universität wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Unterschiede im Auftreten von Mikrokernen zwischen Gesunden und Typ 2 Diabetikern und der Einfluss der Diabetestherapie

Verfasserin

Sonja Adrigan

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt:	A 474
Studienrichtung lt. Studienblatt:	Ernährungswissenschaften
Betreuerin / Betreuer:	A.o. Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Wagner

DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich mich vor allem bei Mag. Elisabeth Müllner bedanken, die unsere Gruppe mit unglaublicher Aufopferung und Geduld beim Erstellen unserer Diplomarbeiten unterstützte und sich immer für all unsere Fragen viel Zeit nahm.

Ein herzliches Dankeschön auch an A.o. Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Wagner und Marlies Wallner für ihre tatkräftige Betreuung.

Meinen Kolleginnen Marie, Rosi, Kathi und Resi danke ich für die gegenseitig unterstützende, freundschaftliche Zusammenarbeit, welche mir in langen Laborzeiten die Arbeit erleichterte.

Ein besonderer Dank gilt meiner ganzen Familie, mit deren reger Hilfe und Unterstützung dieses Studium erst möglich wurde.

Meinen Palaoro's und C.S. möchte ich dafür danken, dass sie mir in meiner Studienzeit immer zur Seite standen, mich motivierten und es schafften, mich auch in stressigen Zeiten aufzuheitern.

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG 1

2 LITERATURÜBERSICHT 2

2.1 DIABETES MELLITUS (DM) 2

2.1.1 Pathologie 2

2.1.2 Klassifikation 2

2.1.3 Diagnostik 4

2.1.4 Epidemologie 4

2.1.5 Spätschäden und Komplikationen 6

2.1.6 Kosten 8

2.2 THERAPIE VON DMT2 9

2.2.1 Orale anti-diabetische Medikamente 9

2.2.2 Insulin oder Insulinanaloga 10

2.3 DMT2 IM ZUSAMMENHANG MIT DEM KREBSRISIKO 11

2.3.1 Mögliche Krebsrisikofaktoren bei DMT2 12

2.3.2 Möglicher Einfluss von Diabetes-Therapien auf das Krebsrisiko 14

2.4 DER CYTOKINESIS-BLOCK MICRONUCLEUS CYTOME ASSAY (CBMN) 16

2.4.1 Mikrokerne im Zusammenhang mit dem Krebsrisiko 18

2.4.2 DMT2 und das Auftreten von MNi 20

2.5 ERNÄHRUNG UND KREBSENTSTEHUNG 20

2.5.1 Ernährung und oxidativer Stress im Zusammenhang mit Krebs DNA-Oxidation, DNA-Reparatur, ROS und Krebsentstehung 22

2.5.2 Mikronährstoffmangel oder Überschuss und Krebsentstehung 22

2.5.3 Studien zu Ernährung und DNA-Schäden bzw. Mikrokernvorkommen 24

2.5.4 Vitamin B12, Folsäure und Hcy 28

2.5.5 Vitamin E 31

3 MATERIAL UND METHODEN 32

3.1 STUDIENDESIGN 32

3.1.1 Rekrutierung der Probanden 33
3.2 DER CBMN-ASSAY 37
3.2.1 Verwendete Materialien 37
3.2.2 Probenaufbereitung 38
3.2.3 Zählkriterien 42
3.3 STATISTISCHE AUSWERTUNG 43
4 ERGEBNISSE 44
4.1 DESKRIPTIVE STATISTIK DER PROBANDEN 44
4.2 GESCHLECHTSSPEZIFISCHE EINFLÜSSE 44
4.3 ALTERSSPEZIFISCHE EINFLÜSSE 45
4.3.1 Altersspezifische Einflüsse auf die MN-Häufigkeit 45
4.3.2 Altersspezifische Einflüsse auf die NPB-Häufigkeit 46
4.3.3 Altersspezifische Einflüsse auf die NBUD-Häufigkeit 47
4.3.4 Altersspezifische Einflüsse auf die Apoptosen-Häufigkeit 48
4.3.5 Altersspezifische Einflüsse auf die Nekrosen-Häufigkeit 48
4.4 ERGEBNISSE MNi 49
4.5 ERGEBNISSE NPBs 51
4.6 ERGEBNISSE NBUDs 53
4.7 ERGEBNISSE APOPTOSEN 55
4.8 ERGEBNISSE NEKROSEN 56
4.9 EINFLUSS DER DIABETESTHERAPIE 58
4.9.1 Deskriptive Statistik der Untersuchungsgruppen 58
4.9.2 Zusammenhang zwischen Nekrosen und Diabetes-Therapie 59
4.9.3 Zusammenhang zwischen NBZ und Diabetes-Therapie 60
4.9.4 Zusammenhang zwischen HbA1c und Diabetes-Therapie 61
4.9.5 Zusammenhang zwischen BM-Index (BMI) und Diabetes-Therapie 61
5 DISKUSSION 63
5.1 ALTERS- UND GESCHLECHTSSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE 63
5.2 ERGEBNISSE MNi 65
5.3 ERGEBNISSE NPBs, NBUDs, APOPTOSEN UND NEKROSEN 67

5.4 EINFLUSS DER DIABETESTHERAPIE 67

6 SCHLUSSBETRACHTUNG 70

7 ZUSAMMENFASSUNG 71

8 SUMMARY 72

9 LITERATURVERZEICHNIS 73

10 ABBILDUNGSVERZEICHNIS 80

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADA	American Diabetes Association
AMPK	Adenosinmonophosphat Kinase
BMI	Body Mass Index
BNCs	Binucleated Cells
CBMN	Cytokinesis-block micronucleus cytome assay
DCCT	Diabetes Control and Complications Trail
DM	Diabetes Mellitus
DMT1	Diabetes Mellitus Typ 1
DMT2	Diabetes Mellitus Typ 2
dTMP	Deoxythymidinmonophosphat
dUMP	Deoxyuridinmonophosphat
Hcy	Homocystein
HDL	High density Lipoproteins
IDDM	Insulin-dependent Diabetes Mellitus
IDDM-T1	Insulin-dependent Diabetes Mellitus Typ 1
IDDM-T2	Insulin-dependent Diabetes Mellitus Typ 2
IDF	International Diabetes Federation
IFG	Impaired fasting Glucose
IGT	Impaired Glucose tolerance
ILGF1R	Insulin-like-growth Faktor 1
IR	Insulin Rezeptor
LDL	Low density Lipoproteins
LKB1	Serin/Threonin-Kinase
MN	Micronucleus
MNi	Micronuclei

NBUDs	Nuclear Buds
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program
NIDDM	Non-insulin-dependent Diabetes Mellitus
NPBs	Nucleoplasic Bridges
ÖDV	Österreichischen Diabetikervereinigung
OGTT	Orale Glukosetoleranztest
PBL	Periphere Blutlymphozyten
PPARy	Peroxisom-Proliferator-aktivierer Rezptor
RDAs	Recommended dietary allowances
ROS	Reactive Oxygen Spezies, reaktive Sauerstoffradikale
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleic acid
HDL	High Density Lipoprotein
LDL	Low Density Lipoprotein
TZDs	Thiazolidindione
WGKK	Wiener Gebietskrankenkasse
WHO	World Health Organisation

1 EINLEITUNG

Diabetes Mellitus Typ 2 (DMT2) ist eine der häufigsten Stoffwechselkrankheit in unserer Generation. Schätzungen deuten auf einen enormen Anstieg der Diabetesrate hin und gehen davon aus, dass 2030 weltweit rund 430 Millionen Personen an DMT2 erkrankt sein werden. Allein die Spätfolgen dieser Erkrankung verursachen hohe Ausgaben im Gesundheitssystem.

