-energy diets differing in fibre, red meat and coffee intake equally improve insulin sensitivity in type 2 diabetes: a randomised feasibility trial. *Diabetologia*. 2015 Feb;58(2):255-64.
174. Ziegler D, Strom A, Nowotny B, Zahiragic L, Nowotny PJ, Carstensen-Kirberg M, Herder C, Roden M. Effect of Low-Energy Diets Differing in Fiber, Red Meat, and Coffee Intake on Cardiac Autonomic Function in Obese Individuals With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2015 Sep;38(9):1750-7.
175. Ross AB, Aman P, Kamal-Eldin AJ. Identification of cereal alkylresorcinol metabolites in human urine-potential biomarkers of wholegrain wheat and rye intake. *Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2004 Sep 25;809(1):125-30.
176. Cross AJ, Major JM, Sinha R. Urinary biomarkers of meat consumption. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Jun;20(6):1107-11.
177. Kahl S, Nowotny B, Piepel S, Nowotny PJ, Strassburger K, Herder C, Pacini G, Roden M. Estimates of insulin sensitivity from the intravenous-glucose-modified-clamp test depend on suppression of lipolysis in type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2014 Oct;57(10):2094-102.
178. Ghazi T, Rink L, Sherr JL, Herold KC. Acute metabolic effects of exenatide in patients with type 1 diabetes with and without residual insulin to oral and intravenous glucose challenges. *Diabetes Care*. 2014;37(1):210-6.
179. Scheen AJ, Castillo MJ, Lefèbvre PJ. Assessment of residual insulin secretion in diabetic patients using the intravenous glucagon stimulatory test: methodological aspects and clinical applications. *Diabetes Metab*. 1996 Dec;22(6):397-406.

180. Toeller et al.: Evidenz-basierte Ernährungsempfehlungen zur Behandlung und Prävention des Diabetes mellitus, Autorisierte deutsche Version: M. Toeller nach: Diabetes and Nutrition Study Group (DNSG) of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Mann J, De Leeuw I, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese A, Rizkalla A, Slama G, Toeller M, Uusitupa M, Vessby B on behalf of the DNSG of the EASD Evidence-based nutritional approaches to the treatment and prevention of diabetes mellitus, *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 14, 373-394, 2004; In Abstimmung mit der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG), der Deutschen Adipositas-Gesellschaft (DAG), der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin (DGEM), der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE)
181. Herausgeber: Deutsche Adipositas-Gesellschaft, Deutsche Diabetes-Gesellschaft, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin Autoren: H. Hauner, G. Buchholz, A. Hamann, B. Husemann, B. Koletzko, H. Liebermeister, M. Wabitsch, J. Westenhöfer, A. Wirth, G. Wolfram Evidenzbasierte Leitlinie zur Prävention und Therapie der Adipositas. Version 2007.
182. The Diabetes and Nutrition Study Group (DNSG) of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) 1999, Recommendations for the nutritional management of patients with diabetes mellitus, *Eur J Clin Nutr* 54:353-355, 2000
183. American Diabetes Association. Nutrition recommendations and principles for people with diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2000 Jan;23 Suppl 1:S43-6.
184. Cotie LM, Josse AR, Phillips SM, MacDonald MJ. Endothelial function increases after a 16-week diet and exercise intervention in overweight and obese young women. *Biomed Res Int*. 2014;2014:327395.
185. Pierce GL, Beske SD, Lawson BR, Southall KL, Benay FJ, Donato AJ, Seals DR. Weight loss alone improves conduit and resistance artery endothelial function in young and older overweight/obese adults. *Hypertension*. 2008 Jul;52(1):72-9.
186. Bigornia SJ, Mott MM, Hess DT, Apovian CM, McDonnell ME, Dues MA, Kluge MA, Fiscala AJ, Vita JA, Gokce N. Long-term successful weight loss improves vascular endothelial function in severely obese individuals. *Obesity (Silver Spring)*. 2010 Apr;18(4):754-9.
187. Sciacqua A, Candigliota M, Ceravolo R, Scozzafava A, Sinopoli F, Corsonello A, Sesti G, Perticone F. Weight loss in combination with physical activity improves endothelial dysfunction in human obesity. *Diabetes Care*. 2003 Jun;26(6):1673-8.
188. Barone Gibbs B, Dobrosielski DA, Bonekamp S, Stewart KJ, Clark JM. A randomized trial of exercise for blood pressure reduction in type 2 diabetes: effect on flow-mediated dilation and circulating biomarkers of endothelial function. *Atherosclerosis*. 2012 Oct;224(2):446-53.
189. Volek JS, Ballard KD, Silvestre R, Judelson DA, Quann EE, Forsythe CE, Fernandez ML, Kraemer WJ. Effects of dietary carbohydrate restriction versus low-fat diet on flow-mediated dilation. *Metabolism*. 2009 Dec;58(12):1769-77.
190. Ballard KD, Quann EE, Kupchak BR, Volk BM, Kawiecki DM, Fernandez ML, Seip RL, Maresh CM, Kraemer WJ, Volek JS. Dietary carbohydrate restriction improves insulin sensitivity, blood pressure, microvascular function, and cellular adhesion markers in individuals taking statins. *Nutr Res*. 2013 Nov;33(11):905-12.
191. Phillips SA, Jurva JW, Syed AQ, Syed AQ, Kulinski JP, Pleuss J, Hoffmann RG, Gutterman DD. Benefit of low-fat over low-carbohydrate diet on endothelial health in obesity. *Hypertension*. 2008 Feb;51(2):376-82.

