



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Einfluss einer Lebensstilmodifikation auf antioxidative
Enzyme bei Typ 2 Diabetikern

Verfasserin

Manuela Wimmer

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt: Ernährungswissenschaften

Betreuerin / Betreuer: Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz WAGNER

...für meine Eltern!

DANKSAGUNG

An dieser Stelle ein großes Dankeschön...

... an A.o. Univ. Prof. Dr. Karl-Heinz Wagner für die Bereitstellung dieses Themas sowie für die Betreuung während der letzten Monate.

... an Mag.^a Elisabeth Müllner für ihre Unterstützung und motivierenden Worten vor allem während meiner Zeit im Labor. Danke, dass du immer ein offenes Ohr für mich hattest und mir stets mit Rat und Tat zu Seite standest. Jede noch so blöde Frage wurde von dir mit großer Geduld beantwortet.

... an all die Menschen, die ich im Laufe meines Studiums kennenlernen durfte. Ihr habt mir den Studienalltag versüßt und ihn zu einem unvergesslichen Lebensabschnitt gemacht.

... an meine Freunde, die mich durch mein Studium begleitet haben mir und mir so manch wunderbaren Moment beschert haben.

... an meinen Freund, Christopher Leitner, der mir immer das Gefühl gibt, alles schaffen zu können. Danke, dass du immer für mich da warst, mich mit aufbauenden Worten begleitet hast und niemals müde wurdest, meine Arbeit zu lesen.

Mein größter Dank gebührt aber meinen Eltern, die immer an mich glauben und mir stets zur Seite stehen. Ohne sie und ihre große finanzielle Unterstützung wäre all das nie möglich gewesen. Danke für eure nie enden wollende Geduld und für die unerschöpfliche Unterstützung bei der Erreichung meiner Ziele!

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung	1
2. Literaturüberblick	2
2.1 Diabetes mellitus	2
2.1.1 Definition und Diagnostik.....	2
2.1.2 Pathophysiologie und Klassifizierung.....	3
2.1.3 Akutkomplikationen und Spätfolgen	7
2.1.4 Epidemiologie und Entwicklung.....	8
2.1.5 Ökonomische Folgen des Diabetes mellitus	10
2.2 Radikalstoffwechsel und oxidativer Stress.....	12
2.2.1 Freie Radikale	12
2.2.2 Entstehung von Radikalen	13
2.2.3 Oxidativer Stress	15
2.2.4 Oxidativer Stress bei Diabetikern	16
2.3 Antioxidative Schutzsysteme	23
2.3.1 Nicht enzymatische Systeme	24
2.3.2 Enzymatische Systeme	26
2.4 Öle und Gemüse in der Behandlung von Typ 2 Diabetikern	30
2.4.1 Einfluss von Gemüse auf Typ 2 Diabetes	31
2.4.2 Einfluss von Öl auf Typ 2 Diabetes	32
2.4.3 Wirkung von Ölen und Gemüse auf den Radikalstoffwechsel bei Typ 2 Diabetikern.....	35
3. Material und Methoden.....	37
3.1 Studiendesign	37
3.2 Probanden:	39
3.2.1 Einschlusskriterien:	39
3.2.2 Ausschlusskriterien:	40
3.3 Studienverlauf.....	41
3.4 Ernährungsintervention.....	42
3.4.1 Interventionsöl.....	42
3.4.2 Gemüse.....	42

3.5 Blutaufbereitung.....	44
3.5.1 Herstellen des isotonischen Phosphatpuffers:	44
3.6 Bestimmung der enzymatischen Antioxidantien	45
3.6.1 Bestimmung von Katalase EC.1.11.1.6.....	45
3.6.2 Bestimmung von Superoxiddismutase EC.1.15.11	47
3.6.3 Bestimmung von Glutathionperoxidase EC 1.11.1.9.....	51
3.6.4 Bestimmung der Hämoglobinkonzentration.....	54
3.6.5 Statistische Auswertung	56
4. Ergebnisse und Diskussion.....	57
4.1 Superoxiddismutase	57
4.1.1 Ausgangswerte der SOD-Aktivität.....	57
4.1.2 Aktivitätsänderungen der SOD.....	62
4.2 Katalase.....	66
4.2.1 Ausgangswerte der Katalase-Aktivität.....	66
4.2.2 Aktivitätsänderungen der Katalase.....	69
4.3 Glutathionperoxidase.....	73
4.3.1 Ausgangswerte der GSH-Px-Aktivität	73
4.3.2 Aktivitätsänderung der GSH-Px	77
4.4 Weitere Untersuchungen	79
4.4.1 Einfluss von Rauchen auf Enzymaktivität.....	79
4.4.2 Einfluss von BMI auf Enzymaktivität	79
4.4.3 Einfluss von Alter auf Enzymaktivität	80
4.4.4 Korrelationen der Enzymaktivitäten.....	80
4.4.5 Korrelation der Enzymaktivität mit C-Peptid.....	82
4.5 Bemerkung	84
5. Schlussbetrachtung	85
6. Zusammenfassung	87
7. Summary	88
8. Literaturverzeichnis.....	89

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Produktion und Funktion von Insulin	3
Abbildung 2: NEFA und ihre lipotoxische Wirkungsweise	5
Abbildung 3: Univalente Reduktion von Sauerstoff	13
Abbildung 4: Endotheldysfunktion und die resultierenden Veränderungen	15
Abbildung 5: Aktivierte Stoffwechselwege durch PARP	18
Abbildung 6: Polyolstoffwechsel.....	19
Abbildung 7: Antioxidative Schutzsysteme der Zelle und ROS- Quellen	23
Abbildung 8: GSH und Bildung von GSSG	26
Abbildung 9: Glutathionperoxidase (GSH-Px).....	28
Abbildung 10: Studiendesign	37
Abbildung 11: Zeitlicher Ablauf der Studie	41
Abbildung 12: Mittlere SOD-Aktivität (I.U./g Hb) der einzelnen Gesundheitsgruppen zu T0.....	57
Abbildung 13: SOD-Aktivität zu T0, T1 und T2 in der Informations- und in der Interventionsgruppe	63
Abbildung 14: Mittlere CAT-Aktivität (I.U./g Hb) der einzelnen Gesundheitsgruppen zu T0.....	66
Abbildung 15: Aktivität von CAT (I.U./g Hb) des Gesamtkollektivs zu T0 bei Männer und Frauen	68
Abbildung 16: CAT-Aktivität zu T0, T1 und T2 in der Informations- und in der Interventionsgruppe	70
Abbildung 17: Aktivitätsänderung CAT von T0 auf T3 in den einzelnen Gesundheitsgruppen.....	71
Abbildung 18: Mittlere GSH-Px-Aktivität (I.U./g Hb) der einzelnen Gesundheitsgruppen zu T0.....	73
Abbildung 19: Aktivität von GSH-Px (I.U./g Hb) im Gesamtkollektiv zu T0 bei Männer und Frauen	75
Abbildung 20: GSH-Px-Aktivität zu T0, T1 und T2 in der Informations- und in der Interventionsgruppe	77

Abbildung 21: Korrelation zwischen BMI und GSH-Px zu T0 bei ITDM2	79
Abbildung 22: Korrelation SOD-CAT zu TO im Gesamtkollektiv	81
Abbildung 23: Korrelation SOD-GSH-Px zu TO im Gesamtkollektiv	81
Abbildung 24: Korrelation CAT-GSH-Px zu TO im Gesamtkollektiv	82

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Radikale und Nicht-Radikale	12
Tabelle 2: Nicht-enzymatische Antioxidantien	25
Tabelle 3: Weitere antioxidativ wirksame Enzyme	29
Tabelle 4: Studienkollektiv	39
Tabelle 5: FS- Zusammensetzung des Studienöls.....	42
Tabelle 6: Gemüseprodukte.....	43
Tabelle 7: Chemikalien für isotonischen Phosphatpuffer	44
Tabelle 8: Chemikalien für die Aktivitätsbestimmung von Katalase	45
Tabelle 9: Pipettierschema Katalase.....	46
Tabelle 10: Reagenzien für die Aktivitätsbestimmung von SOD.....	48
Tabelle 11: Pipettierschema Superoxiddismutase	49
Tabelle 12 Reagenzien für die Aktivitätsbestimmung von GSH-Px.....	52
Tabelle 13: Pipettierschema GSH-Px	53
Tabelle 14: Chemikalien für die Bestimmung von Hämoglobin	55
Tabelle 15: Messergebnisse von SOD der beiden Behandlungsgruppen zu T0, T1 und T2	64
Tabelle 16: Messergebnisse von CAT der beiden Behandlungsgruppen zu T0, T1 und T2	72
Tabelle 17: Messergebnisse von GSH-Px der beiden Behandlungsgruppen zu T0, T1 und T2	78

Abkürzungsverzeichnis

ADA	American Diabetes Association
ADP	Adenosindiphosphat
AGE	Advanced glycation endproduct
AO	Antioxidantien
ATP	Adenosintriphosphat
BH ₄	Tetrahydrobiopterin
CAT	Katalase
DAG	Diacylglycerol
EDTA	Ethyldiamintetraacetat
FFQ	Food Frequency Questionnaire
FPG	Fasting Plasma Glucose
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
GFAT	Glutamin:Fructose-6-Amidotransferase
GLUT	Glucosetransporter
GR	Glutathionreduktase
GSH	reduziertes Glutathion
GSH-Px	Glutathionperoxidase
GSSG	oxidiertes Glutathion (Glutathion-Disulfid)
GST	Glutathion-S-Transferase
Hb	Hämoglobin
HCl	Salzsäure
I.U.	Internationale Einheit
IFG	Impaired Fasting Glucose
IGT	Impaired Glucose Tolerance
MDA	Malondialdehyd
MUFA	monounsaturated fatty acid
NaOH	Natronlauge
NEFA	non-esterified fatty acids
NF _k B	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
NO	Stickstoffmonoxid
OGT	O-GlcNAc Transferase
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1
PARP	Poly (ADP-ribose)-Polymerase
PKC	Proteinkinase C
PUFA	polyunsaturated fatty acid
QLQ	Quality of Life Questionnaire
RAGE	Rezeptor für AGE
RNS	reactive nitrogen species

ROOH	Hydroperoxyd
ROS	reactive oxygen species
SFA	saturated fatty acid
SOD	Superoxiddismutase
Sp1	Specific Protein 1
TGF- α /TGF- β_1	Transforming Growth Factor- α / β_1
UCP-1	uncoupling protein-1

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Diabetes mellitus ist eine der häufigsten chronischen Stoffwechselerkrankungen, an der derzeit etwa 366 Mio. Menschen leiden. Bedingt durch den wandelnden Lebensstil gekennzeichnet durch wenig Bewegung bei gleichbleibender Ernährung, aber auch durch die vermehrte Urbanisierung, dem steigenden Lebensalter und der wachsenden Bevölkerung ist die Prävalenz für Typ 2 Diabetes im Steigen begriffen. Prognosen zu Folge wird die Gesamtzahl der Diabetiker um 50,7% steigen, wobei vor allem in den einkommensschwachen Ländern mit einem Anstieg um 92% zu rechnen ist. Es ist bekannt, dass an Typ 2 Diabetes erkrankte Personen einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt sind. Die Entstehung von mikro- und makrovaskulären Erkrankungen wird damit in Zusammenhang gebracht. Eine Änderung des Ernährungsverhaltens, das eine verbesserte Blutzuckerkontrolle ermöglicht, kann zur Senkung des oxidativen Stresses beitragen.

Eine Lebensstilmodifikation im Bereich des Ernährungs- und Bewegungsverhaltens hat sich sowohl in der Primär- als auch in der Sekundärprävention des Typ 2 Diabetes als sinnvoll erwiesen. Die Konsumation von hochwertigem Pflanzenöl, welches reich an ungesättigten Fettsäuren ist, und viel Gemüse wird mit einem gesunden Lebensstil verbunden. Ergebnisse aus einigen epidemiologischen Studien liefern Hinweise über positive Effekte dieser Lebensmittelgruppe. Bisweilen liegen aber nur wenige Interventionsstudien mit Lebensmitteln aus pflanzlicher Herkunft bei Typ 2 Diabetikern vor. Aus diesem Grund wurde im Rahmen der DIAPLANT Studie am Institut für Ernährungswissenschaften eine 8-wöchige Interventionsstudie mit Pflanzenöl und Gemüse durchgeführt. Die verschiedenen Parameter wurden in einer Dissertation und mehreren Diplomarbeiten evaluiert. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es festzustellen, in wie weit das antioxidative System durch eine Pflanzenöl- und Gemüseintervention beeinflusst wird. Die Aktivität der antioxidativen Enzyme Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase und Katalase wurde bei Typ 2 Diabetikern, bei Personen mit gestörter Nüchternnglucosekonzentration und bei Gesunden untersucht.

2. LITERATURÜBERBLICK

2.1 Diabetes mellitus

2.1.1 Definition und Diagnostik

Diabetes ist charakterisiert durch Hyperglykämie verursacht durch einen absoluten oder relativen Insulinmangel, einer gestörten Insulinwirkung oder eine Kombination beider Faktoren.

Bei der **Diagnose** wird der Nüchternblutglucosewert an mindestens zwei verschiedenen Tagen gemessen. Ein sogenannter oraler Glukosetoleranztest (OGTT) nach den Richtlinien der WHO wird bei einem klinischen Verdacht und widersprüchlichen Ergebnissen durchgeführt. Zwei Stunden nach der Glucoseaufnahme (75g Glucose in 250-300ml Wasser gelöst) sollte sich eine Glucosekonzentration von $\leq 7,8 \text{ mmol/l}$ im venösen Plasma eingestellt haben. Die normale Nüchtern- Blutglucosekonzentration im venösen Plasma liegt bei $\leq 100 \text{ mg/dl}$ ($\leq 5,6 \text{ mmol/l}$) (Roden, 2009).

Zur Diagnose von Diabetes mellitus werden von der American Diabetes Association (ADA) folgende Kriterien herangezogen:

1. **HbA_{1c}** $\geq 6,5\%$ wobei der Test standardisiert und zertifiziert sein muss (NGSP, National Glycohemoglobin Standardization Program und DCCT, Diabetes Control and Complications Trial) ODER
2. **Nüchternplasmaglucose** (FPG = fasting plasma glucose) $\geq 126 \text{ mg/dl}$ (7 mmol/l) bei mindestens 8h Nahrungskarenz ODER
3. **2-h-Plasmaglucose** $\geq 200 \text{ mg/dl}$ ($11,1 \text{ mmol/l}$) während eines oralen Glukosetoleranztests (OGTT) nach WHO Kriterien ODER
4. **klassische Symptome** des Diabetes mellitus (Polyurie, Polydipsie, unerklärbarer Gewichtsverlust mit ev. Polyphagie, Sehtrübung) und Plasmaglucose $\geq 200 \text{ mg/dl}$ ($11,1 \text{ mmol/l}$)

Bei Abwesenheit einer eindeutigen Hyperglykämie sollen die Punkte 1-3 wiederholt werden (ADA, 2011).

Die Anwendung von HbA_{1c} als Diagnosekriterium ist neu. Als Begründung für seinen Einsatz wurde die Beurteilbarkeit des chronischen Glykämieverlaufes und die Variabilität der Glucosebestimmung angeführt (Roden, 2009).

2.1.2 Pathophysiologie und Klassifizierung

Der Begriff „Diabetes“ bezeichnet eine Gruppe von Stoffwechselstörungen, die nicht nur die Umsetzung von Kohlenhydraten, sondern auch andere Systeme des Körpers betreffen. Ursache dafür ist entweder

- eine verminderte oder fehlende Synthese von Insulin hervorgerufen durch eine Schädigung des Pankreas
- ein falsch synthetisiertes und in seiner Struktur verändertes Insulin
- oder ein an dem Zielorgan nicht bzw. nur ungenügend wirksames Insulin (Kasper, 2009)

Bei Typ 2 Diabetes kann zum einen eine gestörte Insulinwirkung (Insulinresistenz) am Zielorgan, aber auch eine Störung der Insulinsekretion vorliegen. Insulin wird im Pankreas in den β -Zellen der Langerhans'schen Inseln gebildet. Die Insulinausschüttung wird durch einen Glucoseanstieg im Blut induziert. Die Insulinsekretion garantiert nach der Nahrungsaufnahme eine Normalisierung des Blutzuckerspiegels (siehe Abbildung 1).

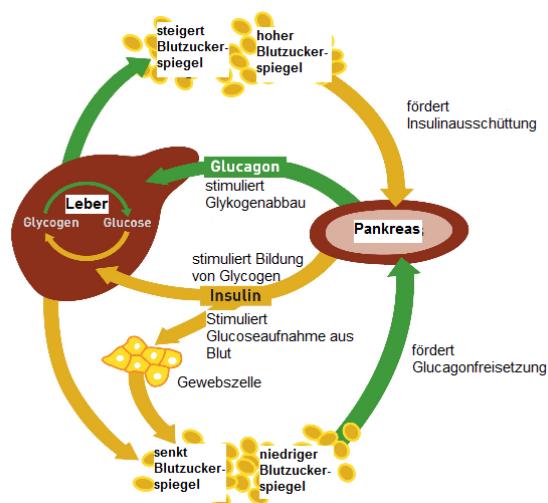


Abbildung 1: Produktion und Funktion von Insulin (mod. nach IDF, 2011)

Insulin hat daneben eine mannigfaltige Wirkung im menschlichen Körper. In anabolen Prozessen beeinflusst es das Fettgewebe und den Muskel durch

Stimulation der Protein- und der Glykogensynthese. Die Lipogenese wird durch Insulin in der Leber und im Fettgewebe verstärkt. Gleichzeitig hemmt es die Lipolyse, Glycolyse und Proteolyse in den genannten Geweben. Insulin unterstützt aber auch den Transport von Aminosäuren und Ionen an der Zellmembran (Mehnert et al., 2003).

Normalerweise können sich die β -Zellen an die Insulinwirkung anpassen. Bei einer vorliegenden Insulinresistenz wird anfänglich durch gesteigerte Insulinausschüttung (Hyperinsulinämie) ausgeglichen um eine normale Blutglucosekonzentration zu garantieren (Evans et al., 2003). Bei Patienten mit IGT (impaired glucose tolerance) oder Typ 2 Diabetes ist jedoch die β -Zellfunktion nicht mehr ausreichend für den jeweiligen Grad der Insulinsensitivität (Stumvoll et al., 2005).

Insulinmangel oder seine Unwirksamkeit im Körper hat schwerwiegende Folgen. Der Blutglucosespiegel steigt an (Hyperglykämie), später sind durch die anhaltende Hyperglykämie auch andere Organsystem betroffen und werden in Mitleidenschaft gezogen (siehe Kapitel 2.1.3).

Typ 2 Diabetes verläuft im Gegensatz zu Typ 1 Diabetes oft asymptomatisch und wird häufig erst bei einer Routineuntersuchung entdeckt (Leitzmann et al., 2009).

Die meisten Typ 2 Diabetiker entwickeln nach 10 Jahren aufgrund der β -Zellschädigung des Pankreas einen schweren Insulinmangel (Stumvoll et al., 2005). Dieses Phänomen kann durch das Prinzip der **Glucotoxizität** („glucose toxicity“) erklärt werden. Dabei werden β -Zellen durch den anhaltend hohen Blutzuckerspiegel und der damit verbundenen gesteigerten ROS (reactive oxygen species) Produktion negativ beeinflusst, sodass es zum Zelluntergang kommen kann. Superoxidanionen, die im Stoffwechsel entstehen, werden normalerweise durch SOD dismutiert bzw. durch Katalase und GSH-Px zu H_2O abgebaut. Bei Diabetikern ist diese Stoffwechselleage über das normale Maß gesteigert und das antioxidative System somit überfordert, es kann zur oxidativen Zellschädigung kommen (Robertson et al., 2003).

Diabetes hängt stark mit Übergewicht und Adipositas zusammen. Dabei kommt es zu vermehrter Fetteinlagerung vor allem im viszeralen und im subkutanen Fettgewebe und zur verstärkten Einlagerung von Triglyceriden in Adipozyten. Da diese gegen Insulin resistent sind, findet in ihnen eine gesteigerte Lipolyse statt. Sowohl bei Diabetikern als auch bei Nichtdiabetikern sind erhöhte Konzentrationen an nicht-veresterten Fettsäuren (non-esterified fatty acids, NEFA) nachweisbar. Eine anhaltend hohe Konzentration zirkulierender NEFA kann ebenfalls Insulinresistenz verursachen (Buse, 2006, Evans et al., 2003, Stumvoll et al., 2005). Dieses Phänomen wird als **Lipotoxizität** („lipotoxicity“) bezeichnet und betrifft sowohl Leber, Pankreas als auch die Muskulatur (siehe Abbildung 2).

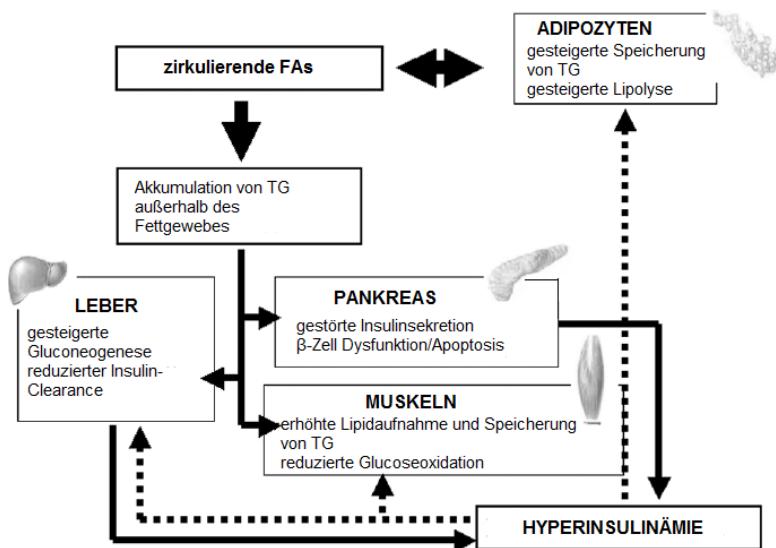


Abbildung 2: NEFA und ihre lipotoxische Wirkungsweise (mod. nach Manco et al., 2004);

FAs: fatty acids; TG: Triglyceride

Zur **Klassifizierung** von Diabetes mellitus hat das Expertenkomitee der ADA vier Typen beschrieben, die eine Unterscheidung ermöglichen. Da bei dieser Studie Typ 2 Diabetiker untersucht wurden, wird hierbei näher auf diesen Typ eingegangen.

1. **Typ 1 Diabetes:** Hiervon sind 5-10% der an Diabetes Erkrankten betroffen, wobei man wiederum 2 Typen unterscheiden kann. Beim *immunologisch* vermittelten Typ kommt es zur Störung der

Insulinsekretion durch Zerstörung der β -Zellen im Pankreas, welcher häufig in einem absoluten Insulinmangel resultiert. Unterschiedliche Antikörper können serologisch nachgewiesen werden. Die Erkrankung wird meist im Kindesalter oder bei Jugendlichen diagnostiziert, jedoch kann sich die Stoffwechselstörung auch erst im Erwachsenenalter manifestieren. Die *idiopathische* Form mit unbekannter Ätiologie trifft man in Europa selten an.

2. **Typ 2 Diabetes:** 90-95% der Diabetiker weisen diesen Typ auf. Es kann eine vorwiegende Störung der Insulinwirkung mit einem relativen Insulinmangel aber auch ein überwiegender Insulinmangel mit Insulinresistenz vorliegen. Als Hauptursache für Typ 2 Diabetes gilt muskuläre und hepatische Insulinresistenz gemeinsam mit viszeraler Adipositas (Kasper, 2009). Das Vorliegen des metabolischen Syndroms ist dabei nicht selten (Kerner and Brückel, 2011). Generell steigt das Risiko an diesem Typ des Diabetes zu erkranken mit dem Alter (charakteristisch ist das Auftreten nach dem 40. Lebensjahr, wobei aber immer mehr junge Menschen davon betroffen sind (Leitzmann et al., 2009)). Typ 2 Diabetes ist mit genetischer Prädisposition assoziiert und tritt familiär gehäuft auf (Nolan et al., 2011).
3. **Andere spezifische Diabetes-Typen:** Erkrankungen des exokrinen Pankreas (z.B.: Pankreatitis, zystische Fibrose), Endokrinopathien (z.B.: Cushing-Syndrom), medikamentös-chemische Ursachen, genetische Defekte der Insulinsekretion (z.B.: MODY, maturity-onset diabetes of the young) und der Insulinwirkung (z.B.: Lipoatropher Diabetes), andere genetische Syndrome, Infektionen und seltene Formen des autoimmun vermittelten Diabetes können hier Ursachen sein (Rodén, 2009).
4. **Gestationsdiabetes:** Diese Art des Diabetes tritt das erste Mal während der Schwangerschaft als Glukosetoleranzstörung auf. Meist normalisiert es sich nach Gravitation wieder. 1-14% aller Schwangerschaften sind von Gestationsdiabetes betroffen (Rodén, 2009, ADA, 2011).

Als Prädiabetes wird eine beginnende Störung des Kohlenhydratstoffwechsels bezeichnet. Dabei kann man eine abnorme Nüchternnglucose (impaired fasting glucose, IFG) oder eine gestörte Glucosetoleranz (impaired glucose tolerance, IGT) nachweisen. IFG und IGT können nicht als ein eigenes klinisches Bild angesehen werden, aber sie weisen auf ein erhöhtes Risiko sowohl für Diabetes als auch für kardiovaskuläre Erkrankungen hin. Beide Formen treten oft gemeinsam mit Adipositas, Dyslipidämie und Bluthochdruck auf. Eine Lebensstilintervention mit einer Steigerung der körperlichen Aktivität, Gewichtsreduktion und Einnahme von Medikamenten kann die Entwicklung von Diabetes vor allem bei IGT verlangsamen bzw. sogar verhindern (ADA, 2011).

2.1.3 Akutkomplikationen und Spätfolgen

Zu den Akutkomplikationen zählen das Coma diabeticum (am häufigsten ketoazidotische hyperosmolare Form) und der hypoglykämische Schock. Benommenheit bis tiefe Bewusstlosigkeit, obstiger Geruch der Ausatemluft verursacht durch Aceton, vertiefte Atmung, Polyurie und Exsikkose sind Zeichen für das diabetische Koma (Kasper, 2009).

Bei länger bestehendem Typ 2 Diabetes können sich im Laufe der Zeit Spätkomplikationen entwickeln. In vielen Fällen sind diese jedoch bereits bei der Erstdiagnose von Diabetes mellitus zu finden. Dabei kann man Erkrankungen im **mikrovaskulären** (kleinen Gefäße) und im **makrovaskulären** (großen Gefäße) Bereich unterscheiden. Das sogenannte diabetische Fußsyndrom mit diabetischen Ulzera, die häufig zu Amputationen führen, nimmt dabei eine Zwischenstellung ein (Rieder et al., 2004).

Der genaue Mechanismus, wie es zur Entwicklung dieser Komplikationen kommt, ist bisweilen noch nicht zur Gänze geklärt. Es gilt als gesichert, dass erhöhter oxidativer Stress (siehe Kapitel 2.2.4) und mangelhafte antioxidative Abwehr bei Diabetikern verstärkt vorkommen. Oxidativer Stress und gesteigerte Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies tragen durch verschiedene Mechanismen zur Entwicklung von diabetischen Spätkomplikationen bei (Kassab and Piwowar, 2012, Szabo, 2009). Chronische extrazelluläre Hyperglykämie, die durch verminderte Glucoseaufnahme in das Muskel- und

Fettgewebe entsteht, wirkt dabei gewebsschädigend (Valko et al., 2007). Zudem haben Diabetiker ein erhöhtes Risiko für Infektionen (IDF, 2011b).

Zu den Mikroangiopathien zählen Erkrankungen der Augen (Retinopathie), der Nieren (Nephropathie) und des Nervensystems (Neuropathie). Diabetische Retinopathie ist die Hauptursache für Erblindung bei Erwachsenen. Über 60% der Typ 2 Diabetiker entwickeln diese im Laufe der Krankheit (Fong et al., 2003). Niereninsuffizienz als Endstadium der Nephropathie entwickeln allerdings nur 20% der Typ 2 Diabetiker. Der Grund dafür könnte laut ADA die erhöhte kardiovaskuläre Mortalität bei den Patienten sein, sodass die terminale Phase der Nephropathie vom Patienten nicht mehr erlebt wird (Molitch et al., 2003). Die distale symmetrische sensomotorische Polyneuropathie tritt am häufigsten bei Neuropathie auf. Betroffen sind hauptsächlich die Füße, später auch die Hände. Sie ist weiters ein bedeutender Faktor bei der Entstehung des Fußsyndroms (Rieder et al., 2004).

Koronare Herzerkrankungen, zerebrovaskuläre Erkrankungen und periphere Verschlusserkrankungen zählen zu den häufigsten Ursachen für Einschränkungen der Leistungsfähigkeit und Mortalität bei Diabetikern. Diabetiker haben im Vergleich zu Nicht-Diabetikern ein 2-4fach erhöhtes Risiko koronare Herzerkrankungen zu entwickeln (Rieder et al., 2004). Bluthochdruck, hohe Blutglucose- und Cholesterinwerte und andere Faktoren sind entscheidende Parameter für kardiovaskuläre Risiken (IDF 2011).

Kontrolle über Bluthochdruck, Dyslipidämie und Adipositas spielt eine zentrale Rolle bei der Prävention der Spätkomplikationen (Rieder et al., 2004, Choi et al., 2008), wobei aber auch Genetik und die individuelle Krankheitsanfälligkeit den Schweregrad der Erkrankung beeinflussen. Bei Mikroangiopathien verursachen ROS eine Schädigung des Gewebes. Bei makrovaskulären Erkrankungen und Schädigungen im Herzen scheint erhöhte Oxidation von Fettsäuren resultierend aus der anhaltenden Insulinresistenz die Ursache zu sein (Giacco and Brownlee, 2010).