Die Ergebnisse mehrere Studien führen zu der Annahme, dass Diabetes im Zusammenhang mit einem erhöhten Krebsrisiko steht. Einerseits werden direkte Risikofaktoren wie Hyperinsulinämie, Hyperklykämie, Insulinresistenz und erhöhter oxidativer Stress dafür verantwortlich gemacht. Andererseits könnte der Grund dafür auch bei indirekten Faktoren wie Adipositas, Alter und ungesunden Lebensgewohnheiten, die im engen Zusammenhang mit Diabetes stehen, liegen. Bei einigen Antidiabetikern wird ebenso über krebspräventive wie auch krebsfördernde Eigenschaften diskutiert.

Ziel dieser Arbeit ist, anhand des Cytokinesis-Block Mikronuleus Assays (CBMN) Unterschiede im Auftreten von DNA-Schäden zwischen DMT2-Patienten und gesunden Probanden zu vergleichen und mögliche Einflüsse der Diabetestherapie auf die Chromosomen-Schäden zu untersuchen.

Diese Arbeit entstand im Zuge der DIAPLANT-Studie am Department für Ernährungswissenschaften in Wien und wurde in intensiver Zusammenarbeit mit Marie-Theresia Bulla und Roswitha Stieglmayr verfasst. Die Literaturübersicht wurde gemeinsam erarbeitet sowie Teile des Kapitels über Material und Methoden. Gleiche bzw. ähnliche Inhalte können somit in zwei weiteren Arbeiten wiedergefunden werden.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 DIABETES MELLITUS (DM)

2.1.1 Pathologie

DM zeichnet sich durch eine Gruppe heterogener klinischer Symptome aus. Die Krankheit resultiert in einer Störung des Glukosestoffwechsels, betrifft aber auch andere Stoffwechselvorgänge. Die Auslöser sind eine verminderte oder fehlende Insulinproduktion durch Schädigung der β-Zellen, die Synthese eines strukturell veränderten Insulins oder die Unwirksamkeit des synthetisierten und sezernierten Insulins am Zielorgan [KASPER H, 2004].

DM ist eine der häufigsten Krankheiten und geht mit Begleiterkrankungen wie Adipositas, Hypertonie, Hyperlipidämie und kardiovaskulären Krankheiten einher, die zusammengefasst als metabolisches Syndrom bezeichnet werden [WALY et al., 2010].

2.1.2 Klassifikation

DM wird von der American Diabetes Association (ADA) in folgende Kategorien unterteilt:

Diabetes mellitus Typ 1 (DMT1), wurde früher als „insulin dependent diabetes mellitus“ (IDDM) bezeichnet. Diese Form der Erkrankung betrifft 5-10% der diagnostizierten Diabetiker. Auslöser ist die Zerstörung der β-Zellen durch eine Autoimmunerkrankung, die zu einem Insulinmangel führt. Hierbei liegt eine genetische Prädisposition vor, jedoch wird vermutet, dass auch Umweltfaktoren eine Rolle spielen könnten. Die genaue Wirkungsweise dieser exogenen Faktoren ist bisher noch wenig bekannt [ADA, 2010].

Dem **Diabetes mellitus Typ 2 (DMT2),** welcher früher auch als „non-insulin dependent“ (NIDDM) oder Altersdiabetes bezeichnet wurde, werden ca. 90-95% der Diabetes mellitus Erkrankten zugeordnet [ADA, 2010]. Diese Form der Diabetes zeichnet sich durch eine chronische Hyperglykämie aus. Grund für den erhöhten Blutzuckerspiegel ist ein multikausaler Insulinmangel und eine Abnahme der Insulinwirkung im Gewebe vor allem der Muskulatur, Leber und Fettgewebe [LÖFFLER, 2008].

Krankheitsursachen des DMT2 sind individuell verschieden und bis heute noch nicht völlig erforscht. Fakt ist, dass bei dieser Form von Diabetes mellitus die genetische Prädisposition ebenso eine sehr entscheidende Rolle spielt, jedoch aufgrund der genetischen Komplexität noch nicht gänzlich geklärt ist. Das Risiko an dieser Form von Diabetes zu erkranken steigt mit zunehmendem Alter, Adipositas, Hypertonie, Hyperlipidämie, fettreicher und ballaststoffarmer Ernährung und mangelnder sportlicher Bewegung [ADA, 2010].

Ein Großteil der DMT2-Patienten hat Übergewicht und dadurch eine erhöhte Insulinresistenz. DMT2-Patienten mit Normalgewicht zeigen vermehrt einen erhöhten Körperfettanteil im Abdominalbereich [ADA, 2010].

Weitere Formen des DM: zu dieser Kategorie werden genetische Defekte gezählt, die Hyperglykämie auslösen wie z.B. Defekte der ß-Zellen und der Insulinwirksamkeit, sowie das Down-Syndrom, Klinefelter Syndrom und Turner-Syndrom. Endokrine Defekte, Medikamente, Chemikalien und Infektionen sind ebenso als Initiatoren für Diabetes mellitus bekannt, sowie Autoimmunerkrankungen [ADA, 2010].

Gestationsdiabetes: Diese Form des DM tritt während der Schwangerschaft auf. Nach der Geburt des Kindes kann sich die Krankheit manifestieren, wenn sie vor der Schwangerschaft nicht erkannt wurde. Normalerweise verschwindet der Gestationsdiabetes nach der Geburt. Ungefähr 7% der schwangeren Frauen weisen diese Form auf.

Für Personen, die einen erhöhten Glukosespiegel (Impaired fasting Glucose, IFG) bzw. erhöhte Glukosetoleranz (impaired Glucose tolerance, IGT) aufweisen, besteht ein größeres Risiko an DM zu erkranken. IFG und IGT werden auch als Pre-diabetes bezeichnet. Ein weiterer Parameter für eine mögliche Manifestation dieser Stoffwechselstörung bei Risikopatienten ist der HbA1c-Wert [ADA, 2010].

2.1.3 Diagnostik

Die ADA schlägt folgende Diagnosekriterien vor:

- HbA1C ≥ 6,5%
- Nüchternblut-Glukosekonzentration ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/l), (8 h-Nahrungskarenz)
- Blutglukosekonzentration ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l) nach oralen Glukosetoleranztest (OGTT) mit 75 g Glukose in Wasser aufgelöst
- Klassische Symptome wie Polyurie, Polydipsie, Gewichtsverlust, manchmal Polyphagie und Sehstörungen, sowie eine Plasmaglukosekonzentration von ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l) gemessen zu einem willkürlichen Zeitpunkt [ADA, 2010].

Grenzwerte:	
IFG	100-125 mg Glukose/dl
IGT	140-199 mg Glukose/dl
HbA1c	5,7-6,4 %

Abb. 1: Grenzwerte für IFG, IGT und HbA1c im Blut [ADA, 2010]

2.1.4 Epidemologie

Laut World Health Organisation (WHO) leiden mehr als 220 Millionen Menschen weltweit an der Stoffwechselkrankheit DM. 2004 starben geschätzte 3,4 Millionen Menschen durch die Spätschäden von Hyperglykämie. Mehr als 80% der Todesfälle durch die Spätfolgen von DM sind in Ländern mit niedrigen und mittleren Einkommen zu finden. Es wird vermutet, dass sich die Anzahl der Diabetiker zwischen 2005 und

2030 verdoppelt haben wird. Die Empfehlungen der WHO lauten ausgewogene Ernährung, regelmäßige Bewegung, normales Körpergewicht und nicht zu Rauchen [WHO, 2011].

Schätzungen von 2010 deuten auf einen 20 prozentigen Anstieg der Diabetesrate in Industrieländern bis 2030 (**Abb. 2**).