192. Ruth MR, Port AM, Shah M, Bourland AC, Istfan NW, Nelson KP, Gokce N, Apovian CM. Consuming a hypocaloric high fat low carbohydrate diet for 12 weeks lowers C-reactive protein, and raises serum adiponectin and high density lipoprotein-cholesterol in obese subjects. *Metabolism*. 2013 Dec;62(12):1779-87.
193. Momenizadeh A, Heidari R, Sadeghi M, Tabesh F, Ekramzadeh M, Haghighatian Z, Golshahi J, Baseri M. Effects of oat and wheat bread consumption on lipid profile, blood sugar, and endothelial function in hypercholesterolemic patients: A randomized controlled clinical trial. *ARYA Atheroscler*. 2014 Sep;10(5):259-65.
194. Andersson A, Tengblad S, Karlström B, Kamal-Eldin A, Landberg R, Basu S, Aman P, Vessby B. Whole-grain foods do not affect insulin sensitivity or markers of lipid peroxidation and inflammation in healthy, moderately overweight subjects. *J Nutr*. 2007 Jun;137(6):1401-7.
195. Zhou AL, Hergert N, Rompato G, Lefevre M. Whole grain oats improve insulin sensitivity and plasma cholesterol profile and modify gut microbiota composition in C57BL/6J mice. *J Nutr*. 2015 Feb;145(2):222-30.
196. European Society of Cardiology, European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012), The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts), *European Heart Journal*.
<http://www.athero.org/guidelinesDownload/European%20guidelines-CVD-prevention%202012.pdf>
197. Weickert MO, Pfeiffer AF. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr*. 2008 Mar;138(3):439-42.
198. De Punder K, Pruimboom L. The dietary intake of wheat and other cereal grains and their role in inflammation. *Nutrients*. 2013 Mar 12;5(3):771-87.
199. Manrique C, Lastra G, Sowers JR. New insights into insulin action and resistance in the vasculature. *Ann N Y Acad Sci*. 2014 Apr;1311:138-50.
200. Bøhn SK, Ward NC, Hodgson JM, Croft KD. Effects of tea and coffee on cardiovascular disease risk. *Food Funct*. 2012 Jun;3(6):575-91.
201. Buscemi S, Verga S, Batsis JA, Donatelli M, Tranchina MR, Belmonte S, Mattina A, Re A, Cerasola G. Acute effects of coffee on endothelial function in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr*. 2010 May;64(5):483-9.
202. Wedick NM, Brennan AM, Sun Q, Hu FB, Mantzoros CS, van Dam RM. Effects of caffeinated and decaffeinated coffee on biological risk factors for type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Nutr J*. 2011 Sep 13;10:93.
203. Moisey LL, Kacker S, Bickerton AC, Robinson LE, Graham TE. Caffeinated coffee consumption impairs blood glucose homeostasis in response to high and low glycemic index meals in healthy men. *Am J Clin Nutr*. 2008 May;87(5):1254-61.
204. InterAct Consortium, Bendinelli B, Palli D, Masala G, Sharp SJ, Schulze MB, Guevara M, van der AD, Sera F, Amiano P, Balkau B, Barricarte A, Boeing H, Crowe FL, Dahm CC, Dalmeijer G, de Lauzon-Guillain B, Egeberg R, Fagherazzi G, Franks PW, Krogh V, Huerta JM, Jakszyn P, Khaw KT, Li K, Mattiello A, Nilsson PM, Overvad K, Ricceri F, Rolandsson O, Sánchez MJ, Slimani N, Sluijs I, Spijkerman AM, Teucher B, Tjonneland A, Tumino R, van den Berg SW, Forouhi NG, Langeberg C, Feskens EJ, Riboli E, Wareham NJ. Association between dietary meat consumption and incident type 2 diabetes: the EPIC-InterAct study. *Diabetologia*. 2013 Jan;56(1):47-59.