2.1.4 Epidemiologie und Entwicklung

In einer Studie von *Whiting et. al.* wurde die weltweite Prävalenz für Diabetes für das Jahr 2011 mit Prognosen für 2030 untersucht. Laut den Autoren waren

2011 366 Mio. Menschen von Diabetes betroffen, wobei für 2030 ein Anstieg auf 552 Mio. vorhergesagt wird. Dabei ist der Zuwachs an Diabetikern indirekt proportional mit dem Einkommen verbunden. Der höchste Zuwachs wird in Afrika erwartet, gefolgt von der Region im Mittleren Osten und Nordafrika. Zwischen 2011 und 2030 wird die Zahl der Diabetiker um 25% in den Ländern mit hohem Einkommen und sogar um 92% in Ländern mit niedrigem Einkommen steigen. Die Gesamtzahl der Diabetiker wird in den nächsten 19 Jahren wahrscheinlich um 50,7% zunehmen, wobei 48% von den Diabetikern in Indien und China zu finden sein werden. In den entwickelten Ländern sind die meisten Diabetiker über 60 Jahre alt, in den Entwicklungsländern findet man den Großteil an Diabetes Erkrankten bei den 40-60-Jährigen. Dieser Unterschied wird sich aber aufgrund der steigenden Lebenserwartung in den Entwicklungsländern ausgleichen (Whiting et al., 2011).

Danaei et al. untersuchten nationale, regionale und globale Trends in Hinblick auf IFG zwischen 1980 und 2008. Die Autoren kamen zum Ergebnis, dass 2008 der mittlere IFG global gesehen um 0,07mmol/l bei den Männern und um 0,09mmol/l bei den Frauen gestiegen war. Auch die Diabetesprävalenz war von 8,3% auf 9,8% bei männlichen und von 7,5% auf 9,2% bei der weiblichen Bevölkerung gestiegen. Dies bedeutete einen Zuwachs von 153 Mio. auf 347 Mio. Diabetikern weltweit, wobei IFG und Prävalenz in Ozeanien, gefolgt von Südasien, Lateinamerika und der Karibik, am meisten stiegen. Betrachtet man nun die einkommensstarken Subregionen so hatte Westeuropa den niedrigsten und Nordamerika den meisten Zuwachs (*Danaei et al.*, 2011). 2010 waren weltweit Diabetes und seine Folgeerkrankungen in 6,8% der Fälle Grund für Sterblichkeit, wobei Nordamerika mit 15,7% den höchsten Anteil erbrachte (Roglic and Unwin, 2010).

Diabetes ist eine der am häufigsten vorkommenden chronischen Erkrankungen und die Zahl der Diabetiker wird vor allem in den Entwicklungsländern weiter steigen. Gründe für diese Entwicklung sind die stärkere Verfügbarkeit von billigen, hochverarbeiteten Lebensmittel und die geringere körperliche Aktivität. Außerdem steigt durch die bessere medizinische Versorgung die Überlebensrate der Diabetiker. Weitere Ursachen für die steigende

Diabetesprävalenz sind die besseren und sensibleren Diagnosemethoden und die immer jünger werdende Patientengruppe bei Diabetikern. In den kommenden Jahrzehnten werden die Ländern Indien und China aufgrund der wachsenden Inzidenz die meisten Diabetiker aufweisen. Dabei trägt Übergewicht und Adipositas die Hauptschuld, 80% der Fälle von Diabetes könnten dadurch vermieden werden (Bruno and Landi, 2011). Eine Studie zur Lebenserwartung ergab, dass aufgrund der negativen Effekte von Adipositas die durchschnittliche zu erwartende Lebensdauer nicht mehr steigen wird. Zwei Drittel der Erwachsenen in den USA sind bereits jetzt entweder übergewichtig oder adipös (Olshansky et al., 2005).

In Österreich litten laut IDF im Jahr 2011 571.000 Personen an Diabetes (Typ 1 und Typ 2), wobei auch hier die Zahl weiter steigt. Prognosen zufolge werden 2030 717.400 Diabetiker in Österreich leben, was eine Zunahme der nationalen Prävalenz von 9,1% auf 11,1% bedeutet. Ebenso wird die Zahl der Patienten mit IGT von 573.900 (9,1%ige Prävalenz) auf 673.400 (10,5%ige Prävalenz) steigen (IDF, 2011a). 5-10% aller Diabetiker sind von Typ 1 betroffen, das sind etwa 50.000 Erkrankte in Österreich (ÖDG, 2011).

2.1.5 Ökonomische Folgen des Diabetes mellitus

Diabetes mellitus ist einer der häufigsten Stoffwechselerkrankungen weltweit. Vor allem die auftretenden Komorbiditäten, die damit verbundenen Krankenhausaufenthalte und Pflegekosten werden zusehends eine Belastung für das Gesundheitssystem. So sind beispielsweise bei einem Diabetespatienten mit einer mikro- und makrovaskulären Erkrankung die Gesamtkosten für die Behandlung im Vergleich zu einem Diabetiker ohne Komplikationen um bis zu 250% erhöht (Williams et al., 2002). Die CODE-2-Studie (*The Cost of diabetes in Europe-Type II Study*) aus dem Jahre 2002 liefert einen guten Überblick über die durchschnittlich verursachten Kosten für die Behandlung und Versorgung von Typ 2 Diabetikern. Die direkten medizinischen Kosten werden mit insgesamt 29 Milliarden Euro beziffert, was 2.834 Euro im Jahr pro Person entspricht. Der Großteil entfällt auf Krankenaufenthalte (55%), gefolgt von den Kosten für Medikamente (27%) und denen für ambulante Behandlung (18%). 42% der

Medikamentenkosten werden zur Behandlung mit kardiovaskulär wirksamen und lipidsenkenden Substanzen ausgegeben, orale Antidiabetika und Insulin machten etwa ein Viertel der Medikamentenkosten aus (Jönsson and Board, 2002). Mit einer 70%igen Kostenerhöhung ist bei Diabetespatienten mit mikrovaskulären und mit einem 2fachen Anstieg bei makrovaskulären Erkrankungen zu rechnen. Betrachtet man rein die Kosten für einen Krankenhausaufenthalt ist diese Entwicklung noch dramatischer (Williams et al., 2002).

Laut IDF wurde in Österreich im Jahr 2011 im Durchschnitt für jeden Diabetiker rund USD 5641.- ausgegeben (IDF, 2011a). In einer Studie von Rakovac *et al.*, die zum Ziel die Ermittlung der Prävalenz von diabetischen Spätkomplikationen unter österreichischen Typ 2 Diabetikern hatte, wurden Daten von 23.641 Patienten ausgewertet und bietet einen guten Einblick in den Gesundheitsstatus dieser Bevölkerung. Das stark übergewichtige Kollektiv (BMI 29,4kg/m²) wies bei einem Fünftel zumindest einen der schwersten Endorganschäden wie Amputation, Herzinfarkt, Schlaganfall, Blindheit oder Dialysepflichtigkeit auf. Auffallend war, dass die Amputationsrate unter Männern doppelt so hoch war wie bei Frauen. Auch fand man unter den männlichen Patienten häufiger Fälle von Herzinfarkt, mehr Bypassoperationen und gehäuftes Auftreten von Albuminurie. Im europäischen Vergleich (CODE-2-Studie) liegt Österreich in Bezug auf die ermittelten Prävalenzen, abgesehen von der etwas höher liegenden Schlaganfallprävalenz, im Durchschnitt (Rakovac *et al.*, 2009). Bruno *et al.* untersuchten die Kostenentwicklung bei Diabetikern in Turin, Italien. Mit durchschnittlich € 3660,80.- pro Person pro Jahr waren die Kosten für Diabetiker um das 4fache erhöht im Vergleich zu Nicht-Diabetiker. Die Autoren gaben an, dass auf Diabetiker 11,4% der gesamten Gesundheitsausgaben entfallen (Bruno *et al.*, 2011).

2.2 Radikalstoffwechsel und oxidativer Stress

Wie bereits erwähnt, leiden Diabetiker aufgrund ihrer gesteigerten Stoffwechsellage vermehrt an oxidativem Stress. Daher ist es an dieser Stelle angebracht, die Mechanismen der ROS-Produktion und die daraus resultierenden Komplikationen genauer zu betrachten.

2.2.1 Freie Radikale

Ein freies Radikal ist eine chemische Verbindung, welche unabhängig, also „frei“, existieren kann. Es enthält ein oder mehrere ungepaarte Elektronen, welche ein atomares oder molekulares Orbital für sich selbst besitzen (Halliwell and Gutteridge, 2007). Ein freies Radikal kann als Kation oder Anion vorliegen, kann aber auch neutral sein. Das Wort Radikal stammt von *radix* (lat. Wurzel, Ursprung) ab, was bereits auf die biologische Bedeutung in ablaufenden Reaktionen mit freien Radikalen hinweist (Bergendi et al., 1999). Freie Radikale können bei fehlender oder mangelhafter Inaktivierung direkt zur Schädigung von Proteinen, Kohlenhydraten, Fetten und Nukleinsäuren führen. So wird die Schädigung der Proteinen im Auge mit der Entstehung von Katarakten in Verbindung gebracht (Elmadfa and Leitzmann, 2004). Nebenprodukte des Arachidonsäure-Stoffwechselweges wie Malondialdehyd (MDA) und 4-Hydroxyneonenal (4-HNE) wirken indirekt schädigend auf die DNA (Roberts et al., 2010). Tabelle 1 zeigt Beispiele für Radikale und Nicht-Radikale.

Tabelle 1: Radikale und Nicht-Radikale (mod. nach Johansen et al., 2005, Matough et al., 2012)

	Radikale	Nicht-Radikale
ROS	Superoxide $O_2^{\bullet-}$	Hydrogenperoxid H_2O_2
	Hydroxyl OH^{\bullet}	Hypochlorsäure $HOCl^-$
	Peroxyl ROO^{\bullet}	Ozon O_3
	Alkoxyl RO^{\bullet}	Peroxynitrit $ONOO^-$
	Hydroperoxyl HO_2	
RNS	Stickstoffmonoxid NO^{\bullet}	Alkylperoxynitrit $ROONO$
	Stickstoffdioxid $^{\bullet}NO_2$	Salpetrige Säure HNO_2
RCS	Chloridion Cl^-	Hypochlorige Säure $HOCl$

H_2O_2 ist selbst kein Radikal, wandelt sich aber direkt nach seiner Bildung in der sogenannten Fenton-Reaktion zu einem Hydroxylradikal ($\cdot\text{OH}$) bei der Anwesenheit von Halbmetallen wie Eisen oder Kupfer um (Pandey and Rizvi, 2011, Schäfer and Werner, 2008). Zusätzlich sei erwähnt, dass H_2O_2 membrangängig ist und anders als O_2^\bullet nicht am Entstehungsort wirkt. Daher sind Antioxidantien, die H_2O_2 in eine ungefährliche Verbindung umwandeln, sehr wichtig (Pérez-Matute et al., 2009).

2.2.2 Entstehung von Radikalen

ROS, RNS und reaktive Chlorspezies entstehen sowohl unter physiologischen und als auch unter pathologischen Bedingungen, wobei immer Sauerstoff zur Bildung benötigt wird (Fang et al., 2002). Damit der Sauerstoff mit einer organischen Verbindung reagieren kann, muss die Spin Restriktion des Triplettsauerstoffs zunächst umgangen werden (Halliwell and Gutteridge, 2007, Matough et al., 2012). Reaktive Sauerstoffspezies entstehen hauptsächlich durch Ein-Elektronenreduktionen von molekularem Sauerstoff zum Superoxid-Radikal O_2^\bullet (Löffler et al., 2007) (siehe Abbildung 3).

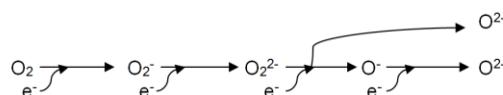


Abbildung 3: Univalente Reduktion von Sauerstoff (mod. nach Gilbert, 2000):

4 Reduktionsstufen von Sauerstoff bis zum Wasser. O_2^\bullet : Superoxidanion, O_2^{2-} : (Hydrogen) Peroxidion, O^\bullet : (Hydr-)Oxyradikal

O_2^\bullet wird als „primäres“ ROS (reactive oxygen species) bezeichnet und kann mit weiteren Molekülen zu „sekundären“ ROS entweder direkt oder durch enzymatisch oder metall-katalysierten Prozessen reagieren (Valko et al., 2007). ROS wirken aber nicht nur schädigend auf den menschlichen Körper. So nehmen sie beispielweise eine wichtige Rolle in der Abwehr von pathogenen Keimen, Viren oder Bakterien ein und werden von Granulozyten im sogenannten „respiratory burst“ eingesetzt um diese zu vernichten (Löffler et al., 2007). Sie sind bis zu einer bestimmten Konzentration für die Wundheilung

wichtig (Schäfer and Werner, 2008) und können als second messenger agieren (Pérez-Matute et al., 2009).

Zu den wichtigsten endogenen Quellen von reaktiven Sauerstoffverbindungen zählen Reaktionen der NADPH- oder Xanthin-Oxidase, Lipoxygenase und Cyclooxygenase, Oxidation von Reduktionsäquivalenten $\text{NADH}+\text{H}^+$ und FAD in der mitochondrialen Atmungskette, das Cytochrom P-450 System und unter Umständen entkoppelte NOS (siehe Kapitel 2.2.2.1) (siehe Abbildung 4) (Fang et al., 2002, Leopold and Loscalzo, 2005). Umweltfaktoren wie Ernährung und Lebensstil (ionisierende Strahlung, Metalle, Pestizide, langlebige toxische organische Verbindungen und Medikamente) bilden exogene Quellen für ROS (Limón-Pacheco and Gonsebatt, 2009).

NADH, NADPH und FADH_2 entstehen ausschließlich beim aeroben Abbau von Proteinen, Fetten und Kohlenhydraten. Ein Anstieg an Nahrungszufuhr ist somit gleichzusetzen mit einer gesteigerten mitochondrialen Produktion freier Radikale und einer Zunahme an oxidativem Stress (Fang et al., 2002).

2.2.2.1 Entstehung von Stickstoffradikalen:

In den Endothelzellen wird durch die NO-Synthase (NOS) aus L-Arginin und O_2 Stickstoffmonoxid (NO) synthetisiert. Dieses wirkt relaxierend auf die glatten Muskelzellen, fungiert als Neurotransmitter und beeinflusst das Immunsystem (Löffler et al., 2007, Fridovich, 1999). NO stellt somit eine wichtige Komponente der Gefäßhomöostase dar (Szabo, 2009) und wirkt antiatherogen (Münzel et al., 2008). Bei NOS kann man zwischen der neuronalen (nNOS), der endothelialen (eNOS) und der induzierten (iNOS) Isoform unterscheiden. Sauerstoff, L-Arginin, Tetrahydrobiopterin, NADPH, Calmodulin, FAD, FMN und Häm sind für die Synthese von NO nötig (Fang et al., 2002), eNOS und nNOS bedürfen zusätzlich noch Ca^{2+} (Löffler et al., 2007).

Studien haben gezeigt, dass bei Diabetikern eine Störung der Vasodilatoren aus dem Endothel vorliegt (Son, 2012). NO kann mit O_2^- oder H_2O_2 reagieren und Peroxynitrit (ONOO^-), eine Persäure und somit ein zytotoxisches Oxidans, bilden (Szabo, 2009, Fridovich, 1999). Neben seiner schädigenden Wirkung auf Lipide und Proteine, kann Peroxynitrit durch Oxidation von BH_4 zu BH_2 zur Entkopplung von eNOS führen, wodurch es zur Superoxidproduktion zu Lasten

von NO kommt (Münzel et al., 2008, Druhan et al., 2008). Eine niedrige *de novo* Synthese von BH₄ könnte ebenfalls bei Diabetikern vorliegen (Son, 2012).

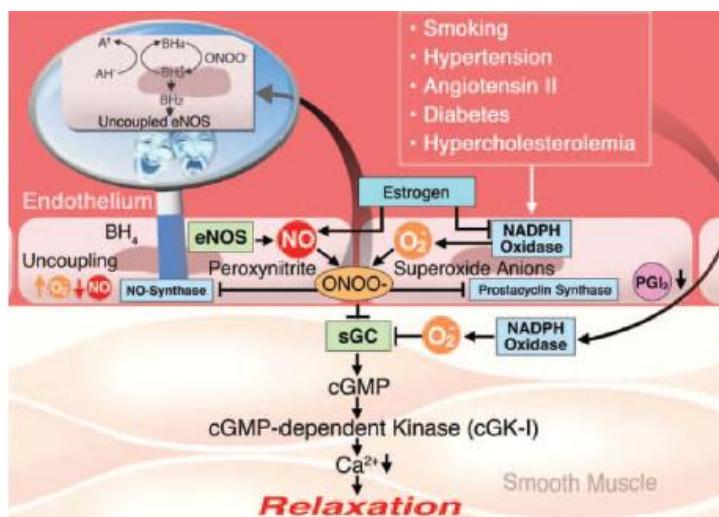


Abbildung 4: Endotheldysfunktion und die resultierenden Veränderungen (Münzel et al., 2008):
Bei Risikofaktoren produziert NADPH Oxidase große Mengen an $O_2^{\bullet-}$, ONOO⁻ reagiert mit löslicher Guanylylatcyclase (sGC) und verhindert so Relaxation der Muskulatur

Es kann auch zur DNA Schädigung und damit zur Aktivierung von Poly(ADP-ribose)-Polymerase (PARP-1) kommen. Abbau von NAD⁺, Störung der Glycolyse, des Citratzyklus und des mitochondrialen Elektronentransports mit daraus resultierendem Mangel an ATP mit ev. Zelltod können Folgen der Überaktivierung von PARP-1 sein. Wie in einem Review von Szabo berichtet, haben Studien an Tieren gezeigt, dass sowohl die Neutralisierung von ONOO⁻ als auch die Inaktivierung von PARP zu einer deutlichen Reduzierung von Kardiomyopathie, Retinopathie und anderen diabetischen Spätkomplikationen geführt hat (Szabo, 2009).

2.2.3 Oxidativer Stress

ROS werden im lebenden Organismus im Zuge der mitochondrialen Elektronentransportkette oder durch verschiedene Enzymreaktionen kontinuierlich gebildet (Rosen et al., 1995, Masella et al., 2005). Oxidativer Stress entsteht, wenn ROS gegenüber antioxidativ wirkenden Schutzmechanismen überwiegen (Folli et al., 2011).

Oxidativer Stress findet natürlich im Alterungsprozess statt, wird aber auch mit der Entstehung von degenerativen Erkrankungen wie Atherosklerose, kardiovaskulären Erkrankungen, Krebs und Diabetes Typ 2 in Verbindung gebracht (Masella et al., 2005, Pandey and Rizvi, 2011).

2.2.4 Oxidativer Stress bei Diabetikern

Oxidativer Stress bei Diabetikern spielt eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung von Spätkomplikationen (Giacco and Brownlee, 2010, Bonnefont-Rousselot et al., 2000), wobei der Funktionsverlust der Endothelzellen, die viele vasoaktive Substanzen, Hormone und zytoprotektive Faktoren (Prostaglandine, Koagulationsfaktoren u.a.) bilden, im Vordergrund steht. Diabetische Endothelzellen sind unfähig eine ausreichende Menge an NO zu bilden (Szabo, 2009).

Es gibt aber auch Hinweise, dass bei der Entwicklung von Insulinresistenz (Evans et al., 2003, West, 2000) und bei der Manifestation von Typ 2 Diabetes oxidativer Stress maßgeblich beteiligt ist (Matough et al., 2012). Auch ist es möglich, dass Hyperglykämie selbst durch oxidativen Stress verursacht wird (West, 2000).

Die Ursache für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen bei Diabetikern ist vielseitig, dennoch scheint oxidativer Stress das vermittelnde Glied zwischen Hyperglykämie und kardiovaskulären Komplikationen zu sein (Folli et al., 2011). Es gibt eine Vielzahl an Studien, die sich mit diesem Thema beschäftigen, der exakte Mechanismus der schädigenden Wirkung des oxidativen Stress im menschlichen Körper bleibt aber unklar (Kowluru and Chan, 2007).

Bei anhaltender Hyperglykämie kommt es bei Diabetikern zur vermehrten Bildung freier Radikale und insbesondere ROS durch Protein-Glykosylierung und Glucose-Autoxidation (Bonnefont-Rousselot et al., 2000, Rahimi et al., 2005). Bei der letztgenannte Reaktion reagiert Glucose mit H_2O_2 in Anwesenheit von Kupfer- oder Eisenionen, wobei OH^- entsteht (Pérez-Matute et al., 2009). Gleichzeitig können reaktive Sauerstoffspezies Bestandteile des antioxidativen Systems verringern (Kaliora et al., 2006), Konzentrationen an Prooxidantien wie Ferritin und Homocystein werden hingegen erhöht (Rahimi et al., 2005).

Die wohl wichtigste ROS Quelle stellt die mitochondriale Atmungskette dar (Sivitz and Yorek, 2010). Beim Abbau von Glucose und freien Fettsäuren entstehen NADH und FADH₂, welche als Elektronendonatoren bei der oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien dienen. Beim Elektronentransport über die Komplexe I-IV der Atmungskette entsteht ein Ladungsunterschied entlang der Mitochondrienmembran, der die ATP-Synthase antreibt (Brownlee, 2005). Bei normaler Stoffwechsellage werden nur etwa 2-4% der dabei verbrauchten Sauerstoffmoleküle zu Superoxiden umgewandelt (Kassab and Piwowar, 2012). Durch Dismutation von O₂^{·-} durch SOD und weiteren Umbau durch Katalase und GSH-Px werden diese aber sofort unschädlich gemacht. Bei Diabetikern übersteigt mit der Zeit der Protonengradient einen gewissen Schwellenwert, der Elektronentransport wird gestoppt und die ausströmenden Elektronen bilden Superoxide (Matough et al., 2012, Giacco and Brownlee, 2010, Brownlee, 2005). Die erhöhte Produktion von ROS durch die Mitochondrien stimuliert unter anderem die Aktivierung von PKC, die Synthese von Wachstumsfaktoren und von Zytokinen, NFkB und NADPH Oxidase (Mokini et al., 2010).

ROS können darüber hinaus zur Oxidation von LDL (low-density lipoprotein) beitragen. Das oxidierte LDL wird von Makrophagen aufgenommen, es kommt zur Schaumzellenbildung, die voller Cholesterol und oxidierten Lipiden sind (Kaliora et al., 2006) und zur Entstehung von atherosklerotischem Plaque (Johansen et al., 2005).

Schädigung der DNA durch ROS und die daraus resultierende Aktivierung von PARPs hindern die im Cytosol vorkommende Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) (siehe Abbildung 5). Dadurch werden die in den folgenden Kapiteln (siehe Kapitel 2.2.4.1 bis 2.2.4.4) beschriebenen Pathomechanismen aktiviert (Choi et al., 2008, Szabo, 2009).

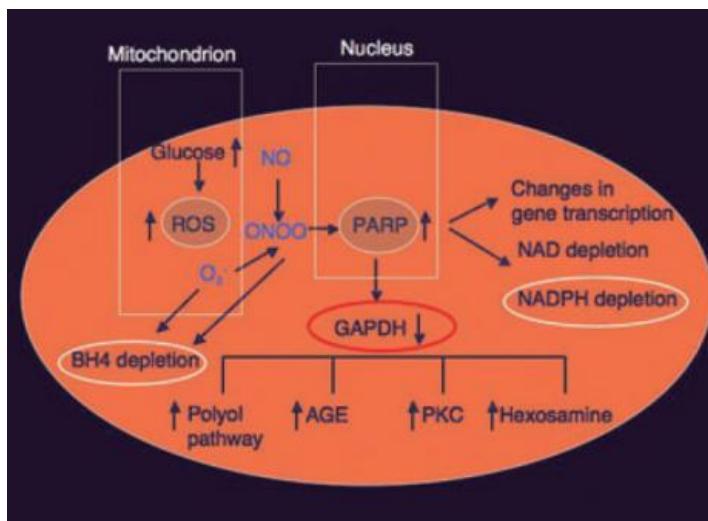


Abbildung 5: Aktivierte Stoffwechselwege durch PARP (Szabo, 2009); **BH₄:** Tetrahydrobiopterin; **PARP:** Poly(ADP-ribose)-Polymerase; **GAPDH:** Glycerinaldehyd-3-Phosphat

Warum sind nun aber nur bestimmte Zellen, die das diabetische Krankheitsbild formen, betroffen? Der Großteil der Zellen ist imstande, die Glucoseaufnahme zu senken, wenn eine extrazelluläre zellschädigende Hyperglykämie vorliegt. Endothelzellen des Gefäßsystems, Mesangialzellen in den Nieren, Neuronen und Neuroglia des Nervensystems und die β -Zellen des Pankreas (Naudi et al., 2012, Kassab and Piwowar, 2012) können die Aufnahme von Glucose nicht dementsprechend regulieren, was zu einer intrazellulären Hyperglykämie führt (Kaiser et al., 1993, Giacco and Brownlee, 2010). Die Generierungsrate von ROS und der Sauerstoffverbrauch variiert also in den Zelltypen (Limón-Pacheco and Gonsebatt, 2009, Kassab and Piwowar, 2012). Zellen in den kleineren Kapillaren weisen eine höhere ROS Produktion auf als die großen, was eventuell an der höheren Proliferationsrate liegt (Kassab and Piwowar, 2012). Gleichzeitig variiert aber auch die Konzentration an Antioxidantien in den verschiedenen Geweben. Differenzen in der antioxidativen Kapazität der verschiedenen Gewebstypen liegen daher auf der Hand (Limón-Pacheco and Gonsebatt, 2009). Das Gehirn verfügt verglichen mit der Niere oder der Leber über eine niedrige bis moderate Aktivität an SOD, CAT oder GSH-Px (Dringen, 2000). Jang und Surh zeigten 2003 in Untersuchungen, dass die Expression antioxidativer Enzyme durch Faktoren wie das Apoptose regulierende Protoonkogen Bcl-2 gesteuert wird. Dabei ist der Einfluss von Bcl-2 auf die

Expression und Aktivität dieser Enzyme gewebsspezifisch (Jang and Surh, 2003). Auch die β -Zellen verfügen über ein geringes Maß an antioxidativen Enzymen, was sie für die schädliche Wirkung der Glucose („Glucotoxizität“) anfällig macht (Robertson et al., 2003).

Eine Vielzahl an Studien haben in den letzten drei Jahrzehnten Stoffwechselwege, die durch erhöhte Produktion von Superoxiden aktiviert werden und die teils noch weitere Radikale produzieren und zur Entstehung der Komplikationen führen, ins Auge gefasst. Diese sollen in den folgenden Kapiteln näher erklärt werden.

2.2.4.1 Polyolstoffwechselweg:

Dieser Stoffwechsel wird aktiviert, wenn der normale Glucoseabbau durch die Glykolyse gesättigt ist und kann bei Diabetikern 30-35% der umgesetzten Glucose ausmachen (Ramana et al., 2003). Als zentrales Enzym fungiert Aldolasereduktase (AR), welches Aldehyde reduziert und bei hyperglykämischen Bedingungen Glucose mit NADPH als Cofaktor zu Sorbit (Zuckeralkohol) reduziert (siehe Abbildung 6).

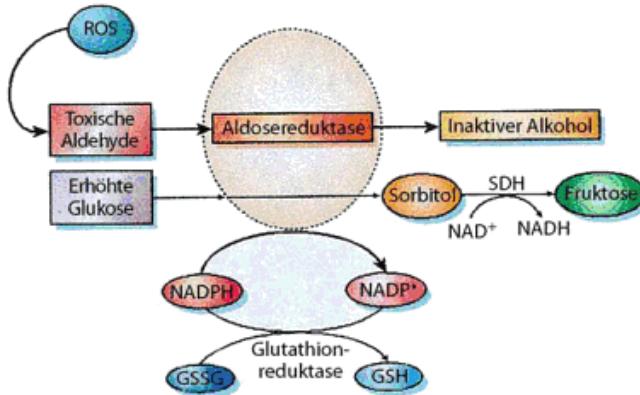


Abbildung 6: Polyolstoffwechsel (mod. nach Brownlee, 2001);
SDH: Sorbitoldehydrogenase

AR findet sich in verschiedenen Geweben wie Nerven, Retina, Linsen, Glomerulus und Gefäßzellen (Ramasamy and Goldberg, 2010). In vielen dieser Zellen geschieht die Aufnahme von Glucose mit Hilfe von insulinunabhängigen Glucosetransportern (GLUT) und daher kann unbegrenzt Glucose aufgenommen werden. Da nun aber das für die Regeneration von oxidiertem

Glutathion nötige NADPH verbraucht wird, kommt es in weiterer Folge zu einer gesteigerten Anfälligkeit gegenüber oxidativem und nitrosativem Stress (Folli et al., 2011, Giacco and Brownlee, 2010).

Weiters wird Sorbit mittels SDH und NAD⁺ als Cofaktor zu Fructose oxidiert. Das dabei entstehende NADH+ H⁺ liefert weitere Substrate für Komplex I in den Mitochondrien (Kassab and Piwowar, 2012). Bei anhaltender Hyperglykämie kommt es zur Anhäufung beider Metaboliten, da sie weder rasch genug verstoffwechselt werden, noch durch die Zelle diffundieren können. Es kommt zur Schädigung im Nervengewebe. Die osmotische Wirkung der Polyole könnte einen osmotischen Stress in der Zelle bedeuten und bei der Entstehung diabetischer Spätfolgen wichtig sein (Mehnert et al., 2003, Szabo, 2009).

2.2.4.2 Bildung von advanced glycation end products (AGEs)

Advanced glycation end products (AGEs) können auf viele Arten gebildet werden und bilden daher eine heterogene Gruppe (Huebschmann et al., 2006). Unter anderem entstehen AGEs bei nicht-enzymatischer Glykosylierung von Proteinen mit reduzierendem Zucker. Über Bildung einer Schiff'schen Base und eines Amadori- Produkts können Carbonylverbindungen wie 3-Desoxy-Glukoson, Glyoxal und Methylglyoxal entstehen, die mit weiteren Aminogruppen zu intermediären Glykosylierungsprodukten und schließlich zu AGEs reagieren (Mulac, 2005), wobei die Glykierung der Proteine bei erhöhtem Glucosespiegel schneller abläuft.

Wenn AGEs an sogenannten RAGE (Rezeptor für AGEs) binden, können diese eine proinflammatorische Antwort mit zellulärer Dysfunktion hervorrufen (Huebschmann et al., 2006, Szabo, 2009, Goldin et al., 2006).

Studien haben gezeigt, dass Diabetiker erhöhte Konzentrationen von AGEs aufweisen, wobei bei jenen mit Herzerkrankungen oder Mikroalbuminurie eine um 40-100% Erhöhung vorliegen kann (Huebschmann et al., 2006).