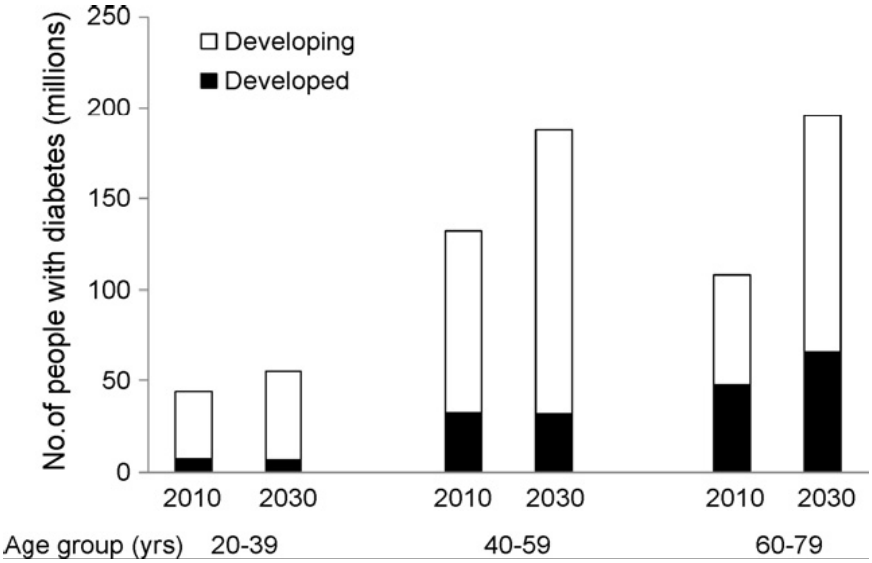

Abb. 2: Anstieg der DM-Rate in Industrieländern bis 2030 [Shaw et al., 2010]

Andere Schätzungen gehen davon aus, dass 2010 weltweit 285 Millionen Menschen (6,4% der Erwachsenen) an DM leiden. Es wird angenommen, dass die Anzahl der erkrankten Personen bis 2030 auf 430 Millionen (7,7%) der Erwachsenen ansteigt. Die größte Zahl an Neuerkrankungen wird in Nordamerika vermutet, gefolgt vom Mittleren Osten und Südasien [SHAW et al., 2010].

In Österreich sind laut Schätzungen 600.000 Personen an DM erkrankt. Hiervon sind lediglich nur 420.000 Personen sind diagnostiziert und befinden sich in ärztlicher Behandlung. 180.000 Personen, das entspricht 30%, sind sich ihrer Erkrankung nicht bewusst [ÖGD, 2011].

Die International Diabetes Federation (IDF) gibt an, dass 11,2% der österreichischen Bevölkerung zwischen 20 und 79 Jahren an DM erkrankt ist, dies betrifft 708.400 Menschen [IDF, 2009].

Im Jahr 2002 sind in Österreich 2.038 Personen gestorben, die laut ICD-10 Kriterien (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems) als Diabetiker eingestuft wurden. Das sind 2,7% von 76.131 Gesamttodesfällen [RIEDER et al., 2004].

2.1.5 Spätschäden und Komplikationen

Spätschäden von DM sind Retinopathie und ein möglicherweise daraus resultierender Verlust des Sehvermögens, Nephropathie und Nierenversagen, Neuropathie und das daraus folgenden Diabetische Fußsyndrom, Charcot-Fuß, gastrointestinale Beschwerden, Erkrankungen der Harn- und Geschlechtsorgane, sexuelle Dysfunktion und Herzkreislaufkrankheiten. An Diabetes erkrankte Menschen haben ein höheres Risiko an Atheriosklerose zu erkranken. Eine weitere Spätfolge ist die Beeinträchtigung des Lipoprotein-Stoffwechsels [ADA, 2010].

Spätkomplikation	Manifestation	Ursache(n)
MAKROANGIOPATHIE	Koronare Herzerkrankung Schlaganfall Periphere Durchblutungsstörungen Gefäßverschluss der unteren Extremitäten	Atherosklerose
MIKROANGIOPATHIEN		
Retinopathie und Makulopathie	Diffuse Augenverdickungen an Auge und Augenhintergrund, reduziertes Sehvermögen bis zur Erblindung	advanced glycosylation (end)products (z.B.) Hba1c → Schädigung extrazellulärer Proteine des Bindegewebes sowie intrazelluläre Strukturproteine (HbA1c hat größere Affinität zu 02 als normales Hb → reduzierte Sauerstoffabgabe ins Gewebe → Retinopathie) in Nierenglomeruli, Retina, Augenlinse und Nerven reagiert Glukose zu Sorbitol das zu Fruktose weiterreagiert → Fruktoseakkumulation führt zu osmotischen Stress → Gewebeschädigung oxidativer Stress → Aktivierung der Proteinkinase C → Gefäßanomalien an Retina, Nieren, Herz
Nepropathie (Glomerulosklerose)	Erhöhung des intraglomerulären Filtrationsdrucks, Verdickung der Basalmembran, Mikroalbuminurie, Nephropathie mit Proteinurie, Hypertonie, Niereninsuffizienz	
NEUROPATHIE		
Sensomotorische Neuropathie	Symmetrische Missempfindungen, Taubheitsgefühle und Schmerzen in den unteren Extremitäten	
Diffuse motorische Polyneuropathie	Generalisierte Muskelatrophie und –schwäche, meist ohne Schmerzen und Sensibilitätsstörungen	
Autonome Neuropathie	Störungen der Organe, die vom autonomen Nervensystem innerviert werden: Herz, Gastrointestinaltrakt, Harnblase, männliche Geschlechtsorgane	
DIABETISCHES FUSSSYNDROM	Läsionen, Ulkusbildung, mangelndes Abheilen	Neuropathie und/oder periphere Durchblutungsstörungen

Abb. 3: Spätschäden und Komplikationen von DM [RIEDER et al., 2004]

Die Akutkomplikationen, die am häufigsten vorkommen, sind das Coma diabeticum, Hypoglycämie und der hypoglykämische Schock [RIEDER et al., 2004].

2.1.6 Kosten

Die CODE-2 Studie versuchte die Kosten zu eruieren, die in Europa (8 ausgewählte Staaten) durch Diabetes mellitus anfallen. Die Kosten werden insgesamt auf 29 Milliarden Euro geschätzt, umgelegt auf einen einzelnen Patienten ergibt sich ein jährlicher Betrag von 2.834 Euro. Die stationäre Behandlung der Patienten ist mit 55% der größte Anteil. 27% der Kosten betreffen die Medikamente während 18% die Kosten für die ambulante Behandlung verwendet werden. Erwähnenswert ist, dass für Diabetesmedikamente wie Insulin oder orale Antidiabetika nur ein Bruchteil der Kosten, nämlich 7%, ausgegeben wird. Hauptsächlich sind kardiovaskuläre und lipidsenkende Arzneimittel für den hohen Anteil an Gesundheitskosten verantwortlich [RIEDER et al., 2004].

Im Jahr 2010 gaben die Institutionen der Gesundheitsvorsorge weltweit 11,6% ihres Budgets für die Behandlung von Diabetes mellitus aus. Die Aufwendungen der einzelnen Länder bewegen sich zwischen 5% und 13%. Nordamerika und die karibischen Staaten wenden 198 Milliarden US-Dollar, 52,7% der globalen Ausgaben, für die Behandlung von DM auf, im Gegensatz dazu geben die afrikanischen Staaten insgesamt 1,4 Milliarden US-Dollar, 0,4% der weltweiten Kosten, aus. 3/4 der geschätzten Ausgaben sind für Patienten im Alter von 50 bis 80 Jahren. Für Frauen wird in der Diabetesvorsorge mehr Geld ausgeben als für Männer (53% vs. 47%). Es sterben mehr Frauen als Männer durch Begleiterkrankungen von DM und durch DM selbst. Die Ursache ist das höhere Mortalitätsrisiko bei Frauen mit DM [ROGLIC und UNWIN, 2010].