205. Barak F, Falahi E, Keshteli AH, Yazdannik A, Saneei P, Esmailzadeh A. Red meat intake, insulin resistance, and markers of endothelial function among Iranian women. *Mol Nutr Food Res*. 2015 Feb;59(2):315-22.
206. Rooyackers TM, Stroes ES, Kooistra MP, Van Faassen EE, Hider RC, Rabelink TJ, et al. Ferric saccharate induces oxygen radical stress and endothelial dysfunction *in vivo*. *Eur. J. Clin. Invest*. 2002 Mar;32 Suppl. 1:9–16.
207. Sejda T, Pit'ha J, Svandová E, Poledne R. Limitations of non-invasive endothelial function assessment by brachial artery flow-mediated dilatation. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005 Jan;25(1):58-61.
208. Simova I, Nossikoff A, Denchev S. Interobserver and intraobserver variability of flow-mediated vasodilatation of the brachial artery. *Echocardiography*. 2008 Jan;25(1):77-83.
209. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R; International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Jan 16;39(2):257-65.
210. Schnabel RB, Wild PS, Schulz A, Zeller T, Sinning CR, Wilde S, Kunde J, Lubos E, Lackner KJ, Warnholtz A, Gori T, Blankenberg S, Munzel T; Gutenberg Health Study Investigators. Multiple endothelial biomarkers and noninvasive vascular function in the general population: the Gutenberg Health Study. *Hypertension*. 2012 Aug;60(2):288-95.
211. Lunder M, Janic M, Kejzar N, Sabovic M. Associations among different functional and structural arterial wall properties and their relations to traditional cardiovascular risk factors in healthy subjects: a cross-sectional study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2012 Apr 25;12:29.
212. Eleftheriadou I, Koliaki C, Grigoropoulou P, Perrea D, Kokkinos A, Tentolouris N, Katsilambros N. Die Sensitivität und Spezifität des Knöchel-Arm-Index für die Diagnose der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit in Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus mit oder ohne diabetische Neuropathie. *Thieme Diabetologie und Stoffwechsel* 2009; 4 – P_165, DOI: 10.1055/s-0029-1221969.
213. Kyoung-Ha Park and Woo Jung Parkcorresponding author. Endothelial Dysfunction: Clinical Implications in Cardiovascular Disease and Therapeutic Approaches. *J Korean Med Sci*. 2015 Sep; 30(9): 1213–1225.
214. Wang Z, Zhang B, Zhai F, Wang H, Zhang J, Du W, Su C, Zhang J, Jiang H, Popkin BM. Fatty and lean red meat consumption in China: differential association with Chinese abdominal obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014 Aug;24(8):869-76.
215. Katcher HI, Legro RS, Kunselman AR, Gillies PJ, Demers LM, Bagshaw DM, Kris-Etherton PM. The effects of a whole grain-enriched hypocaloric diet on cardiovascular disease risk factors in men and women with metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr*. 2008 Jan;87(1):79-90.
216. Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1992 Aug;56(2):320-8.
217. Hollænder PL, Ross AB, Kristensen M. Whole-grain and blood lipid changes in apparently healthy adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled studies. *Am J Clin Nutr*. 2015 Sep;102(3):556-72.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

25.04.2016, Sandra Idler

Danksagung

Diese Arbeit steckt voller Anstrengungen und Emotionen. Es gilt, sich an dieser Stelle bei den Menschen zu bedanken, die diese Dissertation ermöglicht haben.

Als erstes möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. med. Michael Roden, Direktor des Institutes für klinische Diabetologie, für die Vergabe des interessanten Promotionsthemas und für die Möglichkeit diese Arbeit im klinischen Studienzentrum des Deutschen Diabetes-Zentrums durchzuführen, bedanken.

Für die Betreuung meiner Arbeit danke ich Dr. med. Lejla Zahiragic, Dr. med. Bettina Nowotny und Prof. Dr. med. Karsten Müssig. Sie standen mir mit Anregungen und Ratschlägen zur Seite.

Für die Einarbeitung in die praktischen Details und sämtliche Hilfestellungen rund um die Arbeit und die Probandenbetreuung gilt mein besonderer Dank den Mitarbeitern des klinischen Studienzentrums (allen voran den Study Nurses) und den Mitarbeitern des technischen Labors. Des Weiteren möchte ich Ann Kristin Fleitmann, Parnian Firouzi und Lioba Irkens für die gemeinsame Betreuung der Probanden und die ständige Motivation danken.

Herrn Dr. Pavel Bobrov danke ich ganz herzlich für seine Geduld und Hilfe in statistischen Fragen.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Familie und Freunde. Meine Eltern, Kerstin und Jürgen Dalmus sowie meine Großeltern, Gunter und Monika Wagner, die den Traum von der Ärztin in mir immer unterstützt haben. Die in Zeiten des Durchhängens an meiner Seite standen und mit mir gekämpft haben. Mein Ehemann, Dipl.-Inf. Stefan Idler für seine Geduld, Gelassenheit, Strukturiertheit, den Glauben an mich und meine Fähigkeiten und sein IT-Know-How. Ohne seine Unterstützung und seinen Zuspruch wäre die Arbeit wesentlich schwerer geworden. Meine Tochter Mathilda, dafür dass sie so oft auf mich verzichten musste und trotzdem immer ein Lächeln, eine liebevolle Geste oder ein warmes Wort für mich hat.