Zusätzlich können AGEs zur weiteren Bildung von ROS über NADPH Oxidase beitragen (Jay et al., 2006).

Die Bildung von AGEs im menschlichen Organismus hat schwerwiegende Folgen (Goldin et al., 2006, Huijberts et al., 2008). So verursacht eine Anhäufung von AGEs in der extrazellulären Matrix anomale

Quervernetzungen, die zu einem Elastizitätsverlust der Gefäße führen (Huijberts et al., 2008). Leber, Nieren und Erythrozyten sind besonders anfällig für AGEs-Bildung. Vor allem die Entstehung von Atherosklerose wird mit AGEs in Zusammenhang gebracht (Valko et al., 2007).

2.2.4.3 Aktivierung der Proteinkinase C (PKC)

Die Familie der Proteinkinase C beinhaltet mindestens 11 Isoformen (Koya and King, 1998), wovon 9 durch den Lipid Second Messenger DAG (Diacylglycerol) aktiviert werden (Brownlee, 2001).

Durch die Verstoffwechselung von Sorbit zu Fructose wird GAPDH inhibiert, was zu einer Erhöhung der Triosephosphatkonzentration führt. Dies wiederum steigert die *de novo* Synthese von DAG (Brownlee, 2005). Laut Geraldes und King konnten in einer Reihe von Untersuchungen an Diabetikern erhöhte Konzentrationen von DAG in Retina, Aorta, Herz, Nierenkörperchen, Leber und Skelettmuskulatur nachgewiesen werden (Geraldes and King, 2010). Bei chronischer Hyperglykämie werden Zytokine, Wachstumsfaktoren (GF, growth factors) und Hormone wie Endothelin-1 und Angiotensin-II vermehrt ausgeschüttet, was zusätzlich die Aktivierung von PKC fördert, ebenso wie das Vorliegen einer Dyslipidämie (Folli et al., 2011). Auch AGEs werden als Ursache für eine gesteigerte PKC Aktivität durch Aktivierung von NF-κB diskutiert (Giacco and Brownlee, 2010, Brownlee, 2001, Pérez-Matute et al., 2009).

PKC hat eine Reihe von Effekten auf die Genexpression vieler wichtiger Botenstoffe, was unter anderem zu einer Veränderung des Blutflusses, der Gefäßpermeabilität, der Angiogenese und der pro-inflammatoryischen Genexpression führt (Brownlee, 2005, Koya and King, 1998).

2.2.4.4 Hexosamin Stoffwechsel

Bei Hyperglykämie wird der Überschuss an Nährstoffen in den Hexosaminstoffwechsel geleitet, dessen Endprodukt UDP-N-Acetylglucosamin (UDP-GlcNAc) darstellt (Folli et al., 2011).

Unter normalen Bedingungen werden etwa 2-5% der Glucose in den Hexosaminweg abgebaut (Rolo and Palmeira, 2006), wobei im ersten Schritt

Fructose-6-Phosphat und Glutamin zu Glucosamin-6-Phosphat und Glutamat durch die stoffwechsellimitierende Glutamin:Fructose-6-Amidotransferase (GFAT) umgewandelt werden. UDP-GlcNAc reguliert in seiner Funktion als allosterischer Feedback Inhibitor GFAT und ist ein Substrat für O-GlcNAc Transferase (OGT), welche die reversible posttranskriptionale Proteinmodifikation katalysiert (Buse, 2006).

Giacco und Brownlee erklärten anhand von Studien, dass eine Inhibition von GFAT die Transkription von TGF- α und TGF- β_1 (Transforming Growth Factor- α /- β_1) unterbinden kann. Hyperglykämie kann auch eine um das 4fache gesteigerte Expression von Sp1 (Specific Protein 1) bedeuten, was zur Aktivierung von PAI-1 (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1) in den glatten Muskelzellen führt (Giacco and Brownlee, 2010). TGF- β_1 und PAI-1 wirken sich negativ auf die Blutgefäße aus (Brownlee, 2005). Die Aktivität von eNOS wird durch O-GlcNacylierung gehemmt und trägt so zu vaskulären Komplikationen bei (Giacco and Brownlee, 2010).

2.3 Antioxidative Schutzsysteme

Sauerstoff ist für die Energieerzeugung im aeroben Organismus essenziell, kann aber auch zu chronisch oxidativem Stress in der Zelle führen. Daher existieren Systeme, die den Organismus vor schädlichen Sauerstoffverbindungen schützen sollen (Limón-Pacheco and Gonsebatt, 2009). Diese stammen entweder aus der Nahrung oder werden endogen synthetisiert und sind als Antioxidantien bekannt. **Antioxidantien sind jene Verbindungen, die eine oxidative Schädigung eines Zielmoleküls verzögern, verhindern oder beseitigen** (Halliwell and Gutteridge, 2007).

Antioxidantien kann man nach Herkunft, nach Molekularstruktur und nach Vorkommen in biologischen Kompartimenten einteilen (Ohlenschläger, 2000). Die gängigste Unterscheidung ist jedoch zwischen enzymatischen und nicht-enzymatischen Antioxidantien (Mokini et al., 2010). Dabei ist wichtig zu erwähnen, dass nicht-enzymatische Antioxidantien selbst auch radikal werden können (Ohlenschläger, 2000).

Abbildung 7 zeigt das Zusammenspiel der verschiedenen Antioxidantien beim Inaktivieren der ROS.

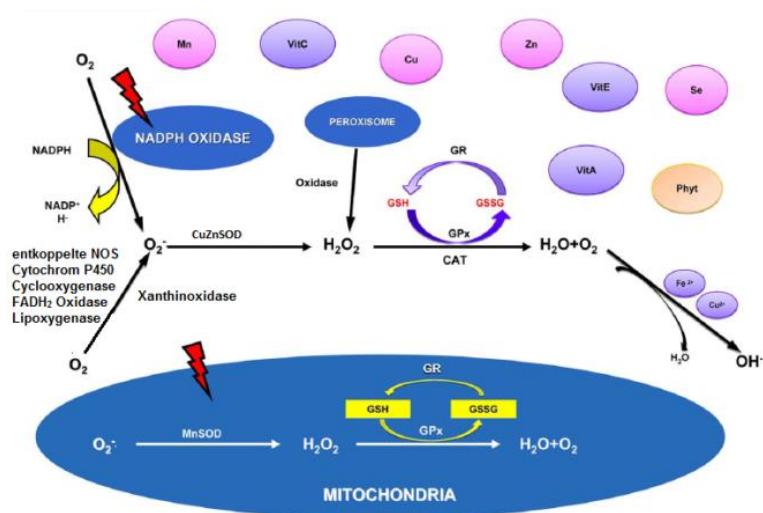


Abbildung 7: Antioxidative Schutzsysteme der Zelle und ROS- Quellen (mod. nach Pérez-Matute et al., 2009); **roter Blitz:** Hauptquellen für ROS; **Mn:** Magnesium; **VitC:** Vitamin C; **Cu:** Kupfer; **Zn:** Zink; **VitE:** Vitamin E; **Se:** Selen; **VitA:** Vitamin A; **Phyt:** Phytochemikalien; **Fe²⁺:** Eisen(II); **Cu²⁺:** Kupfer(II)

Bei Diabetikern liegen erniedrigte Konzentrationen sowohl an enzymatischen als auch an nicht-enzymatischen Antioxidantien vor (West, 2000), wobei laut Literatur bei Typ 2 Diabetikern vor allem Vitamin C, Glutathion und SOD betroffen sind (Rahimi et al., 2005). Dabei ist ein hereditärer Einflussfaktor bei einer veränderten Balance des Redoxstatus nicht auszuschließen (Leopold and Loscalzo, 2005) und kann der Grund für eine gesenkte Aktivität eines antioxidativ wirksamen Enzyms sein (Flekac et al., 2008).

2.3.1 Nicht enzymatische Systeme

Diese Gruppe wird von niedermolekularen Substanzen, die teils im Körper synthetisiert, teils mit der Nahrung zugeführt werden müssen, gebildet. Dabei wirken sie nicht nur einzeln für sich, sondern weisen auch synergistische Interaktionen auf (z.B.: verstärkt Vitamin C die antioxidative Eigenschaft von Vitamin E; Vitamin E schützt β-Carotin) (Elmadfa and Leitzmann, 2004). Zu den wichtigsten nicht-enzymatischen Antioxidantien zählen die in Tabelle 2 zusammengefassten Verbindungen.

Tabelle 2: Nicht-enzymatische Antioxidantien (mod. nach Elmadfa and Leitzmann, 2004, Johansen, 2005)

Schutzfaktor	Funktion
Vitamin A, β-Carotin	Fänger von Singuletsauerstoff u. Peroxyradikalen (Unterbrechung der Lipidperoxidation)
Vitamin C (im wässrigen Milieu)	gesteigerte NO-Produktion durch Stabilisierung von BH ₄ , Stabilisierung von Radikalen, Hemmung der Nitrosaminbildung, Fänger von Singuletsauerstoff
Vitamin E, α-Tocopherol (im fettlöslichen Milieu)	Stabilisierung von Radikalen, schützt v.a. MUFA vor Oxidation (u.a. Zellmembran)
Glutathion (GSH)	siehe Kapitel 2.3.1.1
Ubichinon/Coenzym Q10 (CoQ₁₀)	Elektronencarrier an Komplex II, Regenerierung von Tocopherol, fängt O ₂ ^{•-} , schützt Lipoproteine vor Oxidation
α-Liponsäure,	regeneriert andere AO (Vit.C, Vit.E, GSSG)
Dihydroliponsäure	

2.3.1.1 Glutathion (GSH)

Das Tripeptid GSH, bestehend aus γ-Glutaminsäure, Cystein und Glycin, kommt intrazellulär mit einer Konzentration zwischen 0,5 und 10 mmol/l vor und stellt somit das wichtigste Antioxidans im menschlichen Organismus dar. Die Thiolgruppe reagiert leicht mit freien Radikalen wie zum Beispiel ROS unter Bildung von Glutathion-Disulfid GSSG, der oxidierten Form von Glutathion. In einer NADPH-abhängigen Reaktion kann diese wieder zu GSH reduziert werden (siehe Abbildung 8). Das Redoxpaar GSSG/2 GSH sorgt für das stark reduzierende Milieu im Inneren der Zellen und bestimmt ihre antioxidative Kapazität (Löffler et al., 2007). Glutathion kann auf direktem Wege oder als Substrat für Glutathionperoxidase und Glutathion-S-Transferase Radikale inaktivieren (Masella et al., 2005). Die *de novo* Synthese von Glutathion findet zum großen Teil in der Leber statt (Limón-Pacheco and Gonsebatt, 2009).

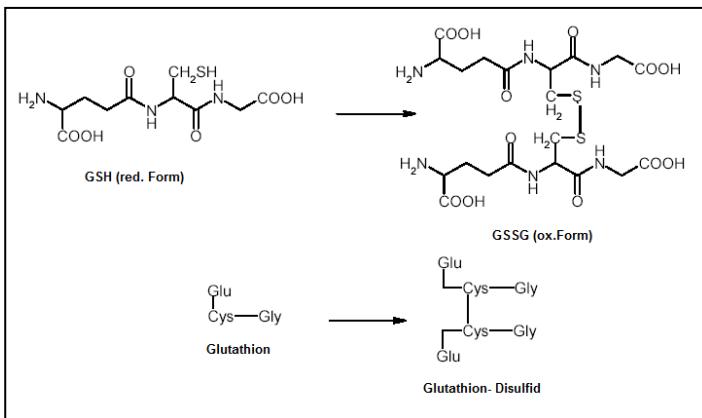


Abbildung 8: GSH und Bildung von GSSG (mod. nach Marko, 2011); **GSH:** Glutathion; **GSSG:** Glutathion-Disulfid

2.3.1.2 Weitere Nicht-enzymatische Antioxidantien

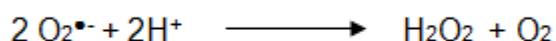
Daneben zeigen auch phenolische Verbindungen, und hier vor allem Bioflavonoide, antioxidative Eigenschaften (Kaliora et al., 2006). Spurenelemente wie Selen, Kupfer, Zink und Mangan sind als Cofaktoren für antioxidative Enzyme ebenfalls wichtig (Limón-Pacheco and Gonsebatt, 2009). Folsäure, Harnsäure, Albumin und Vitamine wie B₁, B₂, B₆ und B₁₂ weisen zusätzlich unterstützende Wirkung auf (Johansen et al., 2005).

2.3.2 Enzymatische Systeme

Die enzymatische Abwehr erfolgt durch sogenannte Metalloenzyme. Diese enthalten bestimmte Mineralstoffe wie Selen, Kupfer, Magnesium oder Zink, welche für die Funktion der Enzyme entscheidend sind (Elmadfa and Leitzmann, 2004)

2.3.2.1 Superoxiddismutase (SOD)

1969 erkannten McCord und Fridovich, dass Erythrozyten dazu fähig sind, O₂^{•-} katalytisch zu beseitigen und entdeckten das Enzym SOD (Abreu and Cabelli, 2010). SOD wandelt zwei Superoxid-Moleküle durch Disproportionierung in Sauerstoff und Wasserstoffperoxid um.



Man kann bei Säugetieren drei verschiedene Typen von Superoxid-Dismutasen unterscheiden. Die Kupfer und Zink haltige dimere SOD1 wird fast

ausschließlich im Cytoplasma gefunden. In den Mitochondrien liegt die tetramere Mn-Superoxid-Dismutase (SOD2), im extrazellulären Raum kommt die CuZn-Superoxid-Dismutase (SOD3) vor (Löffler et al., 2007).

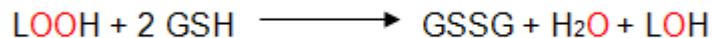
Dismutation durch SOD ist vom pH-Wert abhängig und funktioniert am besten bei einem pH-Wert von 7. Das Enzym verhält sich gegenüber Hitze und Proteinasen sehr stabil (Halliwell and Gutteridge, 2007).

2.3.2.2 Glutathionperoxidase (GSH-Px)

Es existieren mindestens 4 Typen von dieser Peroxidase. GSH-Px katalysiert die Reduktion von H_2O_2 zu H_2O , wobei gleichzeitig Glutathion zum korrespondierenden Disulfid (GSSG) oxidiert wird.



GSH-Px findet man häufig im tierischen Gewebe und weniger in Pflanzen und Bakterien. GSH-Px ist weit verbreitet im Gewebe und ist meist spezifisch für GSH als H-Donor. GSH-Px katalysiert auch die Reduktion von aus Fettsäuren stammenden Hydroperoxiden, wobei die Peroxid- Gruppe zum entsprechenden Alkohol reduziert wird (Halliwell and Gutteridge, 2007).



GSH-Px besteht aus 4 Untereinheiten, wobei jede Einheit einen Selenocystein-Rest im aktiven Zentrum besitzt. Abbildung 9 zeigt die einzelnen Arbeitsschritte der Glutathionperoxidase.

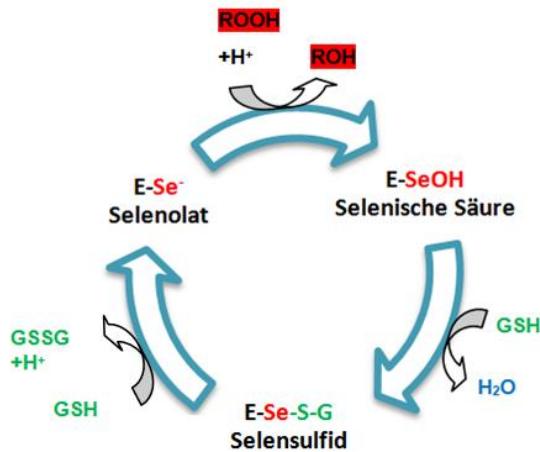
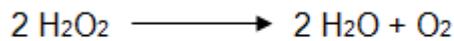


Abbildung 9: Glutathionperoxidase (GSH-Px) (mod. nach Marko, 2011); Die Selenolat-Form (**E-Se⁻**) reduziert das Peroxid zum Alkohol und wird dabei zur selenischen Säure (**E-SeOH**). Unter Oxidation eines Glutathions entsteht ein Selensulfid Addukt (**E-Se-S-G**). Ein weiteres Molekül Glutathion regeneriert dann die aktive Form des Enzyms, unter Bildung von GSSG.

2.3.2.3 Katalase (CAT)

Das bei der Dismutation von $O_2^{•-}$ entstandene H_2O_2 kann durch Katalase in der folgenden Reaktion abgebaut werden.



Die meisten aeroben Lebewesen besitzen Katalase, auch bei einigen Anaerobiern ist diese zu finden. Katalase kommt bei Tieren in allen Organen vor, wobei Gehirn, Herz und Skelettmuskulatur niedrige Konzentrationen aufweisen (Halliwell and Gutteridge, 2007). Katalase ist dabei in Zelluntereinheiten wie den Peroxisomen zu finden (Limón-Pacheco and Gonsebatt, 2009).

Tierische Katalase weist 4 identische Untereinheiten auf, wobei jede Untereinheit eine Fe(III)-Häm Gruppe gebunden hat (Halliwell and Gutteridge, 2007). Zusätzlich hat jede Einheit NADPH gebunden um eine oxidative Inaktivierung des Enzyms zu vermeiden. Die Degradierung von H_2O_2 geschieht durch Konversion der 2 Konformationen Ferricatalase und Compound I (Leopold and Loscalzo, 2005). Katalase kann bei Lagerung, Gefriertrocknung

und Behandlung mit Säuren oder Basen leicht aufbrechen und nimmt dann in ihrer Aktivität stark ab.

Es ist schwer Katalase mit H_2O_2 zu sättigen, da V_{max} für Umsetzung von H_2O_2 enorm hoch ist. Wie die Reaktionsgleichung zeigt, müssen 2 H_2O_2 - Moleküle für die Umsetzung mit Katalase vorhanden sein. Dies wird schwieriger, je weiter die Reaktion fortgeschritten ist und die H_2O_2 -Konzentration gesenkt wird (Halliwell and Gutteridge, 2007).

2.3.2.4 Andere antioxidativ wirksame Enzyme

Neben den bereits beschriebenen finden sich die in Tabelle 3 aufgelisteten antioxidative Enzyme im menschlichen Körper.

Tabelle 3: Weitere antioxidativ wirksame Enzyme (mod. nach Leopold and Loscalzo, 2005)

Enzym	Aktivität	
GR (Glutathionreduktase)	Reduktion von GSSG zu GSH	NADPH als essentielles Co-Substrat
GST (GSH-S-Transferase)	Anbindung von Glutathion an Xenobiotika	umfangreiche Enzymfamilie
HMOX (Hämoxygenase)	baut Häm zu Biliverdin, Fe und CO ab	Fe wird freigegeben und an Ferritin gebunden
G6PD (Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase)	Reduktion von NADP^+ zu NADPH als Redoxäquivalent und Cofaktor für andere Enzyme	ubiquitär; wichtiger Determinant für Redoxbalanz (GSH/GSSG)

2.4 Öle und Gemüse in der Behandlung von Typ 2 Diabetikern

Bis dato gibt es keine einheitliche Ernährungsempfehlung bei Typ 2 Diabetes (Psaltopoulou et al., 2010). Laut der Österreichischen Diabetes Gesellschaft sollte die Ernährung für Diabetiker auf Basis einer gesunden Mischkost, wie sie auch für gesunde Erwachsene empfohlen wird, erfolgen. Da Diabetiker oft unter erhöhtem oxidativen Stress leiden, ist es möglich, dass bei schlecht kontrolliertem diabetischen Stoffwechsel der Bedarf an Antioxidantien erhöht ist (Schindler and Ludvik, 2009).

Typ 2 Diabetes ist vor allem durch den Wandel zu einem eher sitzenden Lebensstil, bei gleichzeitig hochkalorischer Ernährung, im Steigen begriffen. Zahlreiche Studien kamen zu dem Ergebnis, dass eine positive Lebensstilmodifikation zur Vermeidung bzw. zur Reduktion von Diabetes beiträgt (Hu et al., 2001, Pan et al., 1997). Eine Metaanalyse von randomisierten kontrollierten Studien zeigte, dass eine Aufklärung über eine gesunde Lebensstilführung sich positiv sowohl auf Blutglucosewerte als auch auf die Inzidenz für Typ 2 Diabetes bei gefährdeten Personen auswirkt (Yamaoka and Tango, 2005). Die Finnish Diabetes Prevention Study (FDP) liefert noch heute ein gutes Beispiel für die Effekte einer Lebensstiländerung auf die Entwicklung von Typ 2 Diabetes. So konnte eine 58% Reduktion des Diabetesrisikos durch Gewichtsverlust, Umstellung auf eine ballaststoffreiche (mind. 15g/1000kcal) und fettarme (<30% der Gesamtenergieaufnahme, <10% SFA) Ernährung in Verbindung mit körperlicher Aktivität (mind. 30min/d) erzielt werden (Tuomilehto et al., 2001).

Da Diabetes und seine Folgeerkrankungen eine große finanzielle Belastung für das Gesundheitssystem darstellen, spielt vor allem die primäre Prävention eine entscheidende Rolle. Eine Ernährungstherapie als primäre Prävention für Typ 2 Diabetes ist besonders wirkungsvoll (Psaltopoulou et al., 2010, Salas-Salvadó et al., 2011b).

Eine ballaststoffreiche Ernährung mit niedrigem glykämischen Index, MUFA (Mono-Unsaturated Fatty Acid) und PUFA (Poly-Unsaturated Fatty Acid), Magnesium und Antioxidantien beeinflussen Diabetes positiv, wohingegen sich

SFA (Saturated Fatty Acid), TFA (Trans Fatty Acid) und Lebensmittel mit hohem glykämischen Index negativ auswirken (Salas-Salvadó et al., 2011b). Die vielfach zitierte mediterrane Ernährung, die eine adäquate Menge an Obst, Gemüse, Zerealien, Fisch, Nüsse, Rotwein und Olivenöl bereit hält und sich durch ihre antiinflammatorischen und antioxidativen Eigenschaften auszeichnet, stellt eine geeignete Ernährungstherapie für das metabolische Syndrom mit seinen Begleiterkrankungen dar (Abete et al., 2011). Die großangelegte Langzeit-Interventionsstudie PREDIMED untersucht die Auswirkungen zweier mediterraner Ernährungsformen (mit gesteigerter Konsumation von Olivenöl oder Nüssen) gegenüber einer low-fat Diät (Kontrollgruppe). Bei 418 Nicht-Diabetikern mit erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen konnte eine 52%ige Reduktion der Inzidenz für Typ 2 Diabetes gegenüber der Kontrollgruppe erzielt werden, wobei der Erfolg größer war, je strenger die mediterrane Diät befolgt wurde (Salas-Salvadó et al., 2011a). Ebenso konnte die Plasmaglucose, der systolische Blutdruck und das Verhältnis von Cholesterin zu HDL positiv beeinflusst werden. Bei den Probanden mit mediterraner Ernährungsintervention konnte eine Senkung der Nüchternnglucose herbeigeführt werden (Estruch et al., 2006).

2.4.1 Einfluss von Gemüse auf Typ 2 Diabetes

Obst und Gemüse werden als gute Quelle für Antioxidantien angesehen (Abete et al., 2011) und werden mit einer gesunden Ernährungsweise verbunden (Salas-Salvadó et al., 2011b). Sie zeichnen sich durch eine geringe Nährstoffdichte, dem Fehlen von Cholesterin, einem geringen Fett- aber einem hohen Vitamingehalt aus und bilden eine gute Quelle für Mengen- und Spurenelemente, sekundären Pflanzeninhaltsstoffen und Ballaststoffen (Bechthold, 2007).

Um die Wirkung von Obst- und Gemüsekonsumenten auf die Inzidenz von Typ 2 Diabetes zu evaluieren, wurden in einer Metaanalyse von Carter et al. verschiedene Studien zu diesem Thema untersucht. Die Autoren gaben einen positiven, aber keinen signifikanten Effekt auf die Diabetesinzidenz an. Vor allem grünes Blattgemüse wirkte sich mit seiner antioxidativen Kapazität vorteilhaft auf die Prävention von Diabetes aus. Nach Gesamteinschätzung der

dazu vorliegenden Studien konnte eine 14%ige Reduktion des Risikos Diabetes zu entwickeln erzielt werden. Vitamin C, β-Carotin, Polyphenole, α-Linolensäure und Magnesium wurden dabei als wichtige Substanzen ausgewiesen (Carter et al., 2010).

In der groß angelegten European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Kohortenstudie wurde die Aufnahme von Gemüse, Leguminosen und Obst mit einem reduzierten Risiko für Gesamtsterblichkeit und Mortalität durch kardiovaskuläre Erkrankungen verbunden. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass ein moderater Gewichtsverlust durch eine derartige Ernährungsweise unterstützt wird und sich positiv sowohl auf Insulinsensitivität als auch auf das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen auswirkt. Die antioxidative Wirkung der in Gemüse, Leguminosen und Obst enthaltenen Stoffe wird erneut hervorgehoben (Nöthlings et al., 2008).

Obwohl in mehreren Studien ein Zusammenhang erkennbar war, lässt sich laut DGE durch eine erhöhte Zufuhr von Obst und Gemüse das Risiko an Typ 2 Diabetes zu erkranken wahrscheinlich nicht beeinflussen. Da es aber wahrscheinlich eine Gewichtsreduktion unterstützt bzw. eine Gewichtzunahme im Erwachsenenalter verhindert, kann so indirekt die Diabetesinzidenz gesenkt werden (Schulze, 2007).

2.4.2 Einfluss von Öl auf Typ 2 Diabetes

Fettsäuren bilden mit ihren hydrophilen und hydrophoben Anteilen eine Lipiddoppelschicht und sind Hauptbestandteil der zellulären Membranen. Man ist sich noch nicht einig, inwieweit Nahrungsfett die Diabetesinzidenz beeinflusst, aber es gilt als gesichert, dass sich eine Änderung der Zellmembranzusammensetzung auf die Funktion der Membran und somit auch auf den Glucosestoffwechsel auswirkt (Risérus et al., 2009).

Bei PUFA kann man zwischen n-6, die von Linolsäure (LA) abstammen, und n-3 Fettsäuren, welche sich aus α-Linolensäure (ALA) entwickeln, unterscheiden (De Caterina et al., 2007). Walnussöl besteht hauptsächlich aus der mehrfach ungesättigten Fettsäuren Linolsäure, aber auch aus α-Linolensäure und bildet somit eine gute n-3 Quelle (Foster et al., 2009). *Simopolous* hob bereits 2002 das günstige n-6/n-3 Verhältnis von 4:1 in Walnüssen hervor, welches vor allem

in der Sekundärprävention von kardiovaskuläre Erkrankungen unterstützend wirkt (Simopoulos, 2002).

Die aus n-3-Fettsäuren entstehenden Prostanoide veranlassen eine geringere Blutplättchen-Aggregation und wirken vasodilatorisch. Daher werden n-3-Fettsäuren auch für ihre anti-inflammatorische Wirkungsweise ausgezeichnet (Simopoulos, 2008).

Durch den hohen Gehalt an PUFA (bis zu 78% vom Gesamtgehalt) ist eine umsichtige Vorgehensweise bei allen Bearbeitungsschritten, vor allem bei Lagerung und Ölpressung, von Nüssen (Martínez et al., 2010).

Im Allgemeinen zeichnen sich Nüsse durch ihre einzigartige Zusammensetzung aus (niedriger SFA-Gehalt, hoher MUFA-/PUFA-Gehalt, gute Proteinquelle v.a. L-Arginin, Vorkommen antioxidativer Vitamine und phenolischer Komponenten). In vielen epidemiologischen und klinischen Studien waren diese Eigenschaften Kern der Untersuchungen in Bezug auf etwaige positiven Auswirkungen auf Biomarker von Herzkreislauferkrankungen (Ros, 2009).

Jiang et al. zeigten in der großangelegten prospektiven Kohortenstudie eine inverse Assoziation zwischen hohen Konsum von Nüssen und Erdnussbutter und dem Risiko für Typ 2 Diabetes bei Frauen zwischen 30 und 55 Jahren. Das relative Risiko (RR) Diabetes zu entwickeln, war bei Frauen, die mindesten 5 mal/Woche Nüsse aßen, im Vergleich zu jenen, die nie oder nur wenig davon konsumierten, um 27% niedriger (Jiang et al., 2002). SFA und TFA werden ebenso mit einem gesteigerten Risiko für Diabetes Typ 2 verbunden. Ersetzt man 5% bzw. 2% davon mit PUFA, kann das Risiko um 35% bzw. um 40% gesenkt werden. Die Gesamtaufnahme von Fett konnte nicht mit einem gesteigerten Risiko assoziiert werden (Salmerón et al., 2001).

Patienten mit manifestem Diabetes haben generell ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko. Die Ernährungstherapie und die konsequente Behandlung der Hyperglykämie und der Begleiterkrankungen ist noch wichtiger als bei der Primärprävention (Hauner and Schulze, 2006). *Norris et al.* untersuchten 2009 in einer randomisierten, doppelblind Crossover-Studie die Effekte von konjugierter Linolsäure (CLA) und Linolsäure reichem Distelöl auf die Körperzusammensetzung bei postmenopausalen Frauen mit Typ 2

Diabetes. Diese Bevölkerungsgruppe gilt als besonders gefährdet, Insulinresistenz und viszerales Übergewicht resultierend im Metabolischen Syndrom zu entwickeln. Die Supplementation von Distelöl verbesserte signifikant die Nüchtern-Glucose, CLA senkte signifikant sowohl BMI und Gesamtkörperfett ohne dabei die Magermasse zu beeinflussen. Da der Gewichtsverlust erst nach 8 Wochen Intervention eintrat, lässt dies vermuten, dass eine längere Supplementation von CLA nötig wäre um wünschenswerte Ergebnisse zu erzielen (Norris et al., 2009). Ma et al. untersuchten bei Typ 2 Diabetikern den Effekt von täglicher Konsumation von Walnüssen (56g/d = 366kcal/d) auf die Endothelfunktion mittels FMD (flow-mediated dilatation), kardiovaskulären Biomarkern und die Körperzusammensetzung. Die Endothelfunktion verbesserte sich signifikant, es konnte jedoch keine signifikante Änderung bei der Insulinsensitivität oder des Plasma A_{1C} festgestellt werden (Ma et al., 2010). Tapsell et al. zeigten in einer parallelen, randomisierten, kontrollierten Studie an 58 männlichen und weiblichen Typ 2 Diabetikern, dass mit einer PUFA reichen Diät (30g Walnüsse/Tag) mit einem insgesamt niedrigen Fettgehalt (<30% der Gesamtenergie) ein signifikanter Anstieg sowohl von HDL als auch bei HDL/Cholesterin Quotienten erreicht werden kann. Darüber hinaus konnte der LDL Spiegel um 10% gesenkt werden (Tapsell et al., 2004).