2.2 THERAPIE VON DMT2

2.2.1 Orale anti-diabetische Medikamente

Die drei größten Gruppen oraler Antidiabetika sind Biguanide (Derivate), Thiazolidindione (TZDs) und Sulfonylharnstoffe [VIGNERI et al., 2009]. Diese werden entweder einzeln, in Kombination oder zusammen mit Insulin eingenommen [LUDVIK et al., 2007].

Pharmakologische Klasse	Pharmakologische Komponenten	Wirkungsweise
Biguanide	Metformin	Insulin-Sensitizer (reduzieren Insulinresistenz)
Thiazolidindione	Rosiglitazone Pioglitazone	Insulin-Sensitizer (reduzieren Insulinresistenz)
Sulfonylharnstoffe	Glipizide Gliclazide Glyburide Gliquidone Glycolypyramide Glimepiride	Sekretagoga (stimulieren Insulinsekretion)

Abb. 4: Meist verwendeten oralen Antidiueretika bei DMT2 [VIGNERI et al., 2009]

Metformin wird schon sehr lange in der Therapie gegen DMT2 eingesetzt und gilt als das meist verwendete Antidiabetikum bei DMT2 [GIOVANNUCCI et al., 2010; GODSLAND et al., 2010]. Die Eigenschaften des Medikaments liegen darin, den zirkulierenden Glukose- und Insulinspiegel bei Patienten mit Insulinresistenz und Hyperinsulinämie zu senken. Dies wird einerseits durch die verstärkte Aktivierung des Enzyms AMP- aktivierende Kinase (AMPK) initiiert, welches die Glukoseaufnahme in den Muskelzellen fördert, andererseits durch die Unterdrückung der hepatischen Glukoseproduktion und ebenso durch die Steigerung der peripheren Insulinsensitivität, erreicht [ATTIA et al., 2009; BAUR et al., 2010; VIGNERI et al., 2009].

Thiazolidindione gelten ebenfalls als Insulin-Sensitizer und verringern die Insulinresistenz. Durch das Eingreifen dieser Stoffe in den Fettstoffwechsel, wird die Insulinempfindlichkeit in den Fett- und Muskelzellen gefördert. Häufig werden sie in Kombination mit Sulfonylharnstoffen und Metformin verabreicht [Ludvik et al., 2007]

Sulfonylharnstoffe zählen zu den Insulin Sekretagoga. Diese binden an spezifische Zellrezeptoren und stimulieren die Insulinsekretion der ß-Zellen des Pankreas. Sie sind für ihre starke Reduktion des HbA1c bekannt und stehen im Zusammenhang mit Gewichtszunahme und Hypoglykämie [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Gliptine (DDP-4-Hemmer) stellen eine der neuesten Therapieformen dar. Sie sind in der Lage, die Konzentration von Inkretinen (Hormonen) zu erhöhen und deren Abbau zu verlangsamen. Inkretine sind dafür bekannt, nur dann die Ausschüttung von Insulin aus dem Pankreas zu fördern und die Glukoseabgabe aus der Leber zu reduzieren, wenn die Blutglukosewerte erhöht sind [LUDVIK et al., 2007].

2.2.2 Insulin oder Insulinanaloga

Insulin wird von jenen IDDM-T2 Diabetikern benötigt deren ß-Zellen-Funktion durch jahrelange Überproduktion von Insulin, in Folge von Insulinresistenz, nachlässt [GIOVANNUCCI et al., 2010]. Der Rückgang der ß-Zellen-Funktion kann jahrelang dauern und steht in Abhängigkeit von Gewichtsreduktion, Alter und Blutzuckerwerten.

Unterschieden werden kurzwirksames Insulin oder Insulinanalogon, langwirksames Insulin oder Mischinsuline aus kurz- und langwirksamen Insulinen oder Insulinanaloga. Insulin oder humanes Insulin ist nach dem menschlichen Insulin biotechnologisch exakt gleich hergestellt, wobei die Insulinanaloga Strukturveränderungen aufweisen und somit den Vorteil von gezielteren Wirkungsweisen mit sich bringen [LUDVIK et al., 2007].

2.3 DMT2 IM ZUSAMMENHANG MIT DEM KREBSRISIKO

Es gibt zahlreiche Studien, die sich in den letzten Jahren intensiv mit der Assoziation von DMT2 und Krebsrisiko beschäftigten. Die Mehrheit der Ergebnisse lässt auf einen Zusammenhang schließen, jedoch muss beachtet werden, dass DMT2 und Krebs zwei sehr komplexe Krankheiten sind, die beide in enger Beziehung mit Lebensalter, Übergewicht und Adipositas [BAUR et al., 2010], genetischer Prädisposition, aber auch Lebensstil- und Umweltfaktoren stehen [VIGNERI et al., 2009].

Die Ergebnisse mehrere Studien und Metaanalysen zeigen eine starke Prävalenz von Leber-, Pankreas- und Gebärmutterkrebs sowie erhöhte Risiken von Dickdarm-, Harnblasen- und Brustkrebs bei DMT2 [BAUR et al., 2010; VIGNERI et al., 2009; GIOVANNUCCI et al., 2010].

Der enge Zusammenhang zwischen Leberkarzinomen und DMT2 wird einerseits durch die hohe Konzentration an endogenem Insulin, dem die Leberzellen ausgesetzt sind und andererseits durch diabetes-spezifische Leberkrankheiten, die als Risikofaktoren für hepatozelluläre Karzinome bekannt sind, vermutet [VIGNERI et al., 2009].

Hyperinsulinämie als Auslöser von Pankreaskrebs bei DMT2 zu bestimmen, müsse kritisch betrachtet werden, da diese Hypothese nicht das gehäufte Auftreten bei IDDM-T1 Patienten, deren Pankreaszellen keiner erhöhten Konzentration von Insulin ausgesetzt sind, berücksichtigt [VIGNERI et al., 2009].

Langsamere Transitzeit des Darmes sowie die vermehrte Produktion von Insulin und Gallensäuren [COUGHLIN et al., 2004] sowie erhöhter oxidativer Stress bei DMT2 wird mit dem gesteigerten Auftreten von Kolonkarzinomen assoziiert [KEJARIWAL et al., 2008].

Nur bei Prostatakrebs wird DM mit einem geringeren Risiko in Verbindung gebracht [CURRIE et al., 2009; VIGNERI et al., 2009]. Als mögliche Gründe werden hier die niedrigeren Testosteronwerte, veränderte Insulin- und Leptinkonzentrationen, antidiabetische Therapie, sowie der Lebensstil angesprochen [VIGNERI et al., 2009].

2.3.1 Mögliche Krebsrisikofaktoren bei DMT2

Direkte Risikofaktoren	Indirekte Risikofaktoren
Hyperinsulinämie	Adipositas
Hyperglykämie	Alter
Insulinresistenz	Geschlecht
↑ Oxidativer Stress	Ernährungsweise
↑ Chronische Entzündungen	Bewegungsmangel
↑ Fettsäuresynthease Expression	Rauchen
Antidiabetika	Alkohol

Abb. 5: Mögliche direkte oder indirekte Krebsrisikofaktoren bei DMT2 [VIGNERI et al., 2009]

Bis jetzt ist noch völlig ungewiss, ob Diabetiker über direkte oder eher über indirekt veränderbare und nicht veränderbare Risikofaktoren, die gemeinsam mit Krebs und DM auftreten, ein erhöhtes Krebsrisiko aufweisen [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Hyperinsulinämie tritt im Zusammenhang mit Insulinresistenz bei DMT2 auf und spielt möglicherweise bei der Krebsentstehung eine bedeutende Rolle [BAUR et al., 2010; GODSLAND, 2010; VIGNERI et al., 2009;]. Grund dafür könnte der mitogene Effekt von Insulin sein. Steigt die Insulinkonzentration an, ist Insulin imstande, an den Insulin-like-growth Faktor 1 Rezeptor (IGF1R) zu binden, welcher dem Insulin Rezeptor (IR) zu 80% homolog ist und kann diesen somit aktivieren. Im Vergleich zum IR weist der IGF1R einen erhöhten mitogenen Effekt sowie eine erhöhte Transformationsaktivität auf und verursacht über mehrere Phosphorylierungskaskaden die Aktivierung oder Inhibition verschiedener Proteine und beeinflussen dadurch die Zellteilung, das Zellwachstum, das Zellüberleben und den Lipid- und Kohlenhydratmetabolismus [GODSLAND, 2010].

Weiters wird vermutet, dass Insulin die Konzentration von IGF 1- bindenen Proteinen senkt, welche anti-tumorgenetische und möglicherweise auch apoptotische Eigenschaften besitzen [GODSLAND, 2010; VIGNERI et al., 2009].

Häufig tritt Hyperinsulinämie im Zusammenhang mit **Hyperglykämie** auf. Es ist jedoch schwierig zu erkennen, von welcher der beiden Ursachen ein höheres Krebsrisiko ausgeht. Bisher ist bekannt, dass erhöhte Blutzuckerwerte und eine gestörte IFG stark mit dem Krebsrisiko assoziiert sind. In einem Artikel von Vigneri et al. werden die Beeinträchtigung der Ascorbinsäure und die Reduktion der Effektivität des Immunsystems im Zusammenhang mit erhöhten Glukosewerten als mögliche Auslöser für das erhöhte Krebsrisiko genannt [VIGNERI et al., 2009].

Übergewicht steht ebenso im engen Zusammenhang mit einem erhöhten Krebsrisiko. Es wird vermutet, dass die Ursachen wie Hyperinsulinämie bei abdominaler Fettverteilung, hohe Kalorienaufnahme und hormonelle Veränderungen für die Förderung des Krebsrisikos verantwortlich sind [GODSLAND, 2010; VIGNERI et al., 2009]. Die Tatsache, dass über 80% der DMT2 übergewichtig sind, erschwert die Unterscheidung, ob das Krebsrisiko bei Typ 2 Diabetikern durch die Folgen des Diabetes oder durch Adipositas erhöht ist.

Vermehrt auftretende **chronische Entzündungen und oxidativer Stress**, die hauptsächlich bei schlechter metabolischer Kontrolle auftreten, reduzieren die intrazelluläre antioxidative Kapazität und führen zu einem Anstieg der reaktiven Sauerstoffradikalen (ROS), die die DNA schädigen und/oder mit der DNA-Reparatur interferieren [VIGNERI et al., 2009].

Die erhöhte **Fettsäure-Synthease-Expression** und **Fettsäure Produktion** bei DMT2 stehen ebenfalls unter Verdacht, die Tumorentstehung zu fördern. [VIGNERI et al., 2009]

Krebs und DMT2 sind beides Krankheiten, die mit zunehmendem **Lebensalter** steigen und somit auch hier die Ursachenerkennung der Karzinogenese bei Diabetikern erschweren [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Daten über die Krebsmortalität sind bis jetzt noch sehr widersprüchlich. Vereinzelte Studien zeigten eine mögliche erhöhte Krebssterblichkeitsrate durch Leber-, Pankreas- [COUGHLIN et al., 2004], Kolon- und Brustkrebs bei DM im Vergleich zu Krebspatienten, die nicht zusätzlich mit DM belastet waren. Als wahrscheinlicher Grund werden Hyperinsulinämie, der schlechtere Gesundheitszustand oder beide Faktoren in Betracht gezogen [VIGNERI et al., 2009].

2.3.2 Möglicher Einfluss von Diabetes-Therapien auf das Krebsrisiko

Der Zusammenhang zwischen therapeutischen Medikamenten für DMT2 und dem Krebsrisiko ist bis heute noch relativ ungeklärt. Die Interpretationen werden zusätzlich durch die unterschiedlichen Medikamente und Dosierungsformen im Laufe der Erkrankung erschwert [VIGNERI et al., 2009].

Einige Studien belegen, dass DMT2-Patienten, die mit **Metformin** behandelt werden, im Vergleich zu Diabetikern, die unter einer anderen anti-diabetischen Behandlungsmethode stehen, ein geringeres Krebsrisiko und eine niedrigere Krebsmortalität aufweisen. Es wird angenommen, dass möglicherweise die insulinsenkenden Eigenschaften, die Inhibition der Zellproliferation und der Glukose- und Lipidsynthese, die Förderung des Serin/Threonin-Kinase (LKB1) Regulators, ein tumorsupressor Protein, sowie die Reduktion von freien Radikalen hierfür verantwortlich sind [CURRIE et al., 2009; GODSLAND, 2010; LANDMAN, et al., 2010; VIGNERI et al., 2009; GIOVANNUCCI et al., 2010].

Die Auswirkungen von **Thiazolidindionen** auf das Krebsrisiko sind noch relativ widersprüchlich. In vitro Studien sagen dem Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor (PPARγ) Agonisten auf Grund von Inhibition des Zellwachstums und Initiierung von Apoptose und Zell-Differenzierung anti-krebs fördernde Eigenschaften

nach. Forschungen an Nagetieren wiederum gehen von einer tumorfördernden Wirkung von PPARγ Agonisten aus. Epidemiologischen Studien und Metaanalysen über ein erhöhtes Krebsrisiko sind aufgrund der kurzen Behandlungszeiten kritisch zu betrachten. Laut einem Artikel von Giovannucci et al. konnten auch wenige Studien keine krebsfördernde Wirkung von Thiazolidindione feststellen [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Orale **Sulfonylharnstoffe** stimulieren die endogene Insulinsekretion und könnten durch die gesteigerte Hyperinsulinämie das Krebsrisiko steigern. Die Daten von wenigen Studien, die eine erhöhte Krebsrate im Vergleich zu Patienten mit Metformin Behandlung aufzeigten, sind ebenfalls sehr widersprüchlich. Grund dafür sind die fehlenden Informationen von Dauer und Dosis der Sulfonylharnstoff Aufnahme [GIOVANNUCCI et al., 2010; VIGNERI et al., 2009].

Bei präklinischen Tierversuchen mit **Gliptine (DDP-4-Hemmer)** konnte man zwar eine leichte Steigerung des Krebsrisikos beobachten, jedoch konnte diese Annahme anhand von Humanstudien nicht bestätigt werden. Die Aussagekraft der Ergebnisse ist schwierig zu interpretieren, da diese Substanzen noch nicht lange in der Diabetes-Therapie eingesetzt und von zu wenigen Patienten eingenommen werden [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Insulin und Insulinanaloga werden in vielen epidemiologischen Studien mit einem erhöhten Krebsrisiko assoziiert. Wie bereits oben erwähnt, wird die Hyperinsulinämie als ein möglicher Riskikofaktor angenommen. Im Vergleich zur endogenen Insulinsekretion zirkulieren bei IDDM signifikant höhere Konzentrationen von Insulin im Körper. Diese Ergebnisse werden jedoch heftig diskutiert, da mögliche Confounder wie BMI, Insulinmenge, glykämische Kontrolle oder die Dauer der Krankheit zum Teil nicht berücksichtigt wurden. Bis heute ist nicht geklärt, ob Insulin oder Insulinanaloga über mögliche direkte oder indirekte Mechanismen die Krebsentstehung beeinflussen können [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Eine weltweite Querschnittsstudie mit über 7.000 Probanden zeigte, dass IDDM-T2 die gleiche Prävalenz von bösartigen Tumoren, aber eine erhöhte Krebsmortalität im

Vergleich zu Nicht-Diabetikern aufwiesen. Dies führt zu der Annahme, dass Hyperinsulinämie nicht das Krebsrisiko erhöht, sondern möglicherweise das Krebswachstum stimuliert und dadurch beschleunigt [BAUR et al., 2010].