Über den genauen Wirkungsmechanismus der verschiedenen Fettsäuren sowohl bei der Entstehung von Diabetes als auch über den möglichen Nutzen in der Sekundärprävention bei Diabetikern erlangte man widersprüchliche Ergebnisse (Hauner and Schulze, 2006).

Auch wenn man sich bis dato über die genaue Wirkung auf Diabetes noch nicht einig ist, so sollte die Konsumation von Nüssen bei Typ 2 Diabetikern allein schon wegen des gesenkten Risikos für koronare Herzerkrankungen propagiert werden (Jenkins et al., 2008).

2.4.3 Wirkung von Ölen und Gemüse auf den Radikalstoffwechsel bei Typ 2 Diabetikern

Laborchemische Daten aus Interventionsstudien, die sich mit dem Einfluss von Pflanzenöl und/oder Gemüse auf den oxidativen Status beschäftigen, sind in der Literatur nicht häufig vertreten. Im folgenden Abschnitt sind einzelne Ergebnisse aus einigen Studien, in denen eine Pflanzenöl- oder Gemüseintervention erfolgte, zusammengefasst.

Um den Einfluss von verschiedenen PUFA- und Vitamin E-reichen Pflanzenölen (Sesam-, Sonnenblumen- und Erdnussöl) auf den Blutdruck, das Lipidprofil und den Redoxstatus zu evaluieren, nahmen 530 hypertensive Patienten täglich 35g Öl in einer 60-tägigen Interventionsphase ein. Sowohl der Blutdruck, als auch das Lipidprofil wurden bei medikamentöser Behandlung allein (mit Nifedipin) oder in Kombination mit einem der Öle verbessert. Die Aktivität von SOD konnte bei allen 3 Ölen signifikant gesteigert werden, wohingegen die Aktivität von GSH-Px und CAT nur in der Sesamölgruppe zunahm. Dieser Effekt lässt sich laut den Autoren eventuell auf einen niedrigen Verbrauch der Enzyme aufgrund der niedrigeren Lipidperoxidation im Sesamöl zurückführen (Sankar et al., 2005).

Azzini et al. zeigten in ihrer Beobachtungsstudie an 131 gesunden Italienern, dass eine Ernährung mit einem hohen MDS (Mediterranean Diet Score) und daher reich an Obst und Gemüse den oxidativen Status verbessert. Je höher der MDS lag, desto höhere Plasmawerte an Carotinoiden, Vitamin A und Vitamin E (anhand α -Tocopherol) konnten nachgewiesen werden. Auch waren steigende Werte endogener Antioxidantien (GSH-Px und SOD) mit einem MDS >4 assoziiert, gleichzeitig nahm Malondialdehyd (MDA), ein Zeichen für Lipidoxidation, ab, je mehr Übereinstimmungen mit der Mediterranen Ernährung vorlagen (*Azzini et al.*, 2011).

Bei 43 gesunden Personen wurde in einer randomisierten, einseitig blinden Interventionsstudie der Einfluss von nutritiven und nicht-nutritiven Faktoren von Obst und Gemüse auf den Redoxstatus untersucht. SOD, CAT, GR und GST wurden nicht signifikant verändert. Jedoch war die Aktivität von GSH-Px am Ende der Intervention (nach 25 Tagen) bei den Probanden, die Obst und

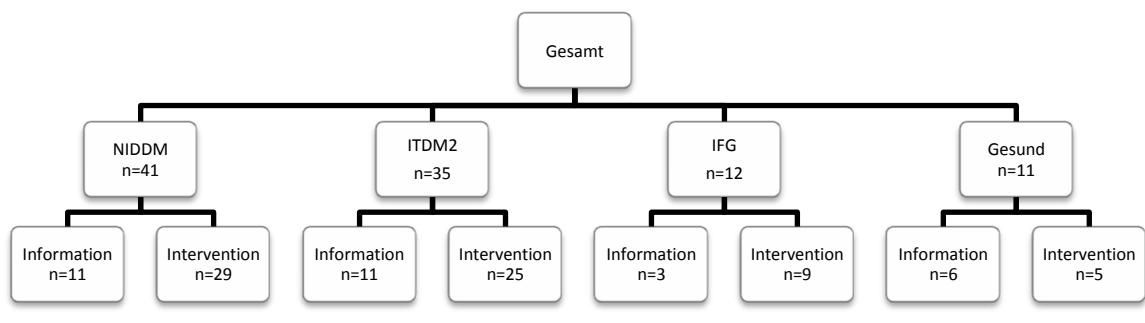
Gemüse verzehrten (fruveg), im Vergleich zu denen, die ein Vitaminpräparat (supplement group) oder ein Placebo (Kontrollgruppe) erhielten, signifikant erhöht - ein Zeichen dafür, dass nichtnutritive Faktoren in Obst und Gemüse für die Aktivitätssteigerung verantwortlich waren. Plasma MDA und Isoprostan im Urin, ein durch oxidative Schädigung der Arachidonsäure gebildetes Prostaglandinisomer, blieben unbeeinflusst (Dragsted et al., 2004).

Da der Einfluss von Pflanzenölen und von Gemüse auf den Radikalstoffwechsel bei Typ 2 Diabetikern bis dato kaum untersucht wurde, war es das Ziel dieser Diplomarbeit einen Schritt in diese Richtung zu machen.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Studiendesign

Bei der Studie DIAPLANT handelte es sich um eine epidemiologische, randomisierte, prospektive Interventionsstudie, welche durch die Ethikkommission der Stadt Wien genehmigt wurde. Die Rekrutierung der Probanden erfolgte durch drei Ärzte des Gesundheitszentrums Wien Süd, durch eine Beilage in der Zeitschrift „Diabetes Info“ der Österreichischen Diabetikervereinigung (ÖDV) und durch einen Vortrag beim „Wiener Diabetes Tag“. Interessierte Patienten, die den Einschluss- und Ausschlusskriterien (siehe 3.2.1 und 3.2.2) entsprachen, wurden zu einem Informationsabend, an dem auch die behandelnden Ärzte anwesend waren, eingeladen. Ihnen wurde der Studienablauf und die richtige Einnahme von Gemüse und Öl erklärt. Weiters wurden sie über ihre Rechte und Pflichten aufgeklärt. Wenn der Wunsch an einer Teilnahme an der Studie bestand, wurde von ihnen eine Einverständniserklärung unterschrieben.



NIDDM: non-insulin dependent diabetes mellitus; **ITDM2:** insulin-treated diabetes mellitus 2;

IFG: impaired fasting glucose

Abbildung 10: Studiendesign

Es konnte zwischen insulinpflichtigen (insulin-treated diabetes mellitus typ 2, ITDM2) und nicht- insulinpflichtigen (non-insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM) Typ 2 Diabetikern unterschieden werden. Als Kontrolle diente die Gruppe der Gesunden. Während der Studie wurde ersichtlich, dass einige der

vermeintlich Gesunden abnorm hohe Nüchternglucosewerte aufwiesen. So ergab sich eine vierte Gruppe, nämlich die der IFG (siehe Abbildung 10).

Die Probanden wurden randomisiert der Interventionsgruppe bzw. der Informationsgruppe zugewiesen. Die erstgenannte Gruppe konsumierte während der 8-wöchigen Intervention täglich 300g Gemüse und 25g Pflanzenöl. Sowohl die Interventions- als auch die Informationsgruppe wurden über den Nutzen einer gesunde und ausgewogene Ernährungsweise aufgeklärt.

3.2 Probanden:

Insgesamt wurden für die Studie 121 Probanden rekrutiert, wovon 99 (81,8 %) die Studie beendeten (siehe Tabelle 4). Der Ausfall ergab sich durch mangelnde Compliance, Krankenhausaufenthalte oder Unverträglichkeiten von Gemüse oder Interventionsöl.

Tabelle 4: Studienkollektiv

Gruppe		Probanden (n)	Alter	BMI
NIDDM	Weiblich	22	$64,27 \pm 6,14$	$35,14 \pm 6,32$
	Männlich	18	$66,28 \pm 8,72$	$31,08 \pm 5,28$
ITDM2	Weiblich	20	$64,80 \pm 7,86$	$35,46 \pm 7,53$
	Männlich	16	$65,19 \pm 7,69$	$31,65 \pm 3,94$
IFG	Weiblich	6	$61,83 \pm 6,59$	$29,22 \pm 3,12$
	Männlich	6	$65,83 \pm 5,78$	$29,81 \pm 3,98$
Gesund	Weiblich	10	$62,00 \pm 6,33$	$28,25 \pm 4,05$
	Männlich	1	51	23,07

Unter folgenden Ein- und Ausschlusskriterien wurden die Probanden ausgewählt.

3.2.1 Einschlusskriterien:

- Männer und Frauen mit Typ 2 Diabetes
- 40 – 80 Jahre
- Behandlung mit oralen Antidiabetika oder Insulin
- seit mind. 4 Wochen vor Studienbeginn:
 - Gleichbleibende Medikation betreffend Glucose-, Fett- und Harnsäure-Stoffwechsel
 - Gleichbleibende Essgewohnheiten und körperliche Betätigung
 - Konstantes Körpergewicht
- $\text{HbA1c} \leq 9,5\%$ (Schwankungen < 10 %)
- Gesamtcholesterin < 300 mg/dl (mit oder ohne Medikation)

- Serum-Triglyceride < 500 mg/dl (mit oder ohne Medikation)
- Kreatinin < 2,5 mg/dl
- Medikation der Nicht-Insulin Gruppe: Metformin, DPP-IV-Hemmer, Sulfonylharnstoffe, GLP-1 Mimetika
- Medikation der Insulin Gruppe: Insulin oder Insulin + Metformin

3.2.2 Ausschlusskriterien:

- Typ 1 Diabetiker
- Patienten jünger als 40 und älter als 80 Jahre
- Raucher
- Schwangere und stillende Frauen
- Teilnahme an anderen klinischen Studien
- Neue Medikation oder Änderung der Medikation bzgl. Glucose-, Fett- und Harnsäure-Stoffwechsel 4 Wochen vor Studienbeginn
- Einnahme von Fischölkapseln und anderen Fettsäuren
- Während oder vor Beginn der Studie Absichten zur Änderung der Ernährungsgewohnheiten, der körperlichen Aktivität, des Körpergewichts
- Kardiovaskuläre Erkrankungen, definiert nach NYHA-Klassifikation \geq III
- Lebererkrankungen (Transaminase-Grenzwert \geq 2,5-fach erhöht)
- Chronische Niereninsuffizienz (Dialysepatient oder Kreatinin $>2,5$ mg/dl)
- Organtransplantationen
- Gastrointestinale Malabsorption (Pankreasinsuffizienz, Steatorrhoe, Kurzdarmsyndrom)
- Systemische Steroide
- Drogen- und Alkoholmissbrauch (≥ 80 g/d); Methadoneinnahme während der letzten 2 Jahre
- Krebs, HIV
- Glitazon-Einnahme

3.3 Studienverlauf

Dem Probanden wurde bei jedem der insgesamt 4 Termine (T0, T1, T3, T4) Blut abgenommen, Blutdruck gemessen sowie Mundschleimhautabstrich und anthropometrische Messungen durchgeführt. Zu jedem Termin musste der Proband einen QLQ („Quality of Life Questionnaire“), einen FFQ („Food Frequency Questionair“) und am Tag vor der Blutabnahme ein 24h-Recall ausfüllen (siehe Abbildung 11).

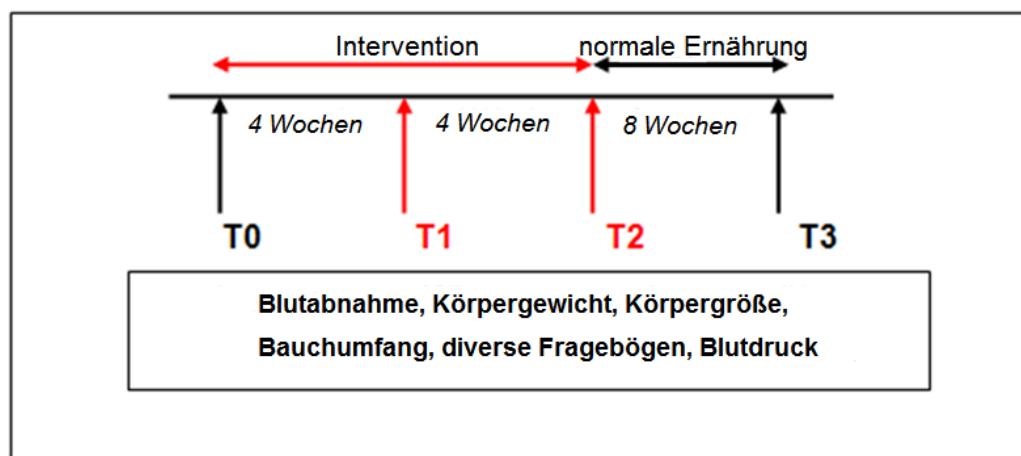


Abbildung 11: Zeitlicher Ablauf der Studie; T0, T3: Blutabnahme vor bzw. nach der Intervention; T1, T2: Blutabnahme nach 4 bzw. 8 wöchiger Intervention

Alle Probanden der Interventionsgruppe führten ein Ernährungstagebuch, in dem sie die tatsächlich verzehrte Gemüsemenge dokumentierten. Die Gruppe der NIDDM und ITDM2 zeichneten ihr Blutzuckerprofil auf. Zusätzlich führten Diabetiker, die bereits Insulin spritzten, ein Insulintagebuch. Die aktive Phase der Studie mit der Ernährungsintervention dauerte 8 Wochen. Danach folgte eine 8 wöchige Phase, in der kein Interventionsöl oder Gemüse verabreicht wurde.

3.4 Ernährungsintervention

Wie bereits unter Punkt 3.1 beschrieben, dauerte die Ernährungsintervention 8 Wochen an. In dieser Zeit mussten die Probanden täglich Gemüse und Interventionsöl, welches nicht erhitzt werden durfte, zu sich nehmen.

3.4.1 Interventionsöl

Das eingesetzte Interventionsöl war reich an PUFA und Tocopherolen. In seiner mittleren Zusammensetzung wies es die in Tabelle 5 dargestellten Eigenschaften auf.

Tabelle 5: FS- Zusammensetzung des Studienöls

FS-Zusammensetzung (%)	Mittelwert ± SD
C16:0	7,28 ± 0,09
C18:0	2,06 ± 0,07
C18:1n9c	16,4 ± 0,99
C18:1n7c	0,95 ± 0,03
C18:2n6c	61,76 ± 1,0
C18:3n3	11,49 ± 0,43

Tocopherolgehalt (mg/100 g Öl)	Mittelwert ± SD
γ- Tocopherol	32,98 ± 1,82
α- Tocopherol	2,67 ± 0,14
Tocopheroläquivalente	10,91 ± 0,58

3.4.2 Gemüse

Der Proband erhielt kostenlos von der Firma IGLO eine Auswahl an verschiedenen Tiefkühlgemüsesorten (siehe Tabelle 6). Die Verteilung erfolgte bei der Wiener Gebietskrankenkasse durch Studenten und durch Mitarbeiter der Firma IGLO.

Tabelle 6: Gemüseprodukte

Spinat passiert (Cremespinat)	Gemüsemischung I (Broccoli, Karfiol)
Blattspinat Zwutschgerl	Gemüsemischung II (Broccoli, Karotten orange und gelb)
Fisolen	Gemüsemischung III (Karotten, Erdäpfel, Kohlrabi, Porree, Erbsen)
Broccoli	Gemüsemischung IV (Erbsen, Karotten, Mais)
Kohlsprossen	Gemüsemischung V (Karotten, Erdäpfel, Broccoli, Fisolen, Karfiol)
Sojabohnen	Röstgemüse Korsika (Karotten, Broccoli, Karfiol, Spargelfisolen, Zucchini)
Erbsen	Röstgemüse Gärtnerin (Karotten, Kohlsprossen, Kohlrabi, Spargelfisolen)
Babykarotten*	Kochsalat mit Erbsen
Zarte Sojabohnen	Fertiggericht – Cremespinat mit Kartoffelrösti

* Karotten als Ersatz im Falle einer Abneigung oder Unverträglichkeit anderer Gemüsesorten

Die Probanden erhielten zusätzlich eine Rezeptbroschüre mit Vorschlägen, wie das Gemüse und das Interventionsöl eingesetzt und zubereitet werden können.

3.5 Blutaufbereitung

Dem nüchternen Probanden wurde Venenblut in Heparin-, EDTA- und Serumzentrifugenrörchen abgenommen und mindestens 30 Minuten kühl gelagert. Nach 10-minütigem Zentrifugieren bei 3000U/min wurde das Plasma abgenommen und aliquot in Cups verteilt. Im Anschluss erfolgte Begasung mit Stickstoff und Lagerung bei -80 °C bis zur weiteren Analyse.

Für die Enzymbestimmungen wurden Erythrozyten drei Mal mit isotonischem Phosphatpuffer (siehe Kapitel 3.5.1) gewaschen, wobei zwischendurch je für 10 Minuten eine Zentrifugation bei 3000U/min durchgeführt wurde. Die Erythrozytensuspension wurde aliquotiert, mit Stickstoff begast und bei -80°C tiefgefroren.

3.5.1 Herstellen des isotonischen Phosphatpuffers:

Für die Herstellung des isotonischen Phosphatpuffers werden die in Tabelle 7 aufgelisteten Reagenzien benötigt:

Tabelle 7: Chemikalien für isotonischen Phosphatpuffer

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Dinatriumhydrogenphosphat [Na₂HPO₄]	Fluka	71640
NaCl	Riedel-de Haën	
Na₂-EDTA	Riedel-de Haën	27285
Dest. Wasser		

1,42g Na₂HPO₄, 7,27g NaCl und 0,19g Na₂-EDTA werden in ca. 800ml dest. Wasser gelöst und mit 1N HCl pH 7,4 eingestellt. Anschließend wird mit dest. Wasser auf 1000ml aufgefüllt.

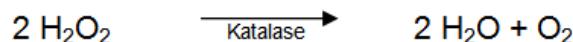
3.6 Bestimmung der enzymatischen Antioxidantien

Die Bestimmung der Aktivität der antioxidativen Enzyme wurde in Kooperation mit Alexander Kauril gemacht, die sich im Zuge der BILIRUBIN Studie am Institut für Ernährungswissenschaften ebenfalls mit enzymatischen Antioxidantien beschäftigte.

3.6.1 Bestimmung von Katalase EC.1.11.1.6

3.6.1.1 Prinzip:

Die hier angewandte Methode nach Aebi beruht darauf, dass Katalase den Abbau von Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff rasch katalysiert.



Bei der photometrischen Messung wird die Wasserstoffperoxidabnahme erfasst, welche zur Reaktionsgeschwindigkeit proportional ist (Aebi, 1974).

3.6.1.2 Reagenzien und Geräte:

Für die Bestimmung der Katalase-Aktivität werden die in Tabelle 8 aufgelisteten Reagenzien benötigt:

Tabelle 8: Chemikalien für die Aktivitätsbestimmung von Katalase

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Kaliumdihydrogenphosphat [KH₂PO₄]	Riedel de Haën	30407
Dinatriumhydrogenphosphat [Na₂HPO₄]	Fluka	71640
Wasserstoffperoxid [H₂O₂], 30%	Riedel de Haën	31642
Dest. Wasser		

Geräte:

- UV/VIS Photometer, Messung bei $\lambda = 240\text{nm}$
- Eiwasser
- pH-Meter
- Makroküvetten aus Quarzglas, 1cm Schichtdicke

3.6.1.3 Herstellen der Gebrauchslösungen:

- Phosphatpuffer [50mM]: 2,7g KH₂PO₄ und 4,3g Na₂HPO₄ in ca.800ml dest. Wasser lösen und mit 1 M NaOH pH7 einstellen; anschließend auf 1000ml auffüllen
- Wasserstoffperoxid-Lösung [30mM]: (diese Lösung muss an jedem Analysetag frisch hergestellt werden, da H₂O₂ in Verdünnung instabil ist) 170µl H₂O₂ (30%ig) mit Phosphatpuffer auf 50ml auffüllen
- Hämoglobinreagenz: siehe Hämoglobin-Bestimmung

3.6.1.4 Durchführung:

100µl Erythrozytensuspension werden mit 500µl dest. Wasser vermischt um eine Hämolysen zu erreichen.

Kurz vor der Analyse erfolgt eine weitere Verdünnung (1:500) des Hämolsats. Dabei werden 10µl des Hämolsats zu 5ml dest. Wasser pipettiert und ordentlich vermischt. Anschließend erfolgt folgendes Pipettierschema:

Tabelle 9: Pipettierschema Katalase

Lösung	Leerwert [ml]	Probe [ml]
Phosphatpuffer	1	-
Verdüntes Hämolsat	2	2
H ₂ O ₂ - Lösung	-	1

(Die Zugabe der H₂O₂-Lösung erfolgt erst unmittelbar vor der photometrischen Messung)

Nach dem Mischen erfolgt sofort das Umfüllen in die Quarzküvette und die Messung der Extinktionsabnahme bei 240nm über 30 Sekunden.

3.6.1.5 Auswertung:

Da es sich bei dieser Reaktion um eine Reaktion 1. Ordnung handelt, kann die Geschwindigkeitskonstante k als direktes Maß für die Enzymkonzentration herangezogen werden.

$$k = 2,3 / t * \log E_1 / E_2$$

k.....Geschwindigkeitskonstante der Gesamtreaktion [s⁻¹]

t.....Messzeit [sek]

E₁....Extinktion des Probenleerwerts zu Zeitpunkt 0

E₂....Extinktion nach 30 Sekunden

Wird die Absorption auf die Hämoglobin-Konzentration bezogen, erhält man schließlich als Messgröße die Enzymaktivität in [k/g Hb] bzw. [I.U./g Hb].

3.6.1.6 Qualitätssicherung:

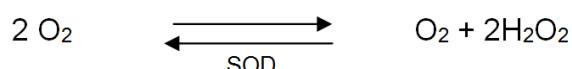
Der Intra-VK der Methode betrug 4,4%.

Jede 8. Probe wurde doppelbestimmt. An jedem Analysetag wurde bei jedem 2. Probanden zusätzlich eine Kontrollprobe mitbestimmt um die Analysegenauigkeit zu überprüfen. Dabei handelte es sich um eine Erythrozytensuspension eines gesunden Probanden. Bis zum jeweiligen Analysetag wurde diese bei -80°C gelagert. Dies ergab in Summe 53 Proben, aus welchen der Inter-VK berechnet wurde. Der Inter-VK betrug 6,6%.

3.6.2 Bestimmung von Superoxiddismutase EC.1.15.11

3.6.2.1 Prinzip:

Die hier angewendete Methode beruht auf der Fähigkeit von SOD, die Autoxidation von Pyrogallol (1,2,3-Trihydroxybenzol) zu hemmen. Pyrogallol autoxidiert rasch in wässriger Lösung, wobei ein gelber Farbstoff gebildet wird. Die Konzentration des Farbstoffes kann photometrisch gemessen werden. Für diese Reaktion ist allerdings die Anwesenheit von Superoxidanionen erforderlich. SOD hemmt nun die Autoxidation, indem sie die Superoxidanion unter Bildung von Wasserstoffperoxyd dismutiert:



Man bestimmt nun die Aktivität von SOD indem man eine autoxidierende Pyrogallollösung mit steigender Menge an SOD-hältiger Probe versetzt und

jene Probenkonzentration ermittelt, bei der die Autoxidation von Pyrogallol zu 50% gehemmt wird. (= I.U.)

3.6.2.2 Reagenzien und Geräte:

Für die Bestimmung der Superoxiddismutase-Aktivität werden die in Tabelle 10 aufgelisteten Reagenzien benötigt:

Tabelle 10: Reagenzien für die Aktivitätsbestimmung von SOD

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Salzsäure, 37%	Riedel de Haën	30721
Natrium-EDTA	Riedel de Haën	27285
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan -HCL	Merck	5196306936
Ethanol p.a.	Merck	38122583748
Chloroform p.a.	Merck	38408045805
Pyrogallol	Riedel de Haën	16040
Dest. Wasser		

Geräte:

- pH-Meter
- UV/VIS Photometer, Messung bei $\lambda=340\text{nm}$
- Wasserbad, auf 25°C temperierbar
- Zentrifuge, 3000/min
- Pyrexröhrchen
- Halbmikroküvetten, 1cm Schichtdicke

3.6.2.3 Herstellen der Gebrauchslösungen:

Tris-Puffer [1M]: 15,76g 1M Tris- HCl und 186mg EDTA in ca. 80ml dest. Wasser lösen; mit 1M NaOH pH 8 einstellen und anschließend mit dest. Wasser auf 100 ml auffüllen

Pyrogallol-Lösung: (diese Lösung muss an jedem Analysetag frisch

hergestellt werden!) 63,05mg Pyrogallol in etwa 25ml dest. Wasser lösen und 41 μ l HCl (37%ig) dazupipettieren; anschließend auf 50ml mit dest. Wasser auffüllen;

Hämoglobinreagenz: siehe Hämoglobin-Bestimmung

3.6.2.4 Durchführung:

300 μ l der Erythrozytensuspension werden mit 400 μ l dest. Wasser vermischt um eine Hämolysen herbeizuführen. Anschließend werden 500 μ l des Hämolysats in 3,5ml dest. Wasser mit 1ml Ethanol p.a. und 600 μ l Chloroform für 60 Sekunden in einem Pyrexglas gevortext und danach 2 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Darauf erfolgt Zentrifugation der Suspension bei 3000U/min für 2 Minuten.

Mit dem Überstand werden folgende Verdünnungsstufen laut Pipettierschema hergestellt:

Tabelle 11: Pipettierschema Superoxiddismutase

Lösung	Leerwert [μ l]	Probe 1 [μ l]	Probe 2 [μ l]	Probe 3 [μ l]	Probe 4 [μ l]	Probe 5 [μ l]
Tris-HCl	100	100	100	100	100	100
Dest. Wasser	880	840	820	780	730	680
Probe	-	20	30	50	75	100
Mischen; jede Probe wird 10 Minuten im Wasserbad bei 25°C inkubiert						
Pyrogallol-Lösung	20	20	20	20	20	20

(Die Pyrogallol-Lösung wird erst unmittelbar vor der photometrischen Messung zugefügt und mit der Probe gut gemischt)

Es folgt die Messung der Extinktionszunahme über 2 Minuten bei einer Wellenlänge von 320nm.

3.6.2.5 Auswertung

Die Aktivität von SOD wird grafisch ermittelt, indem man die prozentuelle Hemmung (= $\Delta E/\text{min}$) gegen die eingesetzte Probenmenge (0ml; 0,02ml; 0,03ml; 0,05ml; 0,075ml; 0,1ml) aufträgt. Mit Hilfe der allgemeinen Geradengleichung kann nun die Probenmenge x ermittelt werden, bei der zu 50% die Hemmung der Pyrogallolautoxidation erfolgt.

$$y = k * x + d$$

y... ($\Delta E/\text{min}$)/2 des Probenleerwerts

k....Steigung der Konzentrationsgeraden einer Probe

x....Probenmenge bei 50%iger Hemmung der Autoxidation von Pyrogallol

d....Schnittpunkt der Konzentrationsgeraden einer Probe mit der y-Achse

Die errechnete Probenmenge x wird in folgende Formel eingesetzt:

$$A = GV / (PV * x)$$

A.....Enzymaktivität

GV...Gesamtvolumen (5,6ml)

PV....Probenvolumen (0,5ml)

x....Probenmenge bei 50%iger Hemmung der Pyrogallolautoxidation

Zuletzt bezieht man die Enzymaktivität auf den Hämoglobingehalt:

$$A * 100/\text{Hb [g/dl]} = U/g \text{ HB}$$

A.....Aktivität von SOD

Hb...Hämoglobinkonzentration (bei einem eingesetzten Probenvolumen von 100 μl ist $\text{Hb [g/dl]} = \text{Extinktion} * 7,354$)

U....Units (Enzymmenge, bei der zu 50% die Pyrogallolautoxidation gehemmt wird)

3.6.2.6 Qualitätssicherung

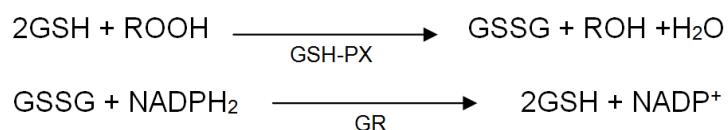
Der Intra-VK der Methode betrug 5,1%.

Um die Analysegenauigkeit zu überprüfen wurde an jedem Analysetag eine Kontrollprobe mitbestimmt. Bei der Kontrollprobe handelte es sich um eine Erythrozytensuspensionmischung von 3 Personen, die im Zuge der Bilirubinstudie abgenommen und aufbereitet wurde. Bis zum jeweiligen Analysetag wurde diese bei -80°C gelagert. Bei jedem 2. bzw. 3. Probanden wurde zusätzlich eine Kontrollprobe analysiert. Dies ergab in Summe 36 Proben, aus denen der Inter-VK berechnet wurde. Der Inter-VK dieser Methode betrug 6,6%.

3.6.3 Bestimmung von Glutathionperoxidase EC 1.11.1.9

3.6.3.1 Prinzip

Das reduzierte Glutathion (GSH) wird durch das Enzym Glutathionperoxidase (GSH-Px) in Anwesenheit von Hydroperoxyden (ROOH) zu dem oxidierten Glutathion (GSSG) katalysiert. In einem zweiten, NADPH-abhängigen Schritt wird GSSG durch das Enzym Glutathionreduktase (GR) wieder reduziert.



Bei der hier verwendeten Methode dient t-Butylhydroperoxid als Hydroperoxid. Die Abnahme der NADPH- Konzentration, welche proportional zur Glutathionperoxidase- Aktivität ist, wird gemessen.