2.4 DER CYTOKINESIS-BLOCK MICRONUCLEUS CYTOME ASSAY (CBMN)

Der CBMN wurde von Fenech und Morley entwickelt und bietet eine geeignete Methode um Chromosomen-Schäden, Zytostase und Zytotoxizität zu messen. Durch seine Reliabilität und gute Reproduzierbarkeit wird er erfolgreich für Tests zur Bestimmung von Genotoxizität, sowie der Strahlungsempfindlichkeit von Geweben eingesetzt [FENECH, 2007].

Der CBMN-Assay ist ebenso eine geeignete Methode um DNA-Schäden im Zusammenhang mit dem Mikronährstoffstatus zu messen. Studien, die diese Technik verwendeten, zeigen, dass die Menge der Mikronährstoffaufnahme (Supplementation von Folsäure, Vitamin A, C, E) sowie der Mikronährstoffstatus (Folsäure und Vitamin B12) die Häufigkeit von Mikrokerne (MNi) beeinflussen [LAL und AMES, 2011].

Das Hauptprinzip der CBMN basiert auf den „einmalig geteilten Zellen“, die als Zweikernzellen (BNCs) nach Inhibition der Zytokinese durch Cytochalasin B aufscheinen. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass sie in einem Verfahren Informationen über zytotoxische (Verhältnis von Apoptose und Nekrose), zytostatische (Verhältnis von Einkernzelle, Zweikernzelle, Mehrkernzelle) und genotoxische (Anzahl von MNi, Nuclear Buds (NBUDs), Nucleoplasmic Bridges (NPBs)) Vorkomnisse liefert [FENECH, 2007].

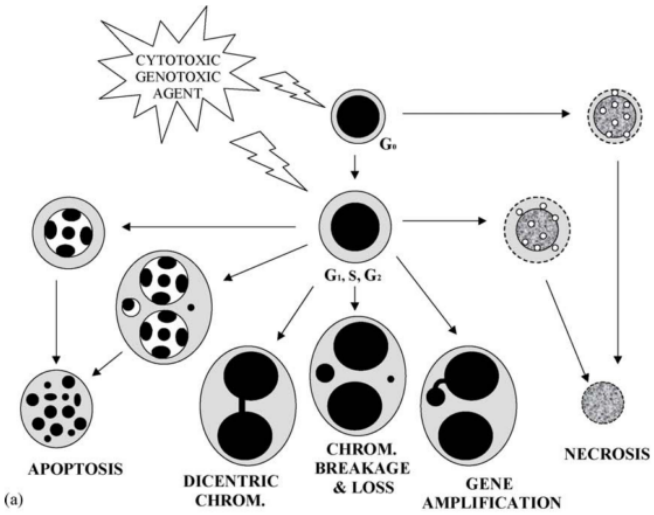

Abb. 6: Entstehung von MNi, NBUDs, NPBs, Apoptosen und Nekrosen [FENECH, 2006]

MNi weisen auf Chromosomenbrüche und/oder ganze Chromosomenverluste hin und dienen somit als günstiger Biomarker für DNA-Schäden. Sie entstehen während der Zellteilung aus azentrischen chromosomalen Fragmenten oder ganzen Chromosomen, die während der Anaphase zurück bleiben. Da MNi in BNCs entstehen können, liefert der CBMN-Assay eine perfekte in vitro Methode, um sie in Lymphozyten von Menschen und Säugetieren nachzuweisen [FENECH, 2007]. Um die verschiedenen Effekte von ungünstigen Zellteilungsabläufen auszuschalten, werden MNi nur in BNCs gemessen [FENECH, 2006].

NBUDs besitzen die gleiche Morphologie wie MNi, jedoch mit dem Unterschied, dass sie mit dem Zellkern über eine Engstelle oder einen „Stiel“ verbunden sind. Sie entstehen durch Genamplifikation und werden als Indikator für den Verlust von amplifizierter DNA und/oder den Verlust von DNA-Reparatur- Mechanismen verwendet [FENECH, 2007].

NPBs werden für die Messung von Chromosomenveränderungen herangezogen. Sie entstehen in der Anaphase, wenn die Zentromere von dizentrischen Chromosomen auf die gegenüberliegenden Spindelpole gezogen werden, wodurch es zu Fusionen von Bruchstücken oder Verkürzungen der Chromosomen kommen kann [FENECH, 2007].

Apoptotische Zellen entstehen durch den programmierten Zelltod. Die Apoptose dient im Körper zur feinen Regulation der Proliferation sowie der gezielten Zerstörung von Zellen. Die Zelle beginnt zu schrumpfen und durch Auflösung der Zellmembran bilden sich apoptotische Vesikel, in denen die DNA als Fragmente vorliegt. Hauptauslöser der mitochondrialen Kaskade durch Cytochrom C sind vor allem DNA-Schäden und zellulärer Stress [Löffler, 2008].

Nekrotische Zellen werden aufgrund externer Einflussfaktoren wie z.B. Virusbefall, Gifte, physikalische Schäden u.a. hervorgerufen und treten im Vergleich zu apoptotischen Zellen im Zusammenhang mit Entzündungen auf [Löffler, 2008].

2.4.1 Mikrokerne im Zusammenhang mit dem Krebsrisiko

Schäden des Genoms sind maßgeblich an der Entstehung von Krankheiten wie Krebs beteiligt [THOMAS et al., 2011]. Im Artikel von Bonassi et al. wird erwähnt, dass einige Publikationen den Zusammenhang von erhöhten DNA-Schäden und genetischer Instabilität mit Krebs bestätigen. Diese Ergebnisse führen zu der verstärkten Annahme, dass chromosomale Schäden eine kausale Rolle bei der Karzinogenese spielen [BONASSI et al., 2011]. Aufgrund der Tatsache, dass MNi in den peripheren Blutlymphozyten (PBL) einen wichtigen Indikator für genetische Instabilität und DNA-Schäden darstellen [CEPPI et al., 2011], wurde in den letzten Jahren vermehrt an ihrer Rolle bei der Krebsentstehung geforscht. Die unten genannten Beobachtungen unterstützen die Annahme einer Assoziation zwischen der Mikrokern (MN)-Anzahl und einem erhöhten Krebsrisiko [BONASSI et al., 2007].

Beobachtungen die auf einen Zusammenhang schließen lassen:

- Signifikante Anstiege von Krebserkrankungen bei Personen mit erhöhter MN-Anzahl in PBL
- Erhöhte MN-Anzahl bei unbehandelten Krebspatienten
- Blutkonzentrationen und/oder Supplementationen von Mikronährstoffen, die mit einem reduzierten Krebsrisiko assoziiert sind, wie z.B. Folsäure, Kalzium, Vitamin E und Nikotinsäure, stehen in Korrelation mit der MN-Häufigkeit
- Zusammenhänge mit chromosomalen Anomalien und MN-Anzahl
- Korrelation von genotoxischen MN-induzierenden Stoffen und Karzinogenese [BONASSI et al., 2007]

Um die MN-Häufigkeit als eindeutigen Biomarker für das Krebsrisiko heran ziehen zu können, müssen noch weitere prospektive Studien durchgeführt werden, die den genauen Mechanismus und die Assoziationsstärke feststellen [BONASSI et al., 2011; FENECH et al., 2011]. MNi stellen aber auch nur einen Teil von chromosomalen Schäden in den Lymphozyten dar und sind deshalb als alleiniger Indikator unzureichend [BONASSI et al., 2007].