3.6.3.2 Reagenzien und Geräte

Für die Bestimmung der Glutathionperoxidase-Aktivität werden die in Tabelle 12 aufgelisteten Reagenzien benötigt:

Tabelle 12: Reagenzien für die Aktivitätsbestimmung von GSH-Px

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Red. Glutathion [GSH]	Sigma-Aldrich	1000573197
Glutathion-Reduktase [GR]	Roche	10105678001
NADPH Tetranatriumsalz	Roche	10107824001
t-Butylhydroperoxid, 70%	Merck	5196306936
Tris(hydroxymethyl)-aminomethanhydrochlorid [Tris-HCl]	Fluka	93347
Natrium-Ethyldiamintetraacetat [Na-EDTA]	Riedel de Häen	27285
Dest. Wasser		

Geräte:

- UV/VIS Photometer ATI Unicam UV4
- Software : ATI Unicam Vision 2.11.
- Wasserbad
- pH-Meter

3.2.1.1. Herstellen der Gebrauchslösungen:

(Mit Ausnahme des Tris-Puffer müssen alle Lösungen an jedem Analysetag frisch hergestellt werden)

GSH-Lösung [0,1M]: 61,46mg Glutathion in 2ml destilliertem Wasser lösen

GR-Lösung [10U/ml]: 50µl GR-Lösung in 2950µl destilliertem Wasser lösen

NADPH-Lösung [2mM]: 3,48mg NADPH in 2ml destilliertem Wasser lösen

t-BHP-Lösung [7mM]: 20µl t-BHP in 20ml destilliertem Wasser lösen

Tris-Puffer [1M]: 15,76g Tris-HCl und 186g Na-EDTA in destilliertem Wasser auflösen; danach folgt pH-Wert Einstellung auf 8 mit 1 N NaOH; mit dest. Wasser auf 100ml auffüllen

3.6.3.3 Durchführung:

Vor der Aktivitätsmessung der GSH-Px stellt man ein Erythrozytenhämolsat her, indem man 100µl Erythrozytensuspension mit 900µl destilliertem Wasser mischt.

Anschließend werden die Testansätze nach folgendem Pipettierschema hergestellt:

Tabelle 13: Pipettierschema GSH-Px

Reagenzien	Leerwert [10µl]	Probe [10µl]
Dest. Wasser	670	660
Tris- Puffer	100	100
GSH	20	20
GR	100	100
NADPH	100	100
Probenhämolsat	-	10

Die Testansätze werden gemischt und anschließend bei 37°C für 10 Minuten inkubiert. Unmittelbar nach der Zugabe von 10µl t-BHP erfolgt die photometrische Messung bei 340nm. Die photometrische Messung erfolgt über eine Zeitspanne von 90 Sekunden wobei die Extinktionsabnahme gegen den Leerwert gemessen wird.

Die Bestimmung des Hämoglobins ist im Kapitel 3.6.4 erklärt.

3.6.3.4 Auswertung:

Um die spezifische Enzymaktivität zu messen wird die Extinktionsabnahme auf g Hämoglobin bezogen. Grundlage für die Berechnung ist das Lambert-Beer'sche Gesetz:

$$E = \varepsilon * c * d$$

E....Extinktion

εmolarer Extinktionskoeffizient [1/(mol*cm)]

c.....Konzentration

d.....Schichtdicke der Küvette [cm=1]

Nach Berücksichtigung der verwendeten Reaktionsvolumina wird folgende Formel angewendet:

$$A = \Delta E * V_c / (6,22 * V_H)$$

A.....Aktivität von GSH-Px

ΔEExtinktionsabnahme pro Min

V_cGesamtvolume der Küvette [ml]

6,22...molarer Extinktionskoeffizient [1/mol.cm] von NADPH bei $\lambda = 340\text{nm}$

V_HVolumen des Hämolsats

Danach bezieht man die erhaltene Aktivität auf die Hämoglobin-Konzentration.

$$\text{I.U. / g Hb} = 100A / \text{Hb [g/dl]}$$

Hb....Hämoglobin, bei einem eingesetzten Probenvolumen von $100\mu\text{l}$ ist c [g/dl]

$$= E * 7,354$$

3.6.3.5 Qualitätssicherung:

Der Intra-VK der Methode betrug 3,5%.

Zur Überprüfung der Analysegenauigkeit wurde eine Kontrollprobe an jedem Analysetag mitgeführt. Bei der Kontrollprobe handelte es sich um dieselbe Erythrozytensuspension wie bei der Bestimmung der SOD- Aktivität. Nach jedem 9. Probanden wurde die Kontrollprobe analysiert. Dies ergab in Summe 11 Proben, aus welchen der Inter-VK errechnet wurde. Der Inter-VK betrug 9,2%.

3.6.4 Bestimmung der Hämoglobinkonzentration

Die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration ist für die Analyse der Enzymaktivität notwendig. Die Konzentration der Enzyme wird dabei auf den Hämoglobingehalt bezogen. Die Bestimmung erfolgt im Photometer bei 546nm .

3.6.4.1 Reagenzien und Geräte:

Für die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration werden die in Tabelle 14 aufgelisteten Reagenzien benötigt:

Tabelle 14: Chemikalien für die Bestimmung von Hämoglobin

Reagenzien	Firma	Artikelnummer
Kaliumhexacyanoferrat	Merck	Nr. 4973
Kaliumcyanid	Aldrich	Nr. 20781-0
Dest. Wasser		

Geräte:

- UV/VIS Photometer, Messung bei $\lambda=546$ nm

3.6.4.2 Herstellen der Gebrauchslösungen:

198mg Kaliumhexacyanoferrat und 49mg Kaliumcyanid werden in dest. Wasser gelöst und auf 1000ml aufgefüllt.

3.6.4.3 Durchführung:

Zu 5ml des Hämoglobinreagens werden 100 μ l des Hämolsats pipettiert und 30 min kühl inkubiert. Danach erfolgt die photometrische Messung bei 546nm gegen den Leerwert (= dest. Wasser).

3.6.4.4 Auswertung

Zur Berechnung der Hämoglobinkonzentration in 100 μ l Erythrozytensuspension wird ein Faktor von 7,354 berücksichtigt. Dies entspricht einem Fünftel des in der Literatur für ein Probenvolumen von 20 μ l angegebenen Verdünnungsfaktors von 36,77.

$$c \text{ [g/dl]} = E * 7,354$$

c.... Hämoglobin-Konzentration [g/dl]

E....Extinktion

3.6.5 Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit SPSS Version 17.0 für Windows ausgewertet. Nachdem die Ausreißer bereinigt wurden, wurden die Daten auf Normalverteilung mittels Kolgomorov-Smirnov-Test geprüft.

Da alle Daten normalverteilt waren, wurde der T-Test für unabhängige Stichproben angewandt, um T0 Vergleiche zwischen Intervention/Information bzw. zwischen Männern und Frauen durchzuführen. Die einfaktorielle ANOVA wurde für Vergleichen zwischen den Gesundheitszustände (NIDDM, ITDM2, IFG, Gesund) zum Zeitpunkt T0 verwendet.

Um Effekte während der Intervention (T0-T1-T2 bzw. T0-T3) zu beurteilen, wurde eine Varianzanalyse mit Messwiederholung durchgeführt. Außerdem kamen bivariate Korrelationen zum Einsatz, wobei die Auswertung nach Pearson erfolgte.

Das Signifikanzniveau lag bei $p<0,05$.

4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

4.1 Superoxiddismutase

4.1.1 Ausgangswerte der SOD-Aktivität

Die erythrozytäre SOD-Aktivität des Gesamtkollektivs bewegte sich zu Studienbeginn (T0) in einem Bereich von 1411 und 3066 I.U./g Hb. Dies ergab einen Mittelwert von 2097 ± 270 I.U./g Hb, der in dem von Bogdanska aufgestellten Referenzbereich von 884-2119 I.U./g Hb für gesunde 18-59-jährige Männer fällt (Bogdanska et al., 2003).

Vergleicht man die einzelnen Gesundheitszustände (ITDM2, NIDDM, IFG, Gesund) miteinander, so war die Aktivität von SOD bei IFG am höchsten, gefolgt von NIDDM, den gesunden Teilnehmern und schließlich der Gruppe der ITDM2, signifikant waren diese Unterschiede jedoch nicht (siehe Abbildung 12).

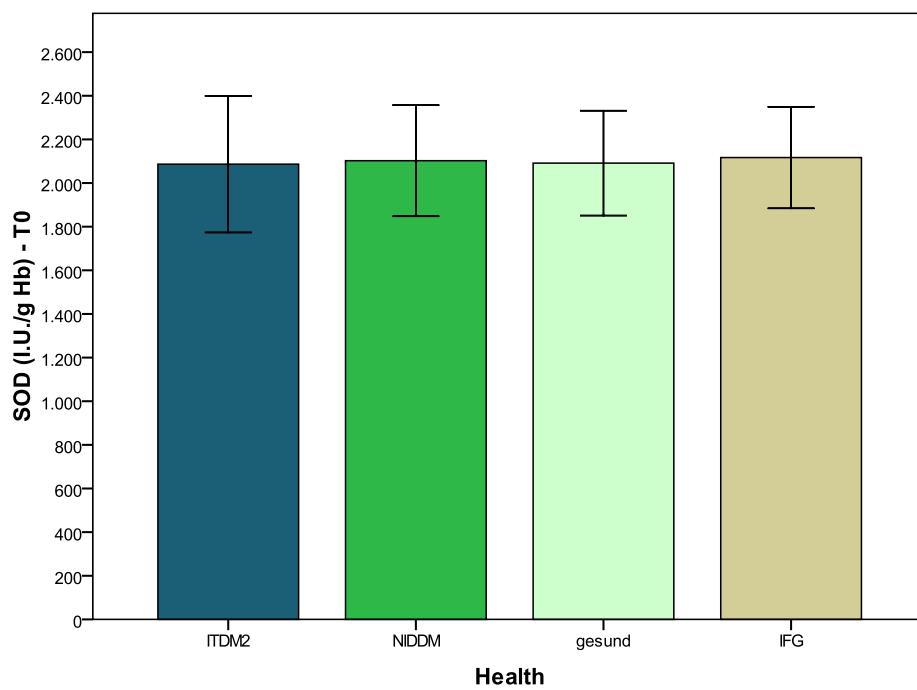


Abbildung 12: Mittlere SOD-Aktivität (I.U./g Hb) der einzelnen Gesundheitsgruppen zu T0
(ITDM2: insulin-treated diabetes mellitus 2; **NIDDM:** non-insulin dependent diabetes mellitus; **IFG:** impaired fasting glucose)

Es ist bekannt, dass eine erhöhte Aktivität der antioxidativen Enzyme in einem frühen Diabetesstadium auftreten kann (Vassort and Turan, 2010).

In der vorliegenden Studie konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gesundheitsgruppen festgestellt werden.

Zu demselben Ergebnis kam man auch in anderen Studien. Probanden mit einem hohen kardiovaskulären Risiko (entweder Vorliegen von Typ 2 Diabetes oder 3 oder mehr kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Rauchen, Bluthochdruck, Einnahme von Antihypertensiva usw.) zeigten keinen signifikanten Unterschied der SOD-Aktivität zur Kontrollgruppe (Fandos et al., 2009).

Eine Untersuchung an 61 älteren Personen (gesund, IGT, Typ 2 Diabetiker ohne Komplikationen, Typ 2 Diabetiker mit Komplikationen) ergab, dass es zu keiner Aktivitätsänderung von SOD in den einzelnen Gruppen kommt (Atli et al., 2004).

Sözmen *et al.* fanden ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen Diabetiker und Gesunden (Sözmen et al., 2001).

In der Literatur wird auf widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der Aktivität von antioxidativen Enzymen hingewiesen. Es kann sowohl zu einer gesteigerten (Seghrouchni et al., 2002, Ahmed et al., 2006), als auch zu einer gesenkten Aktivität von SOD bei Typ 2 Diabetikern kommen (Čolak et al., 2006), allerdings gibt es auch Studien, in denen keine Aktivitätsänderung beobachtet wurde (Johansen et al., 2005).

Mehrere Gründe für eine veränderte SOD-Aktivität werden im Folgenden diskutiert werden.

Die Kontrolle der Blutglucose hat laut einigen Autoren einen Einfluss auf die Aktivität von SOD. Laut Seghrouchni *et al.* sind ITDM2 nach Typ 1 Diabetiker die am besten vor oxidativem Stress geschützte Gruppe und nehmen bei den Parametern für den oxidativen Status eine Stellung zwischen NIDDM und IDDM ein, da eine Insulintherapie auf lange Sicht eine Verbesserung des oxidativen Stress herbeiführt. Diabetiker wiesen eine signifikant höhere SOD-Aktivität auf,

wobei bei IDDM und ITDM2 die Aktivität mit der Dauer des Diabetes ansteigt (Seghrouchni et al., 2002).

Bei Typ 2 Diabetikern war die SOD-Aktivität bei guter glykämischer Kontrolle signifikant höher als bei schlechter (Smaoui et al., 2006).

Zu einem gegenteiligen Ergebnis kam man in einer anderen Studie. Eine signifikante SOD-Aktivitätserhöhung im Vergleich zu Gesunden lag bei Typ 2 Diabetikern zwischen 37 und 58 Jahren sowohl bei guter ($\text{HbA}_{1c} \leq 7\%$ und Serumglucosekonzentration $\leq 7,8\text{mmol/l}$) als auch bei schlechter ($\text{HbA}_{1c} \geq 8\%$ und Serumglucosekonzentration $> 7,8\text{mmol/l}$) glykämischer Kontrolle vor, wobei die Aktivität umso mehr stieg, je schlechter der Gesundheitsstatus (gute bzw. schlechte glykämische Kontrolle und An-/Abwesenheit von vaskulären Erkrankungen) war. SOD korrelierte positiv mit Serumglucose und mit HbA_{1c} . Die erhöhten SOD-Werte werden von den Autoren als adaptive Antwort auf die vermehrte Produktion von freien Radikalen und Peroxynitrit, die eine gesteigerte SOD-Synthese bewirken, betrachtet (Komosińska-Vassev et al., 2005).

SOD-Aktivität in den Lymphozyten bei schlecht kontrollierten Typ 2 Diabetikern war sowohl bei jenen mit, als auch bei jenen ohne chronische, Wundheilungsstörungen signifikant erhöht (Arya et al., 2011).

Es liegen aber auch Studien vor, in denen bei Diabetikern die Aktivität vermindert ist. So wiesen Gesunde die höchste SOD-Aktivität auf, Typ 2 Diabetiker die geringste, IFG und IGT lagen dazwischen. SOD war mit einer besseren vaskulären Funktion verbunden (Su et al., 2008).

In einer Studie, die oxidativen Stress bei NIDDM untersuchte, lag eine signifikant niedrige SOD-Aktivität vor. Auch die anderen enzymatischen (CAT und GSH-Px) und nicht enzymatischen AO (β -Carotin, Retinol, Vitamin C und E, Urinsäure) waren bei NIDDM (alle mit hypoglykämischen Medikamenten behandelt) im Vergleich zu den gesunden Probanden signifikant erniedrigt. Hohe Blutglucosewerte hindern die Aktivität der enzymatischen AO, senken den Gehalt an nichtenzymatischen AO und steigern somit den oxidativen Stress (Ramakrishna and Jailkhani, 2008).

Signifikant niedrigere Werte der enzymatischen und nicht-enzymatischen AO (Vitamin A, C, E) ergab auch eine andere Studie (Pasupathi et al., 2009).

Bei Typ 2 Diabetikern ohne Komplikationen lag eine signifikant gesenkte SOD-Aktivität im Vergleich zu Nicht-Diabetikern vor. Eine Abnahme der Aktivität kann mit der Länge der Diabeteserkrankung einhergehen (Arif et al., 2010).

Glucose glykosyliert CuZnSOD in den Erythrozyten und senkt so seine Aktivität. Dies ist wahrscheinlich der Grund für erniedrigte SOD-Werte bei manchen Diabetikern (Halliwell and Gutteridge, 2007).

Eine ähnliche Erklärung für eine veränderte Enzymaktivität bietet eine andere Studie. Hier wurde eine altersbedingte Aktivitätsabnahme durch die fortschreitende Enzymaktivierung durch H₂O₂ oder durch die zunehmende Glykosylierung von SOD als mögliche Gründe genannt (Bolzán et al., 1997).

Das Vorliegen einer oder mehrerer für Diabetes typischen Komplikationen ist eine weitere Möglichkeit für eine gesenkte Aktivität von SOD.

So kann eine gesenkte SOD-Aktivität bei Typ 2 Diabetikern mit Komplikationen im Vergleich zu Diabetikern ohne Komplikationen auftreten (Lodovici et al., 2009).

Zu diesem Ergebnis kamen auch *Shinde et al.* Hier war bei Typ 2 Diabetikern mit mikro- und makrovaskulären Erkrankungen SOD signifikant niedriger als bei gesunden Probanden. Laut den Autoren ist die Autoxidation von Glucose und die daraus resultierenden Hydrogenperoxiden, welche SOD inaktivieren können, der Grund für eine gesenkte Aktivität (Shinde et al., 2011).

Die SOD-Aktivität war sowohl in der Gruppe mit Typ 2 Diabetes als auch in der Diabetiker-Gruppe mit Fußulzerationen im Vergleich zu Gesunden leicht erniedrigt. Die Autoren erklären diese Abnahme in der Aktivität mit einer eventuellen Glykosylierung des Enzyms, die bei schlecht eingestellten Diabetikern auftritt (Bolajoko et al., 2008).

Fujita et al. zeigten, dass bei Typ 2 Diabetikern mit fortgeschrittenem Verlauf der Erkrankung (Vorliegen von diabetischer Nephropathie bei Mikroalbuminurie) die Aktivität von SOD im Vergleich zu gesunden bzw. Diabetikern mit Normoalbuminurie signifikant gesenkt ist. Eine niedrige SOD-Aktivität ist laut

den Autoren der Grund für gesteigerten oxidativen und nitrosativen Stress bei diabetischer Nephropathie mit Mikroalbuminurie (Fujita et al., 2011).

Bei Typ 2 Diabetikern mit distal-symmetrischer Polyneuropathie (DSPN) kommt es ebenfalls zu einer signifikanten SOD-und GSH-Px-Aktivitätsminderung im Vergleich zu gesunden Probanden. Die Aktivität von CAT war ebenfalls gesenkt bei Diabetikern und Diabetikern mit DSPN (Kasznicki et al., 2012).

Dursun et al. untersuchten den Einfluss von Langzeit-Dialysebehandlung auf Parameter des oxidativen Stress und erforschten einen möglichen Zusammenhang zwischen der Interna-Media-Dicke der Karotis (carotid artery intima media thickness, CIMT) und Markern für oxidativen Stress. CIMT wird als Indikator für beginnende Atherosklerose verwendet. Sowohl die Gruppe der Typ 2 Diabetiker ohne renale Erkrankungen (DM) als auch die mit Dialysebehandlung (DHD) wiesen signifikant niedrigere SOD-Werte auf als die Gesunden, wobei DHD signifikant niedrigere Werte als DM zeigten. Die Aktivität von CAT verhielt sich gleich, ebenso war GSH-Px bei DHD und DM im Vergleich zu den Gesunden gesenkt, wobei wieder ein signifikanter Aktivitätsunterschied zwischen den beiden Diabetes-Gruppen nachzuweisen war. CIMT korrelierte negativ mit SOD und mit CAT und es konnte auch eine signifikante Korrelation von CIMT und Alter bzw. Glucose aufgezeigt werden. Ein eventueller Verlust der antioxidativen Enzyme durch die Dialyse wird als mögliche Ursache für die niedrigere Aktivität bei dieser Patientengruppe von den Autoren genannt (Dursun et al., 2009).

Zu einem gegenteiligen Ergebnis kam man in einer Studie, in der die oxidativen Stressmarker bei Typ 2 Diabetikern mit/ohne Fußulzeration (neuropathische Ulzeration mit/ohne Infektion und neuroischämische Ulzeration mit/ohne Infektion). Hier stieg die SOD-Aktivität progressiv an je weiter das diabetische Fußsyndrom fortgeschritten war mit Ausnahme bei Diabetikern mit neuroischämischer Ulzeration mit Infektionen, wo die SOD-Aktivität wieder abnahm. Allerdings war in der Gruppe der Diabetiker ohne Erkrankungen der Extremitäten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe die SOD-Aktivität erniedrigt. Ähnlich verhielt es sich mit der Aktivität von CAT. Hier war die Aktivität bei Diabetikern signifikant erniedrigt. Auch hier stieg die Aktivität von

CAT progressiv an und nahm dann im Stadion mit Neuroischämie wieder ab. GSH-Px war in allen Diabetikergruppen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe erniedrigt, wobei aber allgemein betrachtet wieder ein Anstieg in den einzelnen Gruppen mit Verschlechterung der Erkrankung zu verzeichnen war. Die Autoren begründeten den Anstieg der Enzymaktivitäten durch einen adaptiven Mechanismus des Körpers, um der gesteigerten peroxidativen Schädigung entgegen zu wirken (Vairamon et al., 2009).

Betrachtete man die Informations- und Interventionsgruppen, so konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied zu Studienbeginn festgestellt werden (Information: 2072 ± 297 I.U./g Hb; Intervention: 2108 ± 259 I.U./g Hb).

Es lag auch kein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied der SOD-Aktivität vor (Frauen: 2124 ± 326 I.U./g Hb; Männer: 2062 ± 165 I.U./g Hb).

Dies stimmt mit Ergebnissen anderer Studien überein (Guemouri et al., 1991, Casado et al., 2011).

Es liegen aber auch Ergebnisse anderer Studien vor, die einen Unterschied der SOD-Aktivität zwischen Frauen und Männern ergaben. So zeigten Frauen in einer Studie mit gesunden Personen (Durchschnittsalter 73 Jahre) signifikant höhere SOD-Werte als Männer (Mariani et al., 2006).

Untersuchungen an 122 Typ 2 Diabetikern ergaben ebenfalls eine höhere SOD-Aktivität bei Frauen mit einem Durchschnittsalter von 58 Jahren (Adachi et al., 2004).

Anders dagegen war eine weitere Studie mit Typ 2 Diabetikern, in der Männer signifikant höhere SOD-Werte aufwiesen (Soliman, 2008).

4.1.2 Aktivitätsänderungen der SOD

In der Informationsgruppe kam es nach 8 Wochen zu keiner signifikanten Änderung der Enzymaktivität (siehe Abbildung 13).

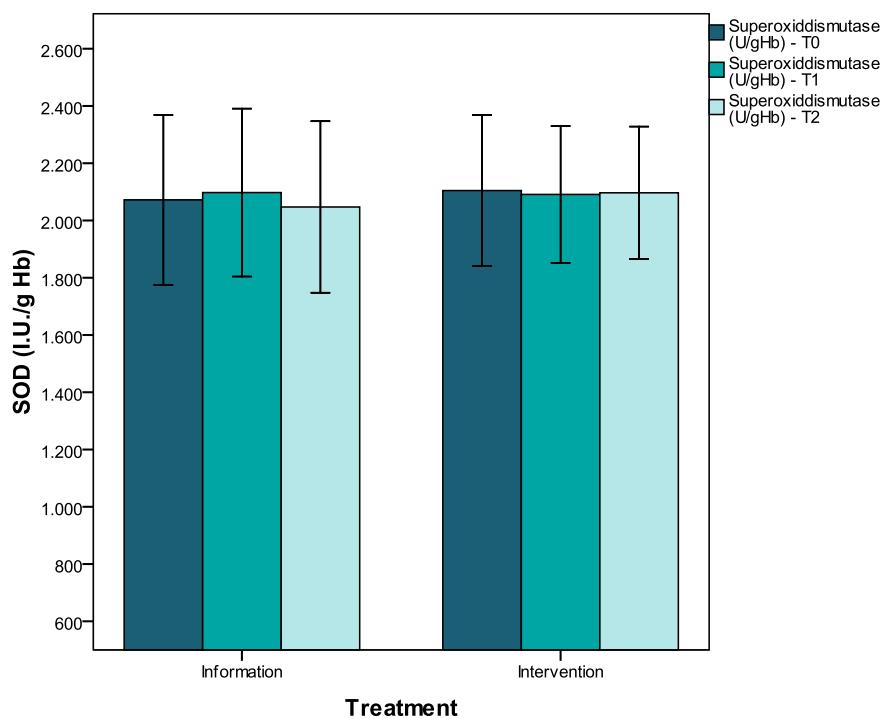


Abbildung 13: SOD-Aktivität zu T0, T1 und T2 in der Informations- und in der Interventionsgruppe

Dabei veränderte sich die SOD-Aktivität innerhalb der Gesundheitsgruppen auf unterschiedliche Weise ($p<0,05$). Bei ITDM2 blieb sie nach 8 Wochen in etwa gleich, bei NIDDM stieg und bei den Gesunden bzw. bei IFG sank sie. Die Gruppe der Gesunden und die der IFG konnten ein 11%ige bzw. eine 8%ige Aktivitätsabnahme von T0 auf T2 verzeichnen (siehe Tabelle 15).

Nach 16 Wochen nahm die mittlere SOD-Aktivität der gesamten Informationsgruppe einen Wert von 2006 ± 265 I.U./g Hb an. Dies entspricht einer Senkung von rund 3% (T0-T3 $p<0,1$).

In der Interventionsgruppe kam es zu keiner signifikanten Veränderung und die Aktivität blieb im Mittel in etwa gleich. 8 Wochen nach Ende der Intervention lag die SOD-Aktivität bei 2112 ± 243 I.U./g Hb (T3).

Betrachtet man den Aktivitätsverlauf bei IFG in der Interventionsgruppe, so nahm auch hier die Aktivität ab, erreichte aber keinen signifikanten Unterschied.

Die Aktivität bei IFG stieg anders als bei der Informationsgruppe allerdings nach Beendigung der Nahrungsintervention wieder an. Tabelle 15 zeigt alle Ergebnisse für SOD der einzelnen Gesundheitsgruppen sowohl für Informations- als auch für die Interventionsgruppe.

Tabelle 15: Messergebnisse von SOD der beiden Behandlungsgruppen zu T0, T1 und T2

	Information			Intervention		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
ITDM2	2079 ± 341	2089 ± 330	2068 ± 329	2080 ± 311	2066 ± 278	2095 ± 237
NIDDM	2069 ± 306	2128 ± 327	2164 ± 267	2115 ± 246	2120 ± 219	2138 ± 230
Gesund	2091 ± 305	2168 ± 163	1853 ± 304	2092 ± 173	2115 ± 226	2062 ± 216
IFG	2029 ± 226	1894 ± 214	1873 ± 299	2146 ± 240	2062 ± 213	1992 ± 226

Die Veränderung in der Informationsgruppe kann durch ein verbessertes Ernährungsbewusstsein verursacht werden. Jene Probanden setzten die Ratschläge weiterhin um und folgten einem gesünderen Lebensstil.

In der Interventionsstudie kam es in allen Gesundheitsgruppen zu einer leichten Reduktion von α-Tocopherol und in weiterer Folge von Tocopheroläquivalenten (Millner, 2011). Die Reduktion von α-Tocopherol wurde mit einem erhöhten Verbrauch zum Schutz vor freien Radikalen begründet, eventuell hervorgerufen durch das PUFA-reiche Öl. Das enzymatische und das nicht-enzymatische antioxidative Abwehrsystem im menschlichen Körper arbeiten eng zusammen. Die nicht-enzymatische Abwehr reichte daher scheinbar aus, um die entstehenden freien Radikale abzufangen und die Aktivität der SOD nicht zu verändern.

In anderen Interventionsstudien wurde bestätigt, dass eine Ernährung mit AO bzw. Konsumation von MUFA- und PUFA-reichen Ölen zu einer signifikanten Änderung der enzymatischen AO führte (Sankar et al., 2005, Sankar et al., 2006).

Eine Behandlung mit hypoglykämischen Medikamenten blieb ohne Effekt auf die Enzymaktivität, wohingegen bei einer kombinierten Einnahme des Medikaments mit Vitamin E eine signifikante Steigerung der SOD-Aktivität erzielt werden konnte (Shinde et al., 2011).

In einer Interventionsstudie hatten Typ 2 Diabetiker zu Beginn signifikant niedrigere Werte an antioxidativen Enzymen als die Kontrollgruppe. Nach Verabreichung der gekochten Tomaten, welche reich an Lycopin sind, konnte die Aktivität von SOD, GSH-Px und GR signifikant gesteigert werden. Als Grund für diese Veränderung nannten die Autoren die Fähigkeit von Lycopin, $O_2^{\bullet-}$ und andere freie Radikale abzufangen, um so die enzymatische Aktivität der AO zu steigern (Bose and Agrawal, 2006).

In einer Interventionsstudie von *Sankar et al.* kam es zu einer signifikanten Verbesserung der antioxidativen Enzyme bei Typ 2 Diabetikern. Die Aktivität von SOD, CAT und GSH-Px konnte durch eine tägliche Einnahme von 5 mg Sesamöl oder durch eine Kombination mit einem antidiabetischen Medikament verglichen mit der alleinigen Einnahme des Medikaments deutlich gesteigert werden. Laut den Autoren können die in dem Öl enthaltenen Lignine zur Stärkung der antioxidativen Kapazität des Sesamöls beitragen und so zur Senkung des oxidativen Stress bei Diabetikern führen (*Sankar et al.*, 2011).

4.2 Katalase

4.2.1 Ausgangswerte der Katalase-Aktivität

Die erythrozytäre CAT-Aktivität des Gesamtkollektivs bewegte sich zu Studienbeginn (T0) in einem Bereich von 59 und 228 I.U./g Hb. Dies ergab einen Mittelwert von 159 ± 31 I.U./g Hb, der in den von Bogdanska aufgestellten Referenzbereich von 119 -292 I.U./g Hb fällt (Bogdanska et al., 2003).

Vergleicht man die einzelnen Gesundheitszustände (ITDM2, NIDDM, IFG, Gesund) untereinander, so war auch hier wieder die Aktivität von CAT bei IFG am höchsten, gefolgt von den gesunden Teilnehmern, NIDDM und schließlich ITDM2. Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gesundheitsgruppen festgestellt werden (siehe Abbildung 14).