Der CBMN-Assay ist in der Lage durch die Messung von NBUDs und NPB zusätzliche Schäden an den Chromosomen zu erkennen, dadurch kann das Krebsrisiko besser eingeschätzt werden. Dieser Zusammenhang wird durch das vermehrte Auftreten von NBUDs und NPB bei Lungenkrebspatienten im Vergleich zu Gesunden verstärkt [BONASSI et al., 2011].

Weitere Studienergebnisse zeigen ebenfalls eine Korrelation zwischen der MN-Häufigkeit und den gewebsspezifischen Krebsentstehungen. Die Studie von Bonassi et al. konnte signifikante Zusammenhänge zwischen MNi und gastrointestinalen und urogenitalen Krebserkrankungen und ebenso ein erhöhtes Erkrankungsrisiko von Magen-, Intestinal- und Brustkrebs beobachten [BONASSI et al., 2007]. Überdies

weisen Krebspatienten mit überdurchschnittlich hohen Chromosomenschäden eine erhöhte Mortalitätsrate auf [EL-ZEIN et al., 2011].

2.4.2 DMT2 und das Auftreten von MNi

Bis heute sind noch wenige Daten über den Zusammenhang von DMT2 mit der MN-Häufigkeit vorhanden. Studien belegten jedoch eine signifikant erhöhte Anzahl von MNi bei DMT2-Patienten im Vergleich zu Gesunden [MARTÍNEZ-PÉREZ et al., 2007; ZÚÑIGA-GONZÁLEZ et al., 2007]. Typ 2 Diabetiker mit geringer glykämischer Kontrolle zeigten ein höheres MN-Vorkommen, wodurch eine positive Korrelation von Serumglukose-Konzentrationen und gehäuften Chromosomen-Schäden festgestellt wurde [MARTÍNEZ-PÉREZ et al., 2007].

Laut dem heutigen Stand der Wissenschaft wird angenommen, dass die höheren chromosomalen Schäden bei DMT2-Patienten durch vermehrten oxidativen Stress, verminderte Glutathion-Synthese oder durch ihre Medikamente, die den Vitamin B12 Gehalt senken und die Homocystein (Hcy) Konzentration erhöhen, entstehen [MARTÍNEZ-PÉREZ et al., 2007].

Bis zu diesem Zeitpunkt liegen noch keine wissenschaftliche Daten vor, die den Einfluss der Therapieformen von DMT2 im Zusammenhang mit den Parametern des CBMN-Assay untersuchten.

2.5 ERNÄHRUNG UND KREBSENTSTEHUNG

Die Verbindung Diät und Krebsinzidenz wird weitestgehend anerkannt. In einigen epidemiologischen Studien wurde bereits die protektiven Effekte einer obst- und gemüsereichen Diät auf einige Krebsarten beschrieben [LOFT et al., 2008].

Der Einfluss der Ernährung auf die Krebsentstehung wurde früher bei ca. 30% aller Krebserkrankungen in westlichen Länder und bei 20% in Entwicklungsländern angesetzt.

In den letzten Jahren fand jedoch ein Wandel statt, in dem der hohe Stellenwert der Ernährung in der Krebsentstehung von multiplen anderen Faktoren verdrängt wurde. 2004 fanden sich nur mehr wenige Daten, die diese Erkenntnisse signifikant unterstützen konnten. Der Aufnahme von Obst und Gemüse werden dennoch protektive Effekte zugesprochen. Zur Krebsprävention wird unter anderem eine Aufnahme von Minimum 400 g Obst und Gemüse pro Tag empfohlen.

Im weitesten Sinne spielen Lebensstilfaktoren wie Ernährung und Bewegung eine wichtige Rolle in der Krebsentstehung, da es überzeugende Ergebnisse gibt, die belegen, dass Übergewicht und Adipositas die Entstehung von Oesophagus-, Kolorektal-, Gebärmutterhals-, Nierenkrebs und Brustkrebs bei postmenopausalen Frauen fördert und dass sportliche Betätigung das Risiko der Entstehung von Kolon- und Brustkrebs vermindern kann [KEY et al., 2004].

Die Wirkmechanismen der Mikronährstoffe sind jedoch komplex und weit davon entfernt, vollständig verstanden zu werden [LOFT et al., 2008].

Die wirkliche Herausforderung liegt darin, die Komponenten der Lebensmittel, die für krebsprotektive Effekte verantwortlich sind, zu identifizieren, ihre Wirkmechanismen zu durchleuchten und die diätetische Menge dieser Wirkstoffe zu ermitteln, die eine optimale Leistung für die Gesundheit erbringen. Der Focus ist auf Verbindungen in Lebensmitteln gerichtet, die über eine antioxidative Kapazität verfügen, da bewiesen ist, dass oxidative Schäden an Zellkomponenten eine zentrale Rolle in vielen degenerativen Prozessen spielen und man davon ausgeht, dass natürliche Antioxidantien dabei helfen, eine Anhäufung solcher Schäden zu begrenzen und dadurch einen bestimmten Grad an Schutz liefern [ASTLEY et al., 2004]. In einem Bericht von Møller et al. wird darauf hingewiesen, dass epidemiologische Studien niedrigere Krebsrisiken bei Menschen mit einer hohen Aufnahme an Obst und Gemüse,

die viele Antioxidantien enthalten, bezeugen. Dies gilt vor allem in den Atemwegen und im oberen Gastrointestinaltrakt [MØLLER et al., 2004].

2.5.1 Ernährung und oxidativer Stress im Zusammenhang mit Krebs DNA-Oxidation, DNA-Reparatur, ROS und Krebsentstehung

Freie Radikale resultieren unter anderem aus normalen metabolischen Prozessen wie z.B. der Zellatmung. Wenn aber der Wert der freien Radikale die normale Ausgleichskapazität der Zelle übersteigt, kommt es zu oxidativem Stress, der zu Zell- und Genomschäden führen kann. Schäden am Genom, einschließlich DNA-Strangbrüche, Änderungen in den Chromosomen, Chromosomenaberration oder Änderungen in Methylierungsprozessen, die anschließend zu einer veränderten Anzahl an Genen und Genexpression führen, wurden als wesentlich für die Entwicklung von Krankheiten wie Krebs identifiziert [THOMAS et al., 2011].

DNA-Reparaturmechanismen sind entscheidend dafür, inwiefern ein durchgehend niedriges Ausmaß an DNA-Schäden beibehalten und dadurch einen Schutz vor Krebs gewährleistet werden kann [COLLINS et al., 2002].

Man kann annehmen, dass Substanzen, die oxidative Schäden der DNA vermindern, auch das Risiko einer Krebsentwicklung herabsetzen sollten [LOFT et al., 2008].

Obwohl nicht direkt durch Kohortenstudien fundiert bewiesen, wird angenommen, dass oxidativer Stress viele Krankheiten wie Krebs, Diabetes und koronare Herzkrankheiten auslösen oder erschweren kann [MØLLER et al., 2006]. Diabetiker, die aufgrund von hohen Glukose- und HbA1C-Konzentrationen unter erhöhtem oxidativen Stress leiden, könnten durch eine Supplementation mit Antioxidantien profitieren [MØLLER et al., 2004].