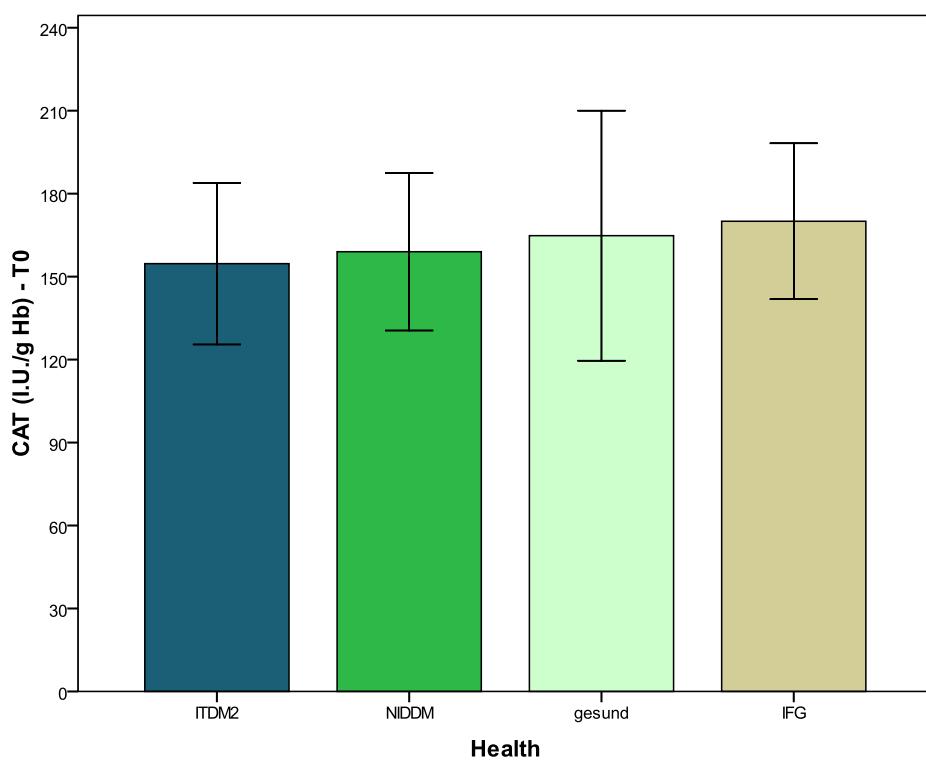


Abbildung 14: Mittlere CAT-Aktivität (I.U./g Hb) der einzelnen Gesundheitsgruppen zu T0
(ITDM2: insulin-treated diabetes mellitus 2; NIDDM: non-insulin dependent diabetes mellitus; IFG: impaired fasting glucose)

Auch bei CAT herrschen unterschiedliche Meinungen darüber, inwiefern es zu einer Aktivitätsänderung bei Diabetes kommt. In einer Studie von *Atli et al.* war die Aktivität von CAT bei Typ 2 Diabetikern mit oder ohne Komplikationen im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöht. In der Studie lag das Durchschnittsalter bei 71 Jahren, in der vorliegenden Studie war dieses niedriger (64 Jahre) (*Atli et al.*, 2004).

Typ 2 Diabetiker (mit guter glykämischer Kontrolle: FPG < 180mg/dl, mit schlechter glykämischer Kontrolle: FPG > 180mg/dl oder Diabetiker mit koronaren Herzerkrankungen) hatten signifikant höhere CAT-Aktivität als gesunde Probanden. Da auch die SOD-Aktivität erhöht war, ist eine gesteigerte CAT das Resultat für die vermehrte H₂O₂-Produktion (*Likidlilid et al.*, 2010).

In einer weiteren Studie, in der ebenfalls erhöhte Werte der CAT-Aktivität vorlagen, wurde Hyperglykämie als Ursache für eine gesteigerte Aktivität genannt (*Ahmed et al.*, 2006).

Zu einem gegenteiligen Ergebnis kam man in einer anderen Studie. Hier war die Aktivität von CAT im Vergleich zur Kontrollgruppe bei Typ 2 Diabetikern mit guter glykämischer Kontrolle ohne Vorliegen von vaskulären Komplikationen um 21% bzw. bei Patienten mit schlechter glykämischer Kontrolle und Gefäßerkrankungen um 38% verringert. CAT korrelierte negativ mit Serumglucose und mit HbA_{1c} (*Komosińska-Vassev et al.*, 2005).

In einer weiteren Studie lag ebenfalls eine gesenkten CAT-Aktivität bei Typ 2 Diabetikern vor. Bei Diabetikern ohne bekannten genetisch bedingten CAT-Mangel kann ein zu geringes Maß an CAT zu einer erhöhte Konzentration an H₂O₂ führen, was für β-Zellen des Pankreas toxisch ist (*Góth, 2008*).

Die Aktivität von CAT war bei Typ 2 Diabetikern mit oder ohne chronischen, Wundheilungsstörungen signifikant gesenkt. Eine Inaktivierung durch Glykosylierung wird von den Autoren als Ursache für die gesenkten Aktivität genannt (*Arya et al.*, 2011).

Eine Fe(III)-Häm-Gruppe bildet das Zentrum der Katalase und ist für seine Funktion zuständig. Hinsichtlich der Eisenkonzentration gab es zu Studienbeginn innerhalb der einzelnen Gesundheitsgruppen keinen signifikanten Unterschied (*Toferer, 2011*). Dies wäre eine Erklärung dafür,

warum im vorliegenden Kollektiv kein Aktivitätsunterschied gefunden werden konnte.

Betrachtete man die Informations- und Interventionsgruppen, so konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Information: 161 ± 26 I.U./g Hb; Intervention: 159 ± 33 I.U./g Hb).

Allerdings war bei Frauen die Aktivität von Katalase signifikant höher als bei Männern (Frauen: 167 ± 32 I.U./g Hb; Männer: 149 ± 26 I.U./g Hb; $p<0,05$) (siehe Abbildung 15). *Bolzan et al.* kamen zum selben Ergebnis (Bolzán et al., 1997).

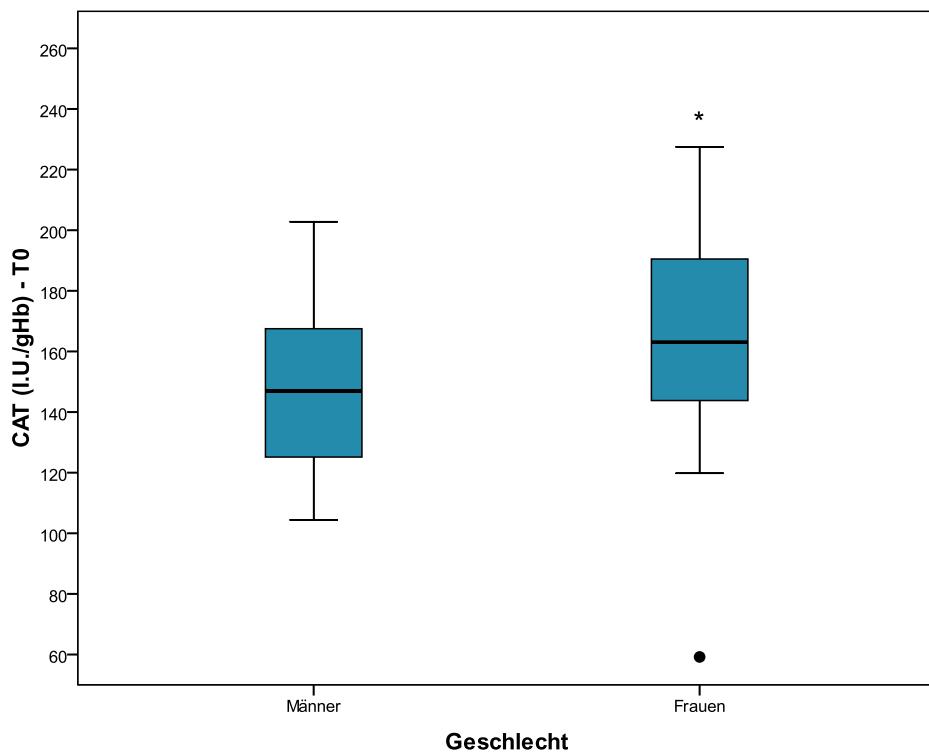


Abbildung 15: Aktivität von CAT (I.U./g Hb) des Gesamtkollektivs zu T0 bei Männer und Frauen; * $p<0,05$

Diesen Effekt konnte man auch bei einer anderen Studie feststellen. Unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten bei Männern und Frauen könnten einen Grund darstellen (Mariani et al., 2006).

Sfar et al. untersuchten den Einfluss von Spurenelementen (Zink, Kupfer) auf den antioxidativen Status bei 200 gesunden Tunesiern. Dabei wurde deutlich, dass Frauen generell eine signifikant höhere Enzymaktivität aufweisen als Männer. Sowohl bei Frauen, als auch bei Männern nahm die Enzymaktivität im Alter ab. Laut den Autoren sind Ernährungsgewohnheiten, Aufnahme von Mikronährstoffen und der genetische Hintergrund die größten Einflussfaktoren für die unterschiedlichen Angaben der Enzymaktivität. Weiters sind Studien mit geringer Fallzahl kritisch zu betrachten (*Sfar et al.*, 2009).

4.2.2 Aktivitätsänderungen der Katalase

Während der Intervention mit Gemüse und dem Interventionsöl kam zu einer Aktivitätsveränderung. Die CAT-Aktivität nahm von 159 ± 33 I.U./g Hb (T0) auf 154 ± 31 I.U./g Hb (T1) ab und sank weiter auf 151 ± 34 I.U./g Hb (T2), was eine 5%ige Aktivitätsabnahme bedeutet (siehe Abbildung 16).

Dieser Trend setzte sich auch nach der Ernährungsintervention fort und CAT sank signifikant auf 148 ± 29 I.U./g Hb (T3) ($p<0,01$). Dies entspricht einer 7%igen Aktivitätsabnahme (T0-T3) der CAT-Aktivität in der Interventionsgruppe.

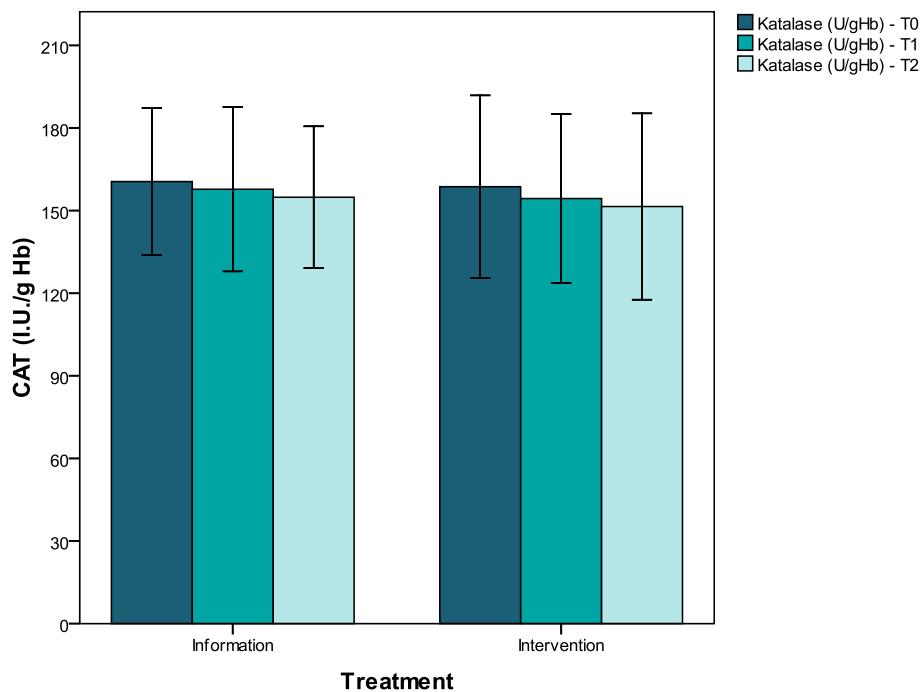


Abbildung 16: CAT-Aktivität zu T0, T1 und T2 in der Informations- und in der Interventionsgruppe

Betrachtet man dabei die einzelnen Gesundheitsgruppen, dann sank in der Gruppe der IFG die Aktivität von T0 zu T3 am stärksten und führte so zu einer 12%igen Aktivitätssenkung. Bei den gesunden Teilnehmern verringerte sich die Aktivität um 8%, bei ITDM2 um 6% und bei NIDDM um 5% (siehe Abbildung 17).

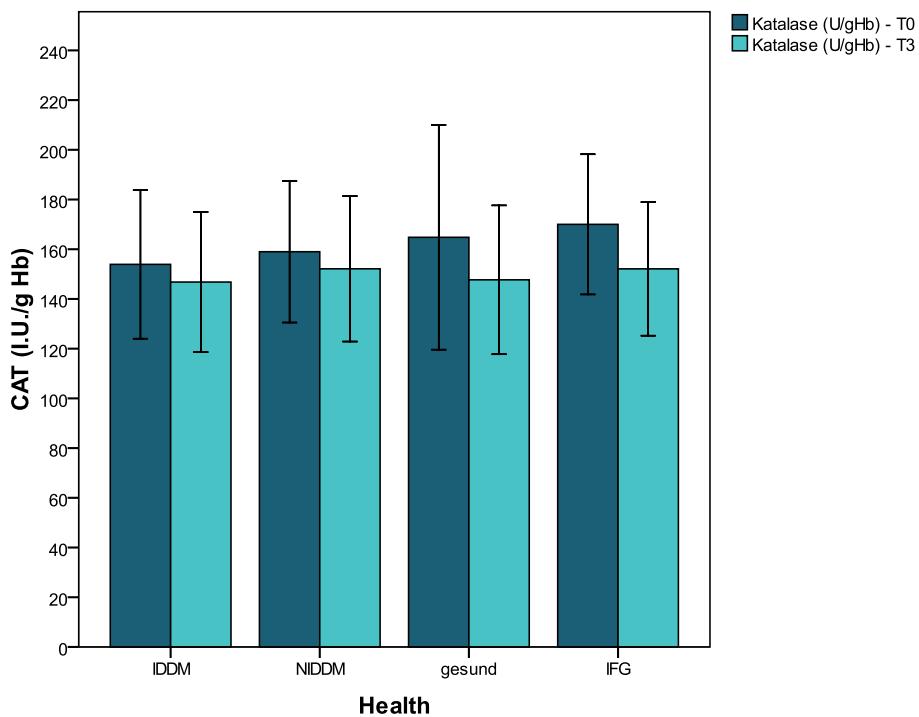


Abbildung 17: Aktivitätsänderung CAT von T0 auf T3 in den einzelnen Gesundheitsgruppen; (ITDM2: insulin-treated diabetes mellitus 2; NIDDM: non-insulin dependent diabetes mellitus; IFG: impaired fasting glucose)

Auch in der Informationsgruppe sank die CAT-Aktivität. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Hier nahm die Aktivität von 161 ± 27 I.U./g Hb (T0) auf 157 ± 30 I.U./g Hb (T1) bzw. auf 155 ± 26 I.U./g Hb (T2) ab. Dieser Trend hielt an und erreichte einen Wert von 154 ± 26 I.U./g Hb (T3) und ergab eine 4%ige Aktivitätsabnahme in der gesamten Informationsgruppe, wobei sich die Gruppe der gesunden Teilnehmer mit einer 12%igen Aktivitätsabnahme von T0 auf T3 am stärksten veränderte. Tabelle 16 zeigt alle Ergebnisse für CAT der einzelnen Gesundheitsgruppen sowohl für Informations- als auch für die Interventionsgruppe.

Tabelle 16: Messergebnisse von CAT der beiden Behandlungsgruppen zu T0, T1 und T2

	Information			Intervention		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
ITDM2	148 ± 21	150 ± 24	145 ± 24	157 ± 33	150 ± 34	147 ± 40
NIDDM	163 ± 23	165 ± 42	162 ± 32	158 ± 31	154 ± 26	151 ± 28
Gesund	179 ± 32	168 ± 24	160 ± 23	148 ± 56	147 ± 46	141 ± 40
IFG	162 ± 34	144 ± 9	159 ± 10	173 ± 28	169 ± 25	170 ± 26

4.3 Glutathionperoxidase

4.3.1 Ausgangswerte der GSH-Px-Aktivität

Die erythrozytäre GSH-Px-Aktivität des Gesamtkollektivs bewegte sich zu Studienbeginn (T0) in einem Bereich von 11,31 und 49,64 I.U./g Hb. Dies ergab einen Mittelwert von $26,64 \pm 7,4$ I.U./g Hb, der knapp unterhalb des von Bogdanska aufgestellten Referenzbereichs von 28,1-74,9 I.U./g Hb liegt (Bogdanska et al., 2003).

Vergleicht man die einzelnen Gesundheitszustände (ITDM2, NIDDM, IFG, Gesund) untereinander, so war die Aktivität von GSH-Px bei den gesunden Teilnehmern am höchsten, gefolgt von NIDDM, ITDM2 und schließlich IFG. Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gesundheitsgruppen festgestellt werden (siehe Abbildung 18).

Dies deckt sich mit Untersuchungsergebnissen anderer Studien (Sekeroğlu et al., 2000, Atli et al., 2004).

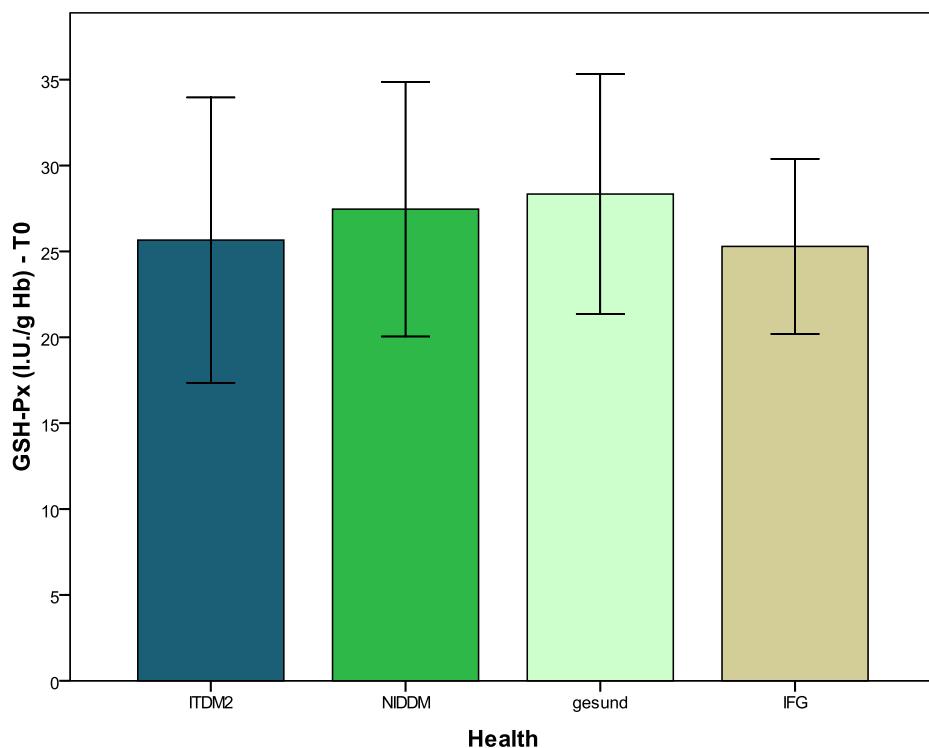


Abbildung 18: Mittlere GSH-Px-Aktivität (I.U./g Hb) der einzelnen Gesundheitsgruppen zu T0 (ITDM2: insulin-treated diabetes mellitus 2; NIDDM: non-insulin dependent diabetes mellitus; IFG: impaired fasting glucose)

In der Literatur herrscht Uneinigkeit darüber, in wie weit sich die Aktivität von GSH-Px im hyperglykämischen Stoffwechsel verändert.

In einer Studie an 150 Probanden mit kardiovaskulären Erkrankungen hatten Diabetiker eine signifikant niedrigere GSH-Px-Aktivität als Nicht-Diabetiker (Dandana et al., 2011).

Zu demselben Ergebnis kam man in anderen Studien (Seghrouchni et al., 2002). Als mögliche Ursache für eine gesenkte Aktivität kann eine Inaktivierung durch 4-Hydroxyonenal, ein Nebenprodukt der Lipidperoxidation von zirkulierendem LDL, in Frage kommen (Čolak et al., 2006).

Unterschiedliche Messergebnisse können durch den Einsatz von anderen Gebrauchslösungen zu Stande kommen. So ermöglicht die Verwendung von t-Butylhydroperoxid, wie sie auch in der vorliegenden Studie eingesetzt wurde, die Bestimmung der Gesamt-GSH-Px-Aktivität, wohingegen Hydroperoxid nur die Messung von Selen-abhängige GSH-Px erlaubt (Bolzán et al., 1997).

Eine gesenkte GSH-Px-Aktivität kann entweder durch einen niedrigen GSH-Gehalt oder durch Enzymaktivierung durch massiven oxidativen Stress erklärt werden (Ramakrishna and Jailkhani, 2008).

In einer weiteren Studie war bei Typ 2 Diabetikern die Aktivität von GSH-Px um 15% bei guter bzw. um 36% bei schlechter glykämischer Kontrolle gesenkt. GSH-Px korrelierte negativ mit Serumglucose und mit HbA_{1c} (Komosińska-Vassev et al., 2005).

In einer Studie, in der sowohl IDDM, NIDDM und ITDM2 mit einer gesunden Population verglichen wurden, lagen erhöhte, jedoch nicht statistisch signifikante GSH-Px-Werte bei Diabetikern vor (Seghrouchni et al., 2002).

Bei Typ 2 Diabetikern mit schlechter glykämischer Kontrolle und bei Diabetikern mit koronaren Herzerkrankungen wurden signifikant höhere GSH-Px-Werte gefunden (Likidilid et al., 2010).

In einer Studie von Bolajoko et al. erkannte man eine GSH-Px-Aktivitätssteigerung bei Diabetikern. Die Aktivität von GSH-Px war bei Typ 2 Diabetikern und bei Diabetikern mit Fußulzeration mit Grad II nach Wagner um 21,87% bzw. um 20,94% im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht.

Laut den Autoren könnte eine kompensatorische Anpassung des Enzyms zur Aktivitätssteigerung geführt haben (Bolajoko et al., 2008).

Vergleicht man nun die GSH-Px-Aktivität der Informations- und der Interventionsgruppe, so lag auch hier zu T0 kein signifikanter Unterschied vor. In der Informationsgruppe lag GSH-Px im Mittel bei $28,06 \pm 7,8$ I.U./g Hb, in der Interventionsgruppe lag die Aktivität von GSH-Px $26,00 \pm 7,2$ I.U./g Hb.

Allerdings war bei Frauen ($28,04 \pm 8,5$ I.U./g Hb) die GSH-Px-Aktivität signifikant höher als bei Männern ($24,70 \pm 5,2$ I.U./g Hb) ($p<0,05$) (siehe Abbildung 19).

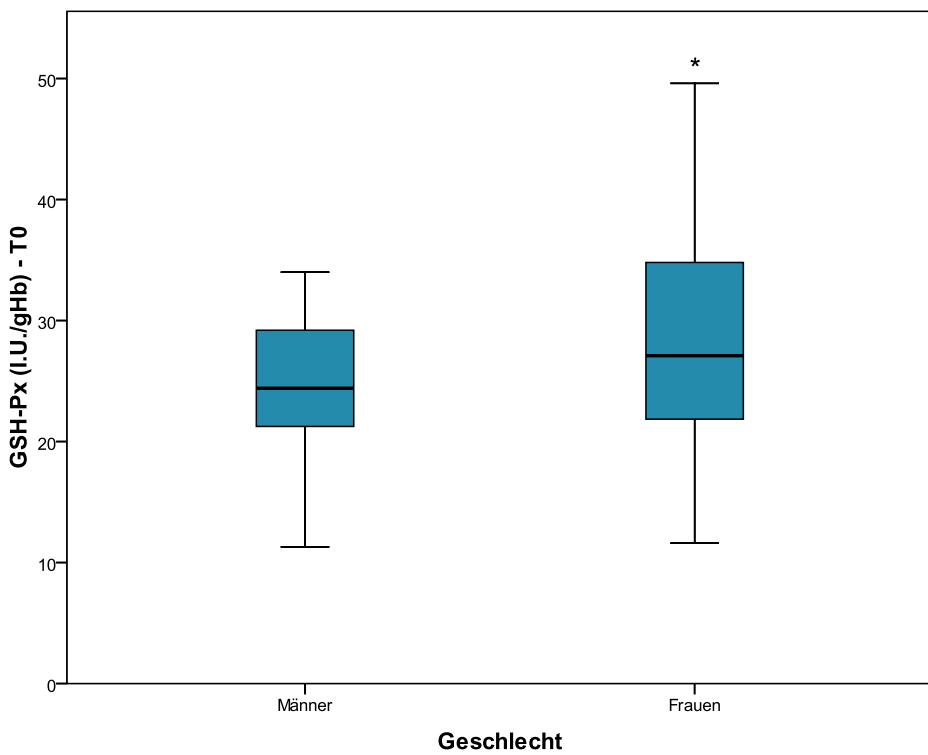


Abbildung 19: Aktivität von GSH-Px (I.U./g Hb) im Gesamtkollektiv zu T0 bei Männer und Frauen; * $p<0,05$

Laut Ho et al., die in ihrer Studie an gesunden Probanden zwischen 18-81 Jahren zu demselben Ergebnis kamen, ist ein Unterschied der GSH-Px-Aktivität zwischen den Geschlechtern durch die unterschiedliche Ernährung möglich. Die

Autoren verweisen dabei auf andere Studien, die belegen, dass Frauen mehr Obst und Gemüse essen und weniger Alkohol trinken (Ho et al., 2005).

Guemouri et al. kamen in ihrer großangelegten Studie (1782 gesunde Probanden, zwischen 4-65 Jahren) zum selben Ergebnis (Guemouri et al., 1991).

Andersen et al. zeigten ebenfalls, dass Frauen (zwischen 20 und 89 Jahren) generell zu einer höheren GSH-Px-Aktivität tendieren. Allerdings nahmen Frauen häufiger Supplamente zu sich als Männer, was eine Steigerung der Aktivität verursachen könnte (Andersen et al., 1997).

In einer Studie von *Blankenberg et al.* war die GSH-Px-Aktivität bei Männern signifikant niedriger als bei Frauen (48,5 vs. 51,1 Units/g Hb). Weiters wurde gezeigt, dass ein niedriger GSH-Px-Wert mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert war (Blankenberg et al., 2003).

Einen anderen Erklärungsansatz für einen geschlechterspezifischen Aktivitätsunterschied lieferte eine Studie, in der der Zusammenhang zwischen Östrogen und GSH-Px bei gesunden Personen untersucht wurde. Hier lag die GSH-Px-Aktivität bei prämenopausalen Frauen ebenfalls höher als bei Männern derselben Altersgruppe. Ein signifikanter Unterschied der Aktivität war zwischen prä- und postmenopausalen Frauen zu erkennen, wobei eine Östradioltherapie einen signifikanten Anstieg der Enzymaktivität bewirkte. Laut den Autoren kann Östrogen entweder durch eine aktivitätssteigernde Wirkung oder durch eine vermehrte Bildung von GSH-Px diesen Effekt bewirken und so eine antioxidative Funktion erfüllen (Massafra et al., 2002).

Bei Untersuchungen des PREDIMED-Kollektiv bei dem Einflussfaktoren von kardiovaskulären Risikofaktoren auf den oxidativen Stress und auf die Schädigung der DNA untersucht wurden, hatten Männer signifikant höhere SOD und GSH-Px Werte. Das Durchschnittsalter lag, ähnlich wie in der vorliegenden Studie, bei $66,8 \pm 6,2$ und alle Frauen waren postmenopausal. Nur 5,4% der Frauen nahmen Hormone (Fandos et al., 2009).

Zu einem gegenteiligen Ergebnis gelangten Bolzán et. al. Hier wiesen Frauen eine signifikant niedrigere GSH-Px Aktivität auf (Bolzán et al., 1997).

Weiters fiel auf, dass eine Einnahme von Supplementen tendenziell zu einer Steigerung der Enzymaktivität von GSH-Px führte ($p<0,1$). So zeigten Personen, die keine Supplemente einnehmen, eine durchschnittliche Aktivität von $25,28 \pm 6,2$ I.U./g Hb, wohingegen die GSH-Px-Aktivität bei Personen mit Supplementeinnahme im Mittel bei $28,21 \pm 8,4$ I.U./g Hb lag.

4.3.2 Aktivitätsänderung der GSH-Px

Es kam weder bei der Informations- noch bei Interventionsgruppe zu einer signifikanten Änderung der GSH-Px-Aktivität (siehe Abbildung 20).

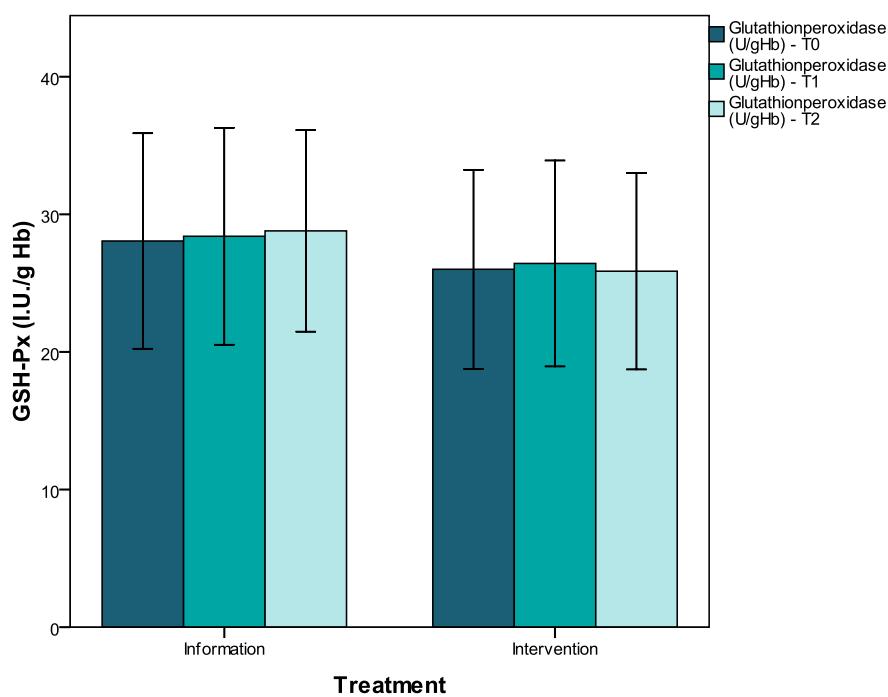


Abbildung 20: GSH-Px-Aktivität zu T0, T1 und T2 in der Informations- und in der Interventionsgruppe

In den einzelnen Gesundheitsgruppen zeigten IFG und die Gruppe der Gesunden die größten Veränderungen. Tabelle 17 zeigt alle Ergebnisse für GSH-Px der einzelnen Gesundheitsgruppen sowohl für Informations- als auch für die Interventionsgruppe.

Tabelle 17: Messergebnisse von GSH-Px der beiden Behandlungsgruppen zu T0, T1 und T2

	Information			Intervention		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
ITDM2	24,92 ± 7,6	25,31 ± 7,4	26,66 ± 7,0	25,97 ± 8,7	26,00 ± 9,0	25,63 ± 8,5
NIDDM	29,34 ± 8,6	29,17 ± 8,7	30,11 ± 8,5	26,73 ± 6,9	27,28 ± 7,5	26,95 ± 7,3
Gesund	32,88 ± 6,5	33,26 ± 7,1	32,36 ± 6,1	23,80 ± 4,1	24,68 ± 3,9	23,82 ± 3,7
IFG	25,83 ± 4,8	27,83 ± 5,6	25,17 ± 3,5	25,11 ± 5,4	25,92 ± 4,5	24,27 ± 3,3

In einer Interventionsstudie konnte die Gesamt-GSH-Px-Aktivität und die GSH-Px-Aktivität im Plasma durch Gabe von Paranüssen, welche reich an Selen sind (2 Paranüsse enthalten etwa 100 µg Selen), um 13,2% bzw. um 8,3% gesteigert werden. Plasma-GSH-Px zeigt dabei kurzfristige und Gesamt-GSH-Px reflektiert, durch die längere Lebensdauer der Erythrozyten, langfristige Veränderungen. Die Gabe von Selenomethionin-Präparat führte zu einer weniger ausgeprägten GSH-Px-Steigerung. Eventuell war eine bessere Bioverfügbarkeit von Selen in den Paranüssen Ursache für eine stärkere Aktivitätssteigerung (Thomson et al., 2008).

4.4 Weitere Untersuchungen

4.4.1 Einfluss von Rauchen auf Enzymaktivität.

Ex-Raucher wiesen gegenüber Nicht-Rauchern keinen signifikanten Aktivitätsunterschied auf. Dies deckt sich auch mit anderen Untersuchungsergebnissen (Bolzán et al., 1997, Guemouri et al., 1991). Eine Senkung der GSH-Px-Aktivität lag bei Ex-Rauchern gegenüber Nicht-Rauchern (45,7 vs. 51,6 Units/g Hb) in einer anderen Studie vor (Blankenberg et al., 2003). Zum selben Ergebnis kam man in einer Studie an gesunden Chinesen (Ho et al., 2005).

4.4.2 Einfluss von BMI auf Enzymaktivität

Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen BMI und Aktivität von SOD oder CAT zu T0 gefunden. Allerdings korrelierte GSH-Px signifikant mit BMI. Zu Beginn der Studie gab es bei ITDM2 einen Zusammenhang zwischen BMI und GSH-Px ($r=0,354$; $p<0,05$) (siehe Abbildung 21).

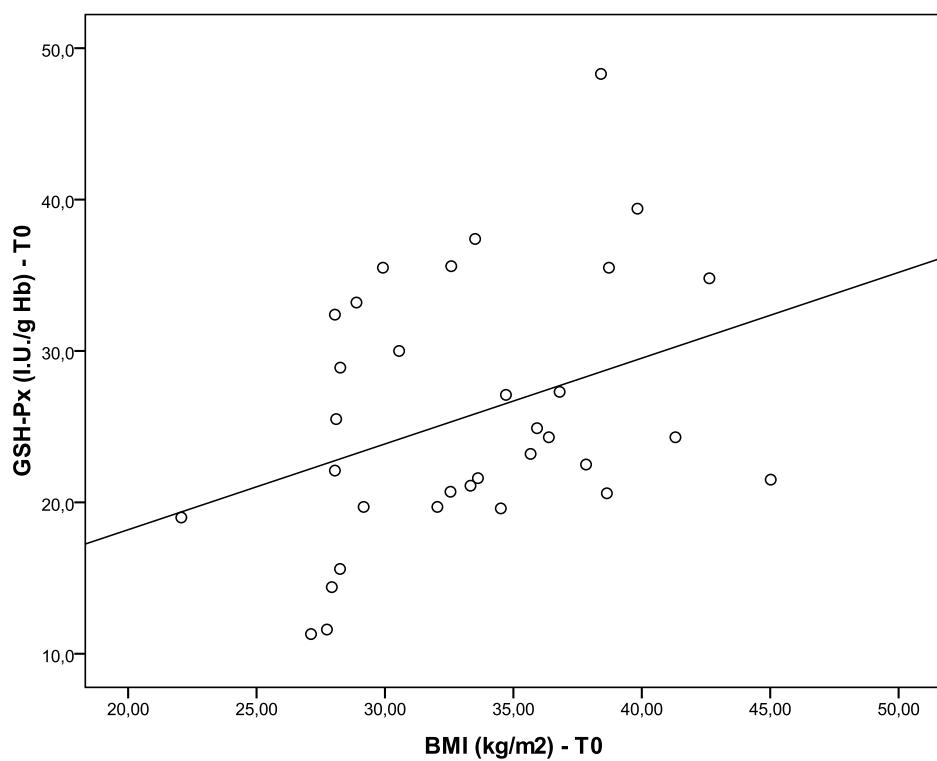


Abbildung 21: Korrelation zwischen BMI und GSH-Px zu T0 bei ITDM2

4.4.3 Einfluss von Alter auf Enzymaktivität

Es gab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Alter und Enzymaktivität. Untersuchungen bei gesunden Frauen und Frauen mit NIDDM zeigten, dass SOD im Alter ansteigt. Dieser Effekt ist aber bei gesunden stärker ausgeprägt als bei Diabetikern (Carmeli et al., 2004).

Bolzan et al. kamen zu einem gegenteiligen Ergebnis. SOD-Aktivität sank beginnend mit 28 Jahren. Ebenso fand sich ein altersbedingter Einfluss auf GSH-Px, wobei hier eine linearer Anstieg der Enzymaktivität zu verzeichnen war. CAT blieb vom Alter unbeeinflusst (Bolzán et al., 1997).

Ebenso war die erythrozytäre SOD-Aktivität bei gesunden Probanden über 90 Jahre höher als bei den 80-jährigen. Gleichzeitig war der Zinkstatus bei den 90-jährigen gegenüber den jüngeren erniedrigt. Es gab eine positive Korrelation zwischen Alter und SOD, aber eine negative zwischen SOD und Zinkstatus. Ein kompensatorischer Effekt, der durch einen Austausch zwischen gebundenem und freiem Zink entsteht, um die Funktion von Zink-abhängigen Enzymen zu erhalten, wurde als möglicher Grund für diesen Zusammenhang genannt. Laut den Autoren steigt im Alter oxidativer Stress, da die Mitochondrien in den Zellen gealtert sind bzw. die antioxidative Abwehr herabgesetzt ist. Das Durchschnittsalter lag bei 73 Jahren (Mariani et al., 2006). Dieses Ergebnis konnte in einer späteren Studie nochmals bestätigt werden. Zusätzlich führte eine Zink-Supplementation zu einer signifikanten SOD-Steigerung, wohingegen CAT und GSH-Px in ihrer Aktivität abnahmen. Laut den Autoren, kann die Aktivitätsabnahme von der Eisen-abhängigen CAT durch das Konkurrieren der beiden Spurenelemente Eisen und Zink herrühren (Mariani et al., 2008).

4.4.4 Korrelationen der Enzymaktivitäten

Im Gesamtkollektiv konnte ein schwacher Zusammenhang zwischen den einzelnen Enzymaktivitäten zu Beginn der Studie (T0) beobachtet werden. SOD korrelierte positiv mit CAT ($r=0,380$; $p<0,01$) (Abbildung 22), ebenso konnte ein Zusammenhang zwischen SOD und GSH-Px gefunden werden ($r=0,334$; $p<0,01$) (Abbildung 23). GSH-Px und CAT korrelierten ebenfalls positiv ($r=0,339$; $p<0,01$) (Abbildung 24).

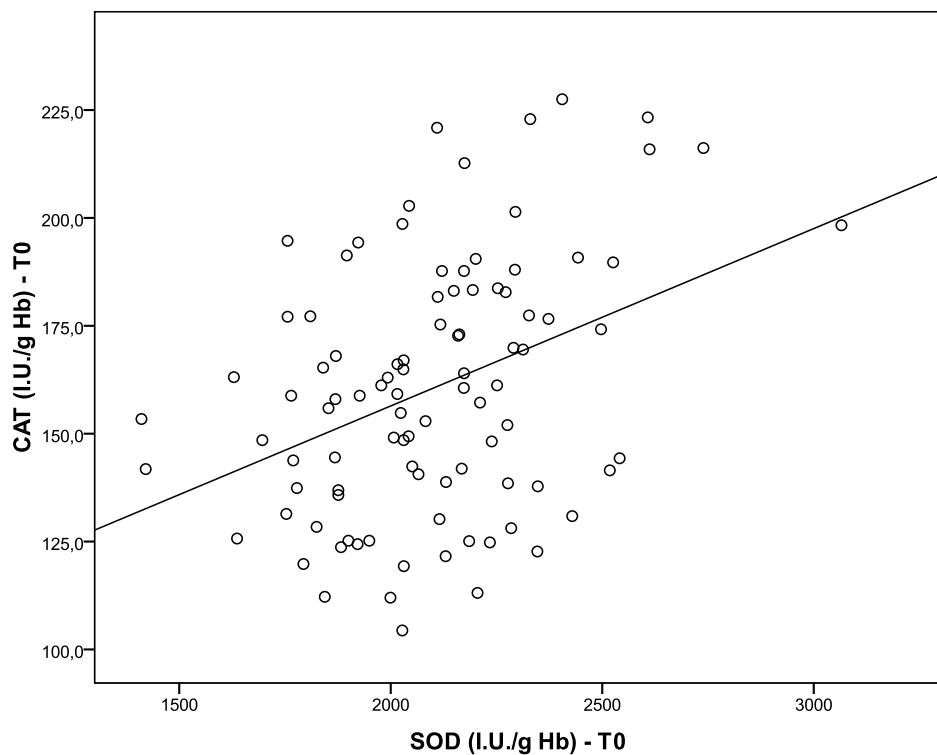


Abbildung 22: Korrelation SOD-CAT zu TO im Gesamtkollektiv ($r=0,380$; $p<0,01$)

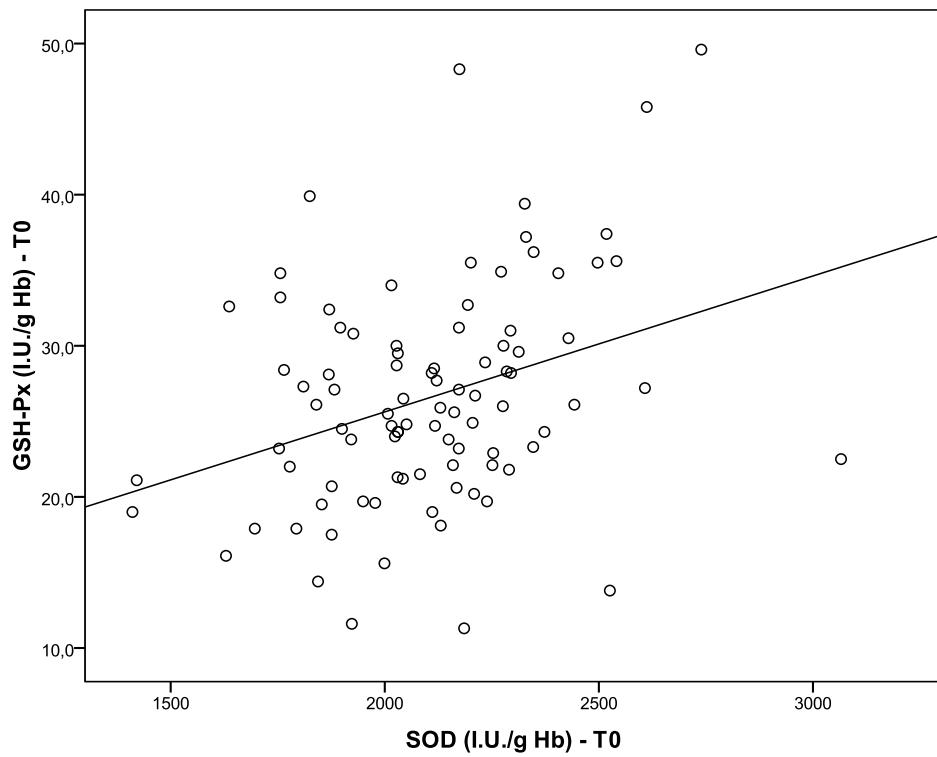


Abbildung 23: Korrelation SOD-GSH-Px zu TO im Gesamtkollektiv ($r=0,334$; $p<0,01$)

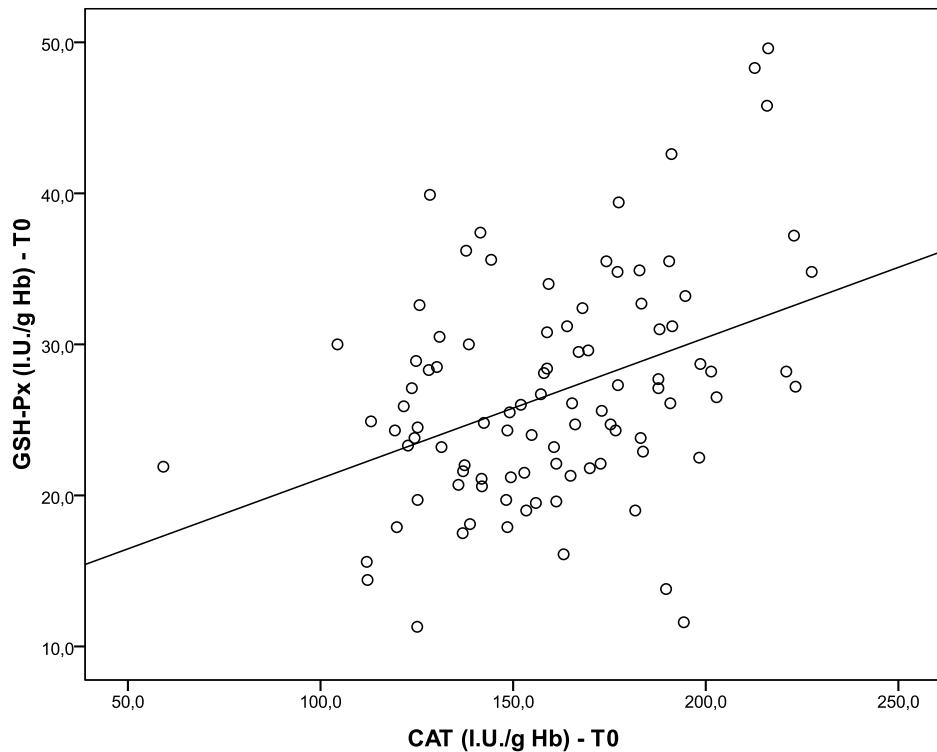


Abbildung 24: Korrelation CAT-GSH-Px zu TO im Gesamtkollektiv ($r=0,339$; $p<0,01$)

SOD baut Superoxidionen unter Entstehung von H_2O_2 ab. Hydrogenperoxid wird dann sowohl von CAT, als auch von GSH-Px zu Wasser und Sauerstoff weiter abgebaut. Eine erhöhte SOD-Aktivität geht daher mit einer Zunahme der beiden anderen antioxidativen Enzyme einher.

Colak et al. zeigten bei Typ 2 Diabetikern mit kardiovaskulären Komplikationen ebenfalls eine positive Korrelation zwischen SOD und GSH-Px (Čolak et al., 2006). In einer anderen Studie konnte ein Zusammenhang zwischen SOD und CAT beobachtet werden (Mariani et al., 2006).

4.4.5 Korrelation der Enzymaktivität mit C-Peptid

Da eine erhöhte Insulin- bzw. C-Peptid-Produktion bei vorliegender Insulinresistenz häufig bei Personen mit einem hohen BMI zu finden ist, soll an dieser Stelle nicht auf eine Untersuchung auf einen möglichen Zusammenhang zwischen den Aktivitäten der enzymatischen AO und dem C-Peptid verzichtet werden.

Ein signifikant negativer Zusammenhang konnte zwischen GSH-Px und C-Peptid zu T0 bei den Gesunden und IFG zusammengefasst gefunden werden

($r=-0,588$; $p<0,01$). Betrachtet man nun die Gruppe der ITDM2, so zeichnet sich ein gegenteiliges Bild ab und es konnte ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen GSH-Px und C-Peptid gezeigt werden ($r=0,435$; $p<0,01$). Laut diversen Studien verursacht Insulinresistenz erhöhten oxidativen Stress (Evans et al., 2003, Nolan et al., 2011). Eventuell reagiert der Körper darauf mit einer gesteigerten GSH-Px-Produktion.

4.5 Bemerkung

Es liegen kontroverse Ergebnisse über die Aktivität der enzymatischen AO vor (Likidilid et al., 2010) und bis heute herrscht Uneinigkeit darüber, inwiefern oxidativer Stress die Aktivität der enzymatischen Antioxidantien beeinflusst. Einerseits lässt sich eine gesteigerte Aktivität dieser als adaptive Antwort des sensiblen enzymatischen Systems auf den erhöhten Bedarf bei oxidativem Stress interpretieren. Andererseits ist eine gesenkte Aktivität der Enzyme durch Inaktivierung freier Radikale möglich (Ho et al., 2005). Verschiedene inflammatorische Mediatoren u.a. auch ROS und RNS können die Expression bzw. die Aktivität antioxidativer Enzyme steigern. Eine Interpretation, warum es zur Aktivitätssteigerung kommt, kann einerseits positiv ausfallen, da dies mit einem guten antioxidativen Schutz verbunden werden kann. Andererseits zeugt eine Steigerung von erhöhter Radikalentstehung oder deutet auf einen Entzündungsprozess hin (Robert-Koch-Institut, 2008). Außerdem machen die unterschiedlichen analytischen Methoden einen Vergleich der Ergebnisse untereinander schwierig (Bogdanska et al., 2003, Bolzán et al., 1997).

5. SCHLUSSBETRACHTUNG

Zusammengefasst betrachtet kam es teilweise zu einer geringen Änderung der Enzymaktivität nach der Intervention mit Gemüse- und Pflanzenöl bzw. nach einer Aufklärung über eine gesunde Ernährung. Sowohl bei ITDM2, NIDDM, IFG als auch bei Gesunden konnte eine leichte Aktivitätsänderung von SOD und CAT erreicht werden. Dabei zeigte die Gruppe der IFG und die gesunden Teilnehmer die größten Veränderungen.

Zu Beginn der Studie konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gesundheitsgruppen gefunden werden, was mit Ergebnissen aus anderen Studien übereinstimmt. Sowohl bei CAT als auch bei GSH-Px konnte eine erhöhte Enzymaktivität bei Frauen gegenüber Männern festgestellt werden. Auch andere Studien kamen zu dieser Erkenntnis. Die analysierten Aktivitäten von CAT, SOD und GSH-Px lagen in vergleichbaren Bereichen anderer Studien. Auffallend war, dass die Aktivität von GSH-Px bei den Gesunden gemeinsam mit IFG signifikant negativ mit C-Peptid korrelierte, wohingegen ein signifikant positiver Zusammenhang bei ITDM2 gefunden werden konnte. In jener Gruppe konnte auch eine positive Korrelation zwischen BMI und GSH-Px festgestellt werden. Weder Rauchen in der Vergangenheit, noch das Alter schien einen Einfluss auf die Aktivität der antioxidativen Enzyme zu haben. Alle 3 Enzyme korrelierten positiv miteinander.

Im Studienverlauf veränderte sich die Aktivität von SOD innerhalb der einzelnen Gesundheitsgruppen bei der Informationsgruppe auf unterschiedliche Weise, wobei es nach 16 Wochen im Mittel zu einer 3%igen Aktivitätsabnahme kam. Diese wird in der Literatur unterschiedlich diskutiert. Laut anderen Studien können eine Inaktivierung durch sein Produkt H₂O₂ oder eine Glykosylierung des Enzyms Gründe für eine Abnahme sein. Die Dauer des Diabetes, eine schlecht kontrollierte Blutglucose und vorliegende Komplikationen nehmen ebenfalls Einfluss auf die Enzymaktivität. Die Konsumation von Gemüse und Pflanzenöl führte zu einer signifikanten Abnahme der CAT-Aktivität in allen Gruppen nach 8 Wochen nach der Ernährungsintervention. Insgesamt sank die Aktivität um 7%, wobei wiederum IFG mit einer 12%igen Aktivitätssenkung die

größte Veränderung zeigte. In der Informationsgruppe gab es auch einen tendenziellen Abwärtstrend, jedoch konnte insgesamt keine signifikante Veränderung beobachtet werden. Hier zeigte die Gruppe der Gesunden die größte Abnahme. Ein Anstieg an freien Radikalen und die Zunahme des oxidativen Stress wird in der Literatur als Ursache für eine Enzymsenkung betrachtet. Andererseits kann eine Abnahme der Enzymaktivität von SOD und CAT auch als Hinweis auf eine Verbesserung des oxidativen Stress durch die gesteigerte Aufnahme von AO aus der Nahrung betrachtet werden. GSH-Px blieb im Mittel in seiner Aktivität sowohl in der Informations-, als auch in der Interventionsgruppe gleich.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Aufgrund der stetig steigenden Zahl an Typ 2 Diabetikern und der mit dieser Erkrankung einhergehenden Komplikationen sind neue Therapieformen im Bereich Ernährung in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. Durch Primär- und Sekundärprävention erhofft man sich eine Entlastung des Gesundheitssystems, da Diabetes mit einem hohen Kostenfaktor verbunden ist. Aus diesem Grunde wurde am Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Wien die randomisierte Interventionsstudie DIAPLANT durchgeführt. Ziel war es den Einfluss von pflanzlichen Lebensmittel auf Risikofaktoren für Folgeerkrankungen bei Typ 2 Diabetikern zu untersuchen. An der Studie nahmen insgesamt 99 Probanden teil, wobei 76 Teilnehmer insulinpflichtige oder nicht-insulinpflichtige Diabetiker waren (ITDM2, NIDDM), 12 eine gestörte Nüchternnglucose aufwiesen (IFG) und 11 gesund waren. Alle Teilnehmer wurden über die positiven Effekte einer gesunden Ernährung aufgeklärt. Zusätzlich nahm die Interventionsgruppe 8 Wochen lang täglich 300 g Gemüse und 25 ml eines Pflanzenöls zu sich, wobei dem gesamten Studienkollektiv zu Beginn, nach 4 Wochen, nach 8 Wochen (Interventionsende) und nach 16 Wochen Blut abgenommen wurde. Diese Diplomarbeit befasst sich mit dem Einfluss der Ernährungsintervention auf den antioxidativen Status. Mittels Photometer wurde die Aktivität von Superoxiddismutase (SOD), Katalase (CAT) und Glutathionperoxidase (GSH-Px) in der Erythrozytensuspension gemessen. Es konnte kein Unterschied der Enzymaktivität zwischen den Gesundheitsgruppen zu Beginn der Studie festgestellt werden. Frauen wiesen signifikant höhere Aktivitäten bei GSH-Px und CAT als Männer auf. Rauchen oder das Alter hatten keinen Einfluss auf die Aktivität. Eine Aufklärung über eine gesunde Ernährungsweise führte zu einer signifikanten Abnahme der SOD-Aktivität. Die Intervention führte zu einer signifikanten Senkung bei CAT 16 Wochen nach Studienbeginn. Weder in der Informations-, noch in der Interventionsgruppe kam es zu einer Veränderung bei GSH-Px. Sowohl eine Ernährungsberatung, als auch eine Ernährungsintervention bewirkten geringe Veränderungen des Radikalstoffwechsels.

7. SUMMARY

The number of people suffering from type 2 diabetes is tremendously increasing. Thus, new forms of therapies, mainly nutritional based, are in focus of primary and secondary prevention.

For this reason the randomized intervention study DIAPLANT was carried out at the Department of Nutritional Science of the University of Vienna. The aim of the study was to investigate the influence of an intervention with vegetables and plant oil on risk factors for complications associated with type 2 diabetes. Therefore 99 volunteers were included, of whom 76 persons were insulin-treated or non-insulin dependent type 2 diabetics (ITDM2, NIDDM), 12 persons showed impaired fasting glucose (IFG) and 12 subjects were of good health. All participants were informed about the positive effects of a healthy diet. Additionally the intervention group consumed 300 g of vegetables and 25 ml of a vegetable based oil daily for 8 weeks. Blood samples were taken at baseline and after 4, 8 (end of intervention) and 16 weeks.

In this thesis the influence of a nutritional intervention on the antioxidative status was examined. Antioxidative enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione-peroxidase (GSH-Px) in red blood cell suspension were measured photometrically.

There was no difference in enzymes activity in any of the health-subgroups at baseline. Females showed significantly higher CAT and GSH-Px values than males. Enzyme-activity was not influenced by former cigarette-smoking or age. Information about a healthy diet reduced the activity of SOD significantly. The intervention led to a significant reduction of CAT after 16 weeks of the study. GSH-Px was not influenced either by information or by intervention.

Both a nutrition based intervention and information about healthy diet influenced radical metabolism.

8. LITERATURVERZEICHNIS

- ABETE, I., GOYENECHEA, E., ZULET, M. A. & MARTÍNEZ, J. A. 2011. Obesity and metabolic syndrome: potential benefit from specific nutritional components. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21 Suppl 2, B1-15.
- ABREU, I. A. & CABELLI, D. E. 2010. Superoxide dismutases-a review of the metal-associated mechanistic variations. *Biochim Biophys Acta*, 1804, 263-74.
- ADA 2011. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 34, Suppl 1, 62 - 66.
- ADACHI, T., INOUE, M., HARA, H., MAEHATA, E. & SUZUKI, S. 2004. Relationship of plasma extracellular-superoxide dismutase level with insulin resistance in type 2 diabetic patients. *J Endocrinol*, 181, 413-7.
- AEBI, H. 1974. Katalase. In: BERGMEYER (ed.) *Methoden der enzymatischen Analyse*. Weinheim: Akademie-Verlag.
- AHMED, F. N., NAQVI, F. N. & SHAFIQ, F. 2006. Lipid peroxidation and serum antioxidant enzymes in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci*, 1084, 481-9.
- ANDERSEN, H. R., NIELSEN, J. B., NIELSEN, F. & GRANDJEAN, P. 1997. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem*, 43, 562-8.
- ARIF, M., ISLAM, M. R., WAISE, T. M., HASSAN, F., MONDAL, S. I. & KABIR, Y. 2010. DNA damage and plasma antioxidant indices in Bangladeshi type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab*, 36, 51-7.
- ARYA, A. K., POKHARIA, D. & TRIPATHI, K. 2011. Relationship between oxidative stress and apoptotic markers in lymphocytes of diabetic patients with chronic non healing wound. *Diabetes Res Clin Pract*, 94, 377-84.
- ATLI, T., KEVEN, K., AVCI, A., KUTLAY, S., TURKCAPAR, N., VARLI, M., ARAS, S., ERTUG, E. & CANBOLAT, O. 2004. Oxidative stress and antioxidant status in elderly diabetes mellitus and glucose intolerance patients. *Arch Gerontol Geriatr*, 39, 269-75.

- AZZINI, E., POLITO, A., FUMAGALLI, A., INTORRE, F., VENNERIA, E., DURAZZO, A., ZACCARIA, M., CIARAPICA, D., FODDAI, M. S., MAURO, B., RAGUZZINI, A., PALOMBA, L. & MAIANI, G. 2011. Mediterranean Diet Effect: an Italian picture. *Nutr J*, 10, 125.
- BECHTHOLD, A. 2007. Bedeutung von Obst und Gemüse für die Ernährung des Menschen. *Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e. V. - Obst und Gemüse in der Prävention chronischer Krankheiten*. Deutsche Gesellschaft für Ernährung.
- BERGENDI, L., BENES, L., DURACKOVÁ, Z. & FERENCIK, M. 1999. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci*, 65, 1865-74.
- BLANKENBERG, S., RUPPRECHT, H. J., BICKEL, C., TORZEWSKI, M., HAFNER, G., TIRET, L., SMIEJA, M., CAMBIEN, F., MEYER, J., LACKNER, K. J. & INVESTIGATORS, A. 2003. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*, 349, 1605-13.
- BOGDANSKA, J. J., KORNETI, P. & TODOROVA, B. 2003. Erythrocyte superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in healthy male subjects in Republic of Macedonia. *Bratisl Lek Listy*, 104, 108-14.
- BOLAJOKO, E. B., MOSSANDA, K. S., ADENIYI, F., AKINOSUN, O., FASANMADE, A. & MOROPANE, M. 2008. Antioxidant and oxidative stress status in type 2 diabetes and diabetic foot ulcer. *S Afr Med J*, 98, 614-7.
- BOLZÁN, A. D., BIANCHI, M. S. & BIANCHI, N. O. 1997. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking. *Clin Biochem*, 30, 449-54.
- BONNEFONT-ROUSSELOT, D., BASTARD, J. P., JAUDON, M. C. & DELATTRE, J. 2000. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab*, 26, 163-76.

- BOSE, K. S. & AGRAWAL, B. K. 2006. Effect of long term supplementation of tomatoes (cooked) on levels of antioxidant enzymes, lipid peroxidation rate, lipid profile and glycated haemoglobin in Type 2 diabetes mellitus. *West Indian Med J*, 55, 274-8.
- BROWNLEE, M. 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414, 813-20.
- BROWNLEE, M. 2005. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*, 54, 1615-25.
- BRUNO, G. & LANDI, A. 2011. Epidemiology and costs of diabetes. *Transplant Proc*, 43, 327-9.
- BRUNO, G., PICARIELLO, R., PETRELLI, A., PANERO, F., COSTA, G., CAVALLO-PERIN, P., DEMARIA, M. & GNAVI, R. 2011. Direct costs in diabetic and non diabetic people: The population-based Turin study, Italy. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*.
- BUSE, M. G. 2006. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 290, E1-E8.
- CARMELI, E., COLEMAN, R. & BERNER, Y. N. 2004. Activities of antioxidant scavenger enzymes (superoxide dismutase and glutathione peroxidase) in erythrocytes in adult women with and without type II diabetes. *Exp Diabesity Res*, 5, 171-5.
- CARTER, P., GRAY, L. J., TROUGHTON, J., KHUNTI, K. & DAVIES, M. J. 2010. Fruit and vegetable intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 341, c4229.
- CASADO, Á., CASTELLANOS, A., LÓPEZ-FERNÁNDEZ, M. E., RUIZ, R., LÓPEZ IMEDIO, E., CASTILLO, C. & FERNÁNDEZ-NIETO, A. M. 2011. Determination of oxidative and occupational stress in palliative care workers. *Clin Chem Lab Med*, 49, 471-7.
- CHOI, S. W., BENZIE, I. F., MA, S. W., STRAIN, J. J. & HANNIGAN, B. M. 2008. Acute hyperglycemia and oxidative stress: direct cause and effect? *Free Radic Biol Med*, 44, 1217-31.
- DANAEI, G., FINUCANE, M. M., LU, Y., SINGH, G. M., COWAN, M. J., PACIOREK, C. J., LIN, J. K., FARZADFAR, F., KHANG, Y. H.,

- STEVENS, G. A., RAO, M., ALI, M. K., RILEY, L. M., ROBINSON, C. A., EZZATI, M. & GLUCOSE), G. B. O. M. R. F. O. C. D. C. G. B. 2011. 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*, 378, 31-40.
- DANDANA, A., GAMMOUDI, I., FERCHICHI, S., CHAHED, H., LIMAM, H. B., ADDAD, F. & MILED, A. 2011. Correlation of Oxidative Stress Parameters and Inflammatory Markers in Tunisian Coronary Artery Disease Patients. *International Journal of Biomedical Science*, 7, 6-13.
- DE CATERINA, R., MADONNA, R., BERTOLOTTO, A. & SCHMIDT, E. B. 2007. n-3 fatty acids in the treatment of diabetic patients: biological rationale and clinical data. *Diabetes Care*, 30, 1012-26.
- DRAGSTED, L. O., PEDERSEN, A., HERMETTER, A., BASU, S., HANSEN, M., HAREN, G. R., KALL, M., BREINHOLT, V., CASTENMILLER, J. J., STAGSTED, J., JAKOBSEN, J., SKIBSTED, L., RASMUSSEN, S. E., LOFT, S. & SANDSTRÖM, B. 2004. The 6-a-day study: effects of fruit and vegetables on markers of oxidative stress and antioxidative defense in healthy nonsmokers. *Am J Clin Nutr*, 79, 1060-72.
- DRINGEN, R. 2000. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology*, 62, 649-671.
- DRUHAN, L. J., FORBES, S. P., POPE, A. J., CHEN, C. A., ZWEIER, J. L. & CARDOUNEL, A. J. 2008. Regulation of eNOS-derived superoxide by endogenous methylarginines. *Biochemistry*, 47, 7256-63.
- DURSUN, B., DURSUN, E., SULEYMANLAR, G., OZBEN, B., CAPRAZ, I., APAYDIN, A. & OZBEN, T. 2009. The effect of hemodialysis on accelerated atherosclerosis in diabetic patients: correlation of carotid artery intima-media thickness with oxidative stress. *J Diabetes Complications*, 23, 257-64.
- ELMADFA, I. & LEITZMANN, C. 2004. *Ernährung des Menschen*, Stuttgart, Eugen Ulmer.

- ESTRUCH, R., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A., CORELLA, D., SALAS-SALVADÓ, J., RUIZ-GUTIÉRREZ, V., COVAS, M. I., FIOL, M., GÓMEZ-GRACIA, E., LÓPEZ-SABATER, M. C., VINYOLES, E., ARÓS, F., CONDE, M., LAHOZ, C., LAPETRA, J., SÁEZ, G., ROS, E. & INVESTIGATORS, P. S. 2006. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med*, 145, 1-11.
- EVANS, J. L., GOLDFINE, I. D., MADDUX, B. A. & GRODSKY, G. M. 2003. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes*, 52, 1-8.
- FANDOS, M., CORELLA, D., GUILLÉN, M., PORTOLÉS, O., CARRASCO, P., IRADI, A., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A., ESTRUCH, R., COVAS, M. I., LAMUELA-RAVENTÓS, R. M., MICHAVIDA, M. T., CERDÁ, C., TORREGROSA, R., REDÓN, J., CHAVES, F. F., TORMOS, M. C., OCETE, D. & SÁEZ, G. T. 2009. Impact of cardiovascular risk factors on oxidative stress and DNA damage in a high risk Mediterranean population. *Free Radic Res*, 43, 1179-86.
- FANG, Y. Z., YANG, S. & WU, G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-9.
- FLEKAC, M., SKRHA, J., HILGERTOVA, J., LACINOVA, Z. & JAROLIMKOVA, M. 2008. Gene polymorphisms of superoxide dismutases and catalase in diabetes mellitus. *BMC Med Genet*, 9, 30.
- FOLLI, F., CORRADI, D., FANTI, P., DAVALLI, A., PAEZ, A., GIACCARI, A., PEREGO, C. & MUSCOGIURI, G. 2011. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro- and macrovascular complications: avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Curr Diabetes Rev*, 7, 313-24.
- FONG, D. S., AIELLO, L., GARDNER, T. W., KING, G. L., BLANKENSHIP, G., CAVALLERANO, J. D., FERRIS, F. L., KLEIN, R. & ASSOCIATION, A. D. 2003. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care*, 26, 226-9.
- FOSTER, R., WILLIAMSON, C. & LUNN, J. 2009. *Culinary oils and their health effects*. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 34, 4-47.

- FRIDOVICH, I. 1999. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Ann N Y Acad Sci*, 893, 13-8.
- FUJITA, H., SAKAMOTO, T., KOMATSU, K., FUJISHIMA, H., MORII, T., NARITA, T., TAKAHASHI, T. & YAMADA, Y. 2011. Reduction of circulating superoxide dismutase activity in type 2 diabetic patients with microalbuminuria and its modulation by telmisartan therapy. *Hypertens Res*, 34, 1302-8.
- GERALDES, P. & KING, G. L. 2010. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res*, 106, 1319-31.
- GIACCO, F. & BROWNLEE, M. 2010. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*, 107, 1058-70.
- GOLDIN, A., BECKMAN, J. A., SCHMIDT, A. M. & CREAGER, M. A. 2006. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*, 114, 597-605.
- GUEMOURI, L., ARTUR, Y., HERBETH, B., JEANDEL, C., CUNY, G. & SIEST, G. 1991. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem*, 37, 1932-7.
- GÓTH, L. 2008. Catalase deficiency and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 31, e93.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*, New York, Oxford University Press Inc.
- HAUNER, H. & SCHULZE, M. 2006. *Fettkonsum und Prävention des Typ 2 Diabetes mellitus*. In: DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG e.V. *Evidenzbasierte Leitlinien: Fettkonsum und Prävention ausgewählter ernährungsmitbedingter Krankheiten*, S. 75-93.
- HO, S. P., CHAN-YEUNG, M., CHOW, K. K., IP, M. S. & MAK, J. C. 2005. Antioxidant enzyme activities in healthy Chinese adults: influence of age, gender and smoking. *Respirology*, 10, 305-9.
- HU, F. B., MANSON, J. E., STAMPFER, M. J., COLDITZ, G., LIU, S., SOLOMON, C. G. & WILLETT, W. C. 2001. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med*, 345, 790-7.

- HUEBSCHMANN, A. G., REGENSTEINER, J. G., VLASSARA, H. & REUSCH, J. E. 2006. Diabetes and advanced glycation end products. *Diabetes Care*, 29, 1420-32.
- HUIJBERTS, M. S., SCHAPER, N. C. & SCHALKWIJK, C. G. 2008. Advanced glycation end products and diabetic foot disease. *Diabetes Metab Res Rev*, 24 Suppl 1, S19-24.
- IDF. 2011a. *IDF Diabetesatlas 5th ed.* 2011, URL: <http://www.idf.org/atlasmap/atlasmap> (21.04.2012) [Online].
- IDF. 2011b. "What is Diabetes?" [Online]. URL: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/what-is-diabetes> (17.04.2012).
- JANG, J. H. & SURH, Y. J. 2003. Potentiation of cellular antioxidant capacity by Bcl-2: implications for its antiapoptotic function. *Biochem Pharmacol*, 66, 1371-9.
- JAY, D., HITOMI, H. & GRIENDLING, K. K. 2006. Oxidative stress and diabetic cardiovascular complications. *Free Radic Biol Med*, 40, 183-92.
- JENKINS, D. J., HU, F. B., TAPSELL, L. C., JOSSE, A. R. & KENDALL, C. W. 2008. Possible benefit of nuts in type 2 diabetes. *J Nutr*, 138, 1752S-1756S.
- JIANG, R., MANSON, J. E., STAMPFER, M. J., LIU, S., WILLETT, W. C. & HU, F. B. 2002. Nut and peanut butter consumption and risk of type 2 diabetes in women. *JAMA*, 288, 2554-60.
- JOHANSEN, J. S., HARRIS, A. K., RYCHLY, D. J. & ERGUL, A. 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol*, 4, 5.
- JÖNSSON, B. & BOARD, C.-A. 2002. Revealing the cost of Type II diabetes in Europe. *Diabetologia*, 45, S5-12.
- KAISER, N., SASSON, S., FEENER, E. P., BOUKOBZA-VARDI, N., HIGASHI, S., MOLLER, D. E., DAVIDHEISER, S., PRZYBYLSKI, R. J. & KING, G. L. 1993. Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Diabetes*, 42, 80-9.

- KALIORA, A. C., DEDOUSSIS, G. V. & SCHMIDT, H. 2006. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis*, 187, 1-17.
- KASPER, H. 2009. *Ernährungsmedizin und Diätetik*, München, Urban & Fischer Verlag.
- KASSAB, A. & PIWOWAR, A. 2012. Cell oxidant stress delivery and cell dysfunction onset in type 2 diabetes. *Biochimie*.
- KASZNICKI, J., KOSMALSKI, M., SLIWINSKA, A., MROWICKA, M., STANCZYK, M., MAJSTEREK, I. & DRZEWOSKI, J. 2012. Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy. *Mol Biol Rep*, 39, 8669-78.
- KERNER, W. & BRÜCKEL, J. 2011. *Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus-Praxisempfehlungen der Deutschen Diabetes-Gesellschaft. Diabetologie*, 6 Suppl 2, S107-S110.
- KOMOSIŃSKA-VASSEV, K., OLCZYK, K., OLCZYK, P. & WINSZ-SZCZOTKA, K. 2005. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*, 68, 207-16.
- KOWLURU, R. A. & CHAN, P. S. 2007. Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res*, 2007, 43603.
- KOYA, D. & KING, G. L. 1998. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*, 47, 859-66.
- LEITZMANN, C., MÜLLER, C., MICHEL, P., BREHME, U., HAHN, A. & LAUBE, H. 2009. *Ernährung in Prävention und Therapie*, Stuttgart, Hippokrates Verlag.
- LEOPOLD, J. A. & LOSCALZO, J. 2005. Oxidative enzymopathies and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25, 1332-40.
- LIKIDLILID, A., PATCHANANS, N., PEERAPATDIT, T. & SRIRATANASATHAVORN, C. 2010. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of type 2 diabetic patients. *J Med Assoc Thai*, 93, 682-93.

- LIMÓN-PACHECO, J. & GONSEBATT, M. E. 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res*, 674, 137-47.
- LODOVICI, M., BIGAGLI, E., BARDINI, G. & ROTELLA, C. M. 2009. Lipoperoxidation and antioxidant capacity in patients with poorly controlled type 2 diabetes. *Toxicol Ind Health*, 25, 337-41.
- LÖFFLER, G., PETRIDES, P. & HEINRICH, P. 2007. *Biochemie und Pathobiochemie*, Heidelberg, Springer Medizin Verlag.
- MA, Y., NJIKE, V. Y., MILLET, J., DUTTA, S., DOUGHTY, K., TREU, J. A. & KATZ, D. L. 2010. Effects of walnut consumption on endothelial function in type 2 diabetic subjects: a randomized controlled crossover trial. *Diabetes Care*, 33, 227-32.
- MARIANI, E., CORNACCHIOLA, V., POLIDORI, M. C., MANGIALASCHE, F., MALAVOLTA, M., CECCHETTI, R., BASTIANI, P., BAGLIONI, M., MOCCHEGIANI, E. & MECOCCI, P. 2006. Antioxidant enzyme activities in healthy old subjects: influence of age, gender and zinc status: results from the Zincage Project. *Biogerontology*, 7, 391-8.
- MARIANI, E., MANGIALASCHE, F., FELIZIANI, F. T., CECCHETTI, R., MALAVOLTA, M., BASTIANI, P., BAGLIONI, M., DEDOUSSIS, G., FULOP, T., HERBEIN, G., JAJTE, J., MONTI, D., RINK, L., MOCCHEGIANI, E. & MECOCCI, P. 2008. Effects of zinc supplementation on antioxidant enzyme activities in healthy old subjects. *Exp Gerontol*, 43, 445-51.
- MARKO, D. 2011. Einzelne Peptide- Glutathion-Peroxidase, In: Teil 2 Reaktivität von Aminosäuren, Nachweismethoden. *Lebensmittelchemie I*. Vienna.
- MARTÍNEZ, M. L., LABUCKAS, D. O., LAMARQUE, A. L. & MAESTRI, D. M. 2010. Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-products. *J Sci Food Agric*, 90, 1959-67.
- MASELLA, R., DI BENEDETTO, R., VARÌ, R., FILESI, C. & GIOVANNINI, C. 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological

- systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*, 16, 577-86.
- MASSAFRA, C., GIOIA, D., DE FELICE, C., MUSCETTOLA, M., LONGINI, M. & BUONOCORE, G. 2002. Gender-related differences in erythrocyte glutathione peroxidase activity in healthy subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 57, 663-7.
- MATOUGH, F. A., BUDIN, S. B., HAMID, Z. A., ALWAHAIBI, N. & MOHAMED, J. 2012. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 12, 5-18.
- MEHNERT, H., STANDL, E., USADEL, K. & HÄRING, H. 2003. *Diabetologie in Klinik und Praxis*, Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- MILLNER, Y. 2011. *Einfluss einer Gemüse- und Pflanzenölintervention auf den Status fettlöslicher Vitamine bei Typ-II-Diabetikern*. Universität Wien.
- MOKINI, Z., MARCOVECCHIO, M. L. & CHIARELLI, F. 2010. Molecular pathology of oxidative stress in diabetic angiopathy: role of mitochondrial and cellular pathways. *Diabetes Res Clin Pract*, 87, 313-21.
- MOLITCH, M. E., DEFRONZO, R. A., FRANZ, M. J., KEANE, W. F., MOGENSEN, C. E., PARVING, H. H. & ASSOCIATION, A. D. 2003. Diabetic nephropathy. *Diabetes Care*, 26 Suppl 1, S94-8.
- MULAC, K. 2005. *Pathomechanismen der Atherosklerose bei Diabetes mellitus. Journal für Kardiologie-Österreichische Zeitschrift für Herz-Kreislauferkrankungen*, 12, 9-14.
- MÜNZEL, T., SINNING, C., POST, F., WARNHOLTZ, A. & SCHULZ, E. 2008. Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann Med*, 40, 180-96.
- NAUDI, A., JOVE, M., AYALA, V., CASSANYE, A., SERRANO, J., GONZALO, H., BOADA, J., PRAT, J., PORTERO-OTIN, M. & PAMPLONA, R. 2012. Cellular dysfunction in diabetes as maladaptive response to mitochondrial oxidative stress. *Exp Diabetes Res*, 2012, 696215.
- NOLAN, C. J., DAMM, P. & PRENTKI, M. 2011. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet*, 378, 169-81.

- NORRIS, L. E., COLLENE, A. L., ASP, M. L., HSU, J. C., LIU, L. F., RICHARDSON, J. R., LI, D., BELL, D., OSEI, K., JACKSON, R. D. & BELURY, M. A. 2009. Comparison of dietary conjugated linoleic acid with safflower oil on body composition in obese postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 90, 468-76.
- NÖTHLINGS, U., SCHULZE, M. B., WEIKERT, C., BOEING, H., VAN DER SCHOOW, Y. T., BAMIA, C., BENETOU, V., LAGIOU, P., KROGH, V., BEULENS, J. W., PEETERS, P. H., HALKJAER, J., TJØNNELAND, A., TUMINO, R., PANICO, S., MASALA, G., CLAVEL-CHAPELON, F., DE LAUZON, B., BOUTRON-RUAULT, M. C., VERCAMBRE, M. N., KAAKS, R., LINSEISEN, J., OVERVAD, K., ARRIOLA, L., ARDANAZ, E., GONZALEZ, C. A., TORMO, M. J., BINGHAM, S., KHAW, K. T., KEY, T. J., VINEIS, P., RIBOLI, E., FERRARI, P., BOFFETTA, P., BUENO-DE-MESQUITA, H. B., VAN DER A, D. L., BERGLUND, G., WIRFÄLT, E., HALLMANS, G., JOHANSSON, I., LUND, E. & TRICHOPOULO, A. 2008. Intake of vegetables, legumes, and fruit, and risk for all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in a European diabetic population. *J Nutr*, 138, 775-81.
- OHLENSCHLÄGER, G. 2000. *Freie Radikale, Oxidativer Stress und Antioxidantien- Krankheitsverursachende, präventive und reparative Prinzipien in lebenden Systemen*, Köln, Ralf Reglin Verlag.
- OLSHANSKY, S. J., PASSARO, D. J., HERSHOW, R. C., LAYDEN, J., CARNES, B. A., BRODY, J., HAYFLICK, L., BUTLER, R. N., ALLISON, D. B. & LUDWIG, D. S. 2005. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med*, 352, 1138-45.
- PAN, X. R., LI, G. W., HU, Y. H., WANG, J. X., YANG, W. Y., AN, Z. X., HU, Z. X., LIN, J., XIAO, J. Z., CAO, H. B., LIU, P. A., JIANG, X. G., JIANG, Y. Y., WANG, J. P., ZHENG, H., ZHANG, H., BENNETT, P. H. & HOWARD, B. V. 1997. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Care*, 20, 537-44.

- PANDEY, K. B. & RIZVI, S. I. 2011. Biomarkers of oxidative stress in red blood cells. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 155, 131-6.
- PASUPATHI, P., CHANDRASEKAR, V. & KUMAR, U. S. 2009. Evaluation of oxidative stress, enzymatic and non-enzymatic antioxidants and metabolic thyroid hormone status in patients with diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 3, 160-165.
- PSALTOPOULOU, T., ILIAS, I. & ALEVIZAKI, M. 2010. The role of diet and lifestyle in primary, secondary, and tertiary diabetes prevention: a review of meta-analyses. *Rev Diabet Stud*, 7, 26-35.
- PÉREZ-MATUTE, P., ZULET, M. A. & MARTÍNEZ, J. A. 2009. Reactive species and diabetes: counteracting oxidative stress to improve health. *Curr Opin Pharmacol*, 9, 771-9.
- RAHIMI, R., NIKFAR, S., LARIJANI, B. & ABDOLLAHI, M. 2005. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother*, 59, 365-73.
- RAKOVAC, I., PLANK, J., JEITLER, K., BECK, P., SEEREINER, S., MRAK, P., BAUER, B. & PIEBER, T. 2009. *Gesundheitsstatus der Typ-2-Diabetiker in Österreich aus Sicht einer Qualitätsicherungs-Initiative*. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 159/5-6, 126-133.
- RAMAKRISHNA, V. & JAILKHANI, R. 2008. Oxidative stress in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) patients. *Acta Diabetol*, 45, 41-6.
- RAMANA, K. V., CHANDRA, D., SRIVASTAVA, S., BHATNAGAR, A. & SRIVASTAVA, S. K. 2003. Nitric oxide regulates the polyol pathway of glucose metabolism in vascular smooth muscle cells. *FASEB J*, 17, 417-25.
- RAMASAMY, R. & GOLDBERG, I. J. 2010. Aldose reductase and cardiovascular diseases, creating human-like diabetic complications in an experimental model. *Circ Res*, 106, 1449-58.
- RIEDER, A., RATHMANNER, T., KIEFER, I., DORNER, T. & KUNZE, M. 2004. *Österreichischer Diabetesbericht 2004- Daten, Fakten, Strategien*.

- RISÉRUS, U., WILLETT, W. C. & HU, F. B. 2009. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Prog Lipid Res*, 48, 44-51.
- ROBERT-KOCH-INSTITUT 2008. Oxidativer Stress und Möglichkeiten seiner Messung aus umweltmedizinischer Sicht- Mitteilung der Kommission "Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin". In: *BUNDESGESUNDHEITSBLATT-GESUNDHEITSFORSCHUNG-GESUNDHEITSSCHUTZ* (ed.).
- ROBERTS, R. A., SMITH, R. A., SAFE, S., SZABO, C., TJALKENS, R. B. & ROBERTSON, F. M. 2010. Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, 276, 85-94.
- ROBERTSON, R. P., HARMON, J., TRAN, P. O., TANAKA, Y. & TAKAHASHI, H. 2003. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*, 52, 581-7.
- RODEN, M. 2009. *Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation und Diagnose*, Österreichische Diabetes Gesellschaft, Hrsg.
- ROGLIC, G. & UNWIN, N. 2010. Mortality attributable to diabetes: estimates for the year 2010. *Diabetes Res Clin Pract*, 87, 15-9.
- ROLO, A. P. & PALMEIRA, C. M. 2006. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol*, 212, 167-78.
- ROS, E. 2009. Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 89, 1649S-56S.
- ROSEN, G. M., POU, S., RAMOS, C. L., COHEN, M. S. & BRITIGAN, B. E. 1995. Free radicals and phagocytic cells. *FASEB J*, 9, 200-9.
- SALAS-SALVADÓ, J., BULLÓ, M., BABIO, N., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M., IBARROLA-JURADO, N., BASORA, J., ESTRUCH, R., COVAS, M. I., CORELLA, D., ARÓS, F., RUIZ-GUTIÉRREZ, V., ROS, E. & INVESTIGATORS, P. S. 2011a. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes Care*, 34, 14-9.

- SALAS-SALVADÓ, J., MARTINEZ-GONZÁLEZ, M., BULLÓ, M. & ROS, E. 2011b. The role of diet in the prevention of type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21 Suppl 2, B32-48.
- SALMERÓN, J., HU, F. B., MANSON, J. E., STAMPFER, M. J., COLDITZ, G. A., RIMM, E. B. & WILLETT, W. C. 2001. Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women. *Am J Clin Nutr*, 73, 1019-26.
- SANKAR, D., ALI, A., SAMBANDAM, G. & RAO, R. 2011. Sesame oil exhibits synergistic effect with anti-diabetic medication in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Nutr*, 30, 351-8.
- SANKAR, D., RAO, M. R., SAMBANDAM, G. & PUGALENDI, K. V. 2006. A pilot study of open label sesame oil in hypertensive diabetics. *J Med Food*, 9, 408-12.
- SANKAR, D., SAMBANDAM, G., RAMAKRISHNA RAO, M. & PUGALENDI, K. V. 2005. Modulation of blood pressure, lipid profiles and redox status in hypertensive patients taking different edible oils. *Clin Chim Acta*, 355, 97-104.
- SCHINDLER, K. & LUDVIK, B. 2009. Ernährungsempfehlungen bei Diabetes mellitus. In: *Diabetes mellitus- Leitlinien für die Praxis (Überarbeitete und erweiterte Fassung 2009)*. Wien Klin Wochenschr, 121, S.61-64.
- SCHULZE, M. 2007. Typ 2 Diabetes mellitus. *Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e. V. - Obst und Gemüse in der Prävention chronischer Krankheiten*. Deutsche Gesellschaft für Ernährung.
- SCHÄFER, M. & WERNER, S. 2008. Oxidative stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacol Res*, 58, 165-71.
- SEGHROUCHNI, I., DRAI, J., BANNIER, E., RIVIÈRE, J., CALMARD, P., GARCIA, I., ORGIAZZI, J. & REVOL, A. 2002. Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta*, 321, 89-96.
- SEKEROĞLU, M. R., SAHİN, H., DÜLGER, H. & ALGÜN, E. 2000. The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*, 33, 669-74.

- SFAR, S., JAWED, A., BRAHAM, H., AMOR, S., LAPORTE, F. & KERKENI, A. 2009. Zinc, copper and antioxidant enzyme activities in healthy elderly Tunisian subjects. *Exp Gerontol*, 44, 812-7.
- SHINDE, S. N., DHADKE, V. N. & SURYAKAR, A. N. 2011. Evaluation of Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus and Follow-up Along with Vitamin E Supplementation. *Indian J Clin Biochem*, 26, 74-7.
- SIMOPOULOS, A. P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*, 56, 365-79.
- SIMOPOULOS, A. P. 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*, 233, 674-88.
- SIVITZ, W. I. & YOREK, M. A. 2010. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*, 12, 537-77.
- SMAOUI, M., KOUBAA, N., HAMMAMI, S., ABID, N., FEKI, M., CHAABA, R., ATTIA, N., ABID, M. & HAMMAMI, M. 2006. Association between dietary fat and antioxidant status of Tunisian type 2 diabetic patients. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 74, 323-9.
- SOLIMAN, G. Z. 2008. Blood lipid peroxidation (superoxide dismutase, malondialdehyde, glutathione) levels in Egyptian type 2 diabetic patients. *Singapore Med J*, 49, 129-36.
- SON, S. M. 2012. Reactive oxygen and nitrogen species in pathogenesis of vascular complications of diabetes. *Diabetes Metab J*, 36, 190-8.
- STUMVOLL, M., GOLDSTEIN, B. J. & VAN HAEFTEN, T. W. 2005. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*, 365, 1333-46.
- SU, Y., LIU, X. M., SUN, Y. M., JIN, H. B., FU, R., WANG, Y. Y., WU, Y. & LUAN, Y. 2008. The relationship between endothelial dysfunction and oxidative stress in diabetes and prediabetes. *Int J Clin Pract*, 62, 877-82.
- SZABO, C. 2009. Role of nitrosative stress in the pathogenesis of diabetic vascular dysfunction. *Br J Pharmacol*, 156, 713-27.

- SÖZMEN, E. Y., SÖZMEN, B., DELEN, Y. & ONAT, T. 2001. Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Arch Med Res*, 32, 283-7.
- TAPSELL, L. C., GILLEN, L. J., PATCH, C. S., BATTERHAM, M., OWEN, A., BARÉ, M. & KENNEDY, M. 2004. Including walnuts in a low-fat/modified-fat diet improves HDL cholesterol-to-total cholesterol ratios in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 27, 2777-83.
- THOMSON, C. D., CHISHOLM, A., MCLACHLAN, S. K. & CAMPBELL, J. M. 2008. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. *Am J Clin Nutr*, 87, 379-84.
- TOFERER, D. 2011. *Einfluss einer Gemüse und Pflanzenöllintervention auf den Status von Homocystein, Folsäure, Vitamin B12 und die Erythrozytenindizes bei Typ-II-Diabetikern*. Universität Wien.
- TUOMILEHTO, J., LINDSTRÖM, J., ERIKSSON, J. G., VALLE, T. T., HÄMÄLÄINEN, H., ILANNE-PARIKKA, P., KEINÄNEN-KIUKAANNIEMI, S., LAAKSO, M., LOUHERANTA, A., RASTAS, M., SALMINEN, V., UUSITUPA, M. & GROUP, F. D. P. S. 2001. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*, 344, 1343-50.
- VAIRAMON, S. J., BABU, M. & VISWANATHAN, V. 2009. Oxidative Stress Markers Regulating the Healing of Foot Ulcers in Patients With Type 2 Diabetes. *WOUNDS*, 21, 273-279.
- VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M. T., MAZUR, M. & TELSER, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39, 44-84.
- VASSORT, G. & TURAN, B. 2010. Protective role of antioxidants in diabetes-induced cardiac dysfunction. *Cardiovasc Toxicol*, 10, 73-86.
- WEST, I. C. 2000. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med*, 17, 171-80.
- WHITING, D. R., GUARIGUATA, L., WEIL, C. & SHAW, J. 2011. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*, 94, 311-21.

- WILLIAMS, R., VAN GAAL, L., LUCIONI, C. & BOARD, C.-A. 2002. Assessing the impact of complications on the costs of Type II diabetes. *Diabetologia*, 45, S13-7.
- YAMAOKA, K. & TANGO, T. 2005. Efficacy of lifestyle education to prevent type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Care*, 28, 2780-6.
- ÖDG. 2011. "Was ist Diabetes?", URL: <http://www.oedg.org/diabetes.html> (21.04.2012) [Online].
- ČOLAK, E., MAJKIĆ-SINGH, N., STANKOVIĆ, S., DORDEVIĆ, P. B., DIMITRIJEVIĆ-SREĆKOVIĆ, V., LALIĆ, K. & LALIĆ, N. 2006. The Effect of Hyperglycemia on the Values of Antioxidative Parameters in Type 2 Diabetic Patients with Cardiovascular Complications. *Jugoslov Med Biochem*, 25, 173-179.

LEBENSLAUF

Persönliche Daten

Name	Manuela Wimmer
Geburtsdatum,-ort	22.11.1985, Wels (OÖ)
Staatsbürgerschaft	Österreich
Familienstand	ledig

Studium und schulische Ausbildung

2005 - 2012	Diplomstudium Ernährungswissenschaft, Uni Wien
1996 - 2004	Gymnasium Wels

Berufserfahrung und Praktika

seit 08/2011	Sneckbox 888 Vertriebs GmbH, Wien
07/2010 – 04/2011	Praktikum bei AGES Kompetenzzentrum Strahlenschutz und Radiochemie, Wien Radiochemisches Arbeiten, Literaturrecherche zum Thema „Altlasten“
04/2010	Praktikum im Hanusch-Krankenhaus, Abteilung Diätbüro, Wien Mithilfe in der Diätküche, Literaturrecherche
03/2010	Praktikum am Institut für Ernährungswissenschaften, Wien Mitarbeit im Rahmen der Diabetes Studie „Diaplant“
07/2008 – 04/2010	Baxter Healthcare, Wien Dateneingabe, Verwaltung der Ablage
06/2008	Wiener Linien GmbH & Co KG, Wien
01/2008 – 06/2008	PEP Promotion and Hospitality GmbH, Wien
03/2006 – 06/2007	GVO Personal GmbH, Wien