2.5.2 Mikronährstoffmangel oder Überschuss und Krebsentstehung

Epidemiologische Studien lassen eine starke Assoziation zwischen Mikronährstoffmangel und der Entwicklung von Krebskrankheiten erkennen [LAL et al., 2011]. Zellen sind einer konstanten Oxidation durch metabolische und biochemische

Reaktionen sowie externe Faktoren ausgesetzt, weshalb es nahe liegt, dass DNA-Reparatursysteme und Antioxidantien der Ernährung wichtige Einflussgrößen für niedrige Werte an DNA-Schäden und ein vermindertes Krebsrisiko darstellen [MØLLER et al., 2004].

Der Mikronährstoffstatus spielt eine wichtige Rolle im Schutz gegen Schäden am Genom, indem Cofaktoren bereit gestellt werden, die für die einwandfreie Funktion von Enzymen erforderlich sind, die in die DNA-Reparatur, Entgiftung oder Erhaltung von Methylierungsprozessen des Genoms involviert sind [THOMAS et al., 2011]. Es wurde gezeigt, dass beides, ein Mikronährstoffmangel und/oder ein Überschuss zu Schäden am Genom führen können [THOMAS et al., 2011].
In vivo Studien an Menschen zeigten, dass die MN-Häufigkeit in PBL entweder signifikant mit der Aufnahmehöhe oder der Plasmakonzentration von Folat, Vitamin B12, Riboflavin, Biotin, Pantothenat, beta-Carotin, Vitamin E, Retinol und Calcium assoziiert wird **(Abb. 7)** [FENECH et al., 2011].

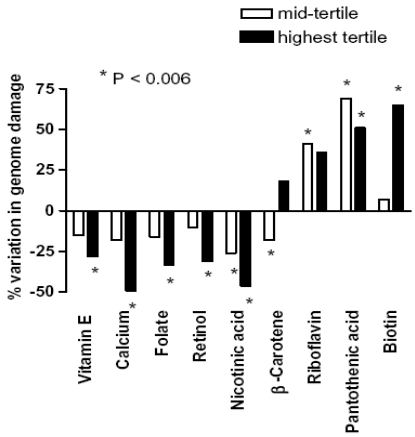

Abb. 7: Prozentuale Variation der Rate des genomischen Schadens nach der Statusbestimmung von Vitamin E, Calcium, Folat, Retinol, Nicotinsäure, Beta-Carotin, Riboflavin, Pantothensäure und Biotin im mittleren und höchsten Tertil im Vergleich zum niedrigsten Tertil. Genomischer Schaden wurde in PBL mit CBMN assay gemessen [FENECH, 2008]

Andere Studien konnten DNA-Schäden in Menschen dokumentieren, die moderat unterversorgt an Eisen, Zink, Folat und B12 oder Cholin waren [LAL et al., 2011].

Ein wichtiger Punkt ist, dass Schäden am Genom, die durch moderaten Mikronährstoffmangel verursacht werden, dem gleichen Ausmaß einer Exposition mit signifikanten Dosen an Genotoxinen aus der Umwelt, wie z.B. chemische Karzinogene, ultraviolette Strahlung und ionisierende Strahlung, entsprechen **(Abb. 8)** [FENECH, 2008].

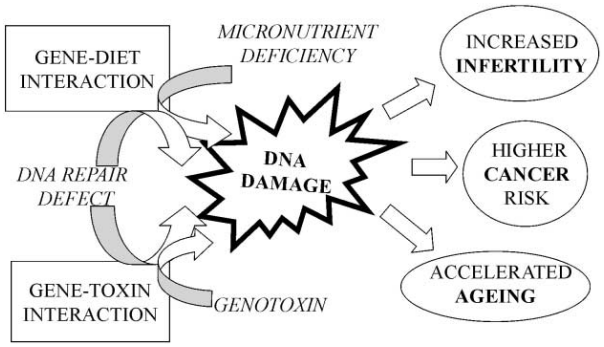

Abb. 8: Das Konzept der Gen-Ernährungs- und Gen-Toxin-Interaktion und deren Einfluss auf unterschiedliche gesundheitliche Schäden [FENECH, 2002]

Es gibt ein starkes internationales Bewusstsein dafür, dass es wichtig ist, die empfohlene Tagesdosis an Mikronährstoffen zur Prävention degenerativer Krankheiten (wie z.B. Krebs, kardiovaskuläre Krankheiten und Alzheimer) neu zu definieren um den Zeitraum der Morbidität im Alter zu verkürzen [FENECH, 2002].
Die optimale Mikronährstoffaufnahme um die Gesundheit langfristig zu erhalten, ist jedoch schwierig zu bestimmen und könnte über den aktuellen Empfehlungen liegen [LAL et al., 2011].

2.5.3 Studien zu Ernährung und DNA-Schäden bzw. Mikrokernvorkommen

Von diätetischen Antioxidantien wird angenommen, dass sie Angriffe von freien Radikalen auf die DNA herabsetzen und folglich vor Krebs verursachenden Mutationen, schützen. Jedoch beruht diese kausale Beziehung beruht vorerst nur auf Vermutungen [ŞARDAŞ et al., 2001].

Einem Artikel von Thomas et al. zufolge, welcher 2011 den Effekt diätetischer Interventionen auf das Auftreten von Mikrokernen in menschlichen Lymphozyten und Wangenschleimhautzellen verglich, wurde gezeigt, dass die Mehrheit der Ergebnisse darauf schließen lassen, dass eine Supplementation mit antioxidativen Vitaminen und bestimmten B-Vitaminen zu einer wesentlichen Reduktion der MN-Häufigkeit führen kann [THOMAS et al., 2011].

Møller et al. geben in einem Review von 2006 an, dass sich in der Literatur sehr viele Interventionsstudien finden lassen, die die Effekte von Antioxidantien auf oxidativ geschädigte DNA in Geweben, weiße Blutkörperchen/Blutzellen oder menschlichem Urin untersuchen [MØLLER et al., 2006].

Trotzdem zeigt eine Metaanalyse und ein Review randomisierter Studien antioxidativer Supplemente zur primären und sekundären Prävention von Bjelakovic et al. 2007, dass eine große Anzahl weit angelegter Interventionsstudien daran gescheitert ist zu beweisen, dass die Aufnahme an antioxidativen Vitaminen das Krebsrisiko vermindere während die Metaanalysen sogar ein erhöhtes Mortalitätsrisiko zeigen [BJELAKOVIC et al., 2007].

Ein Überblick über Interventionsstudien mit Antioxidantien aus Supplementen oder Nahrungsmitteln besagt, dass ungefähr ein Drittel der Studien von einem schützenden Effekt gegen oxidative DNA-Schäden in weißen Blutzellen berichteten [LOFT et al., 2008].

Es wurde ein Rückgang der MN-Häufigkeit bei der Supplementierung von Folsäure und Vitamin B12, Coenzym Q10, Vitamin C, Kombination von Vitamin E, beta-Carotin, Vitamin C, und Selen beobachtet wobei die Reduktion bei Folsäure, Vitamin C, Vitamin E und Selen nicht signifikant war [THOMAS et al, 2011].

Ein Review von Møller et al. 2004 über Interventionen mit Antioxidantien bezüglich oxidativer DNA-Schäden zeigt außerdem, dass einige Studien mit Probanden, die vermutlich erhöhte Werte an oxidativem Stress aufweisen, eher Effekte bezüglich erniedrigter Strangbruchlevel durch Interventionen ergeben. Des weiteren zeigen Ergebnisse mit Diabetikern, dass diejenigen Probanden mit ähnlichen Ausgangswerten

an Strangbrüchen wie die gesunden Probanden, keinen Nutzen an antioxidativen Supplementen zeigten, wobei Diabetiker mit höheren Ausgangswerten an Strangbrüchen verminderte Strangbrüche nach einer Supplementation aufwiesen. Diese Daten über Diabetiker lassen vermuten, dass bereits die Ausgangswerte an oxidativen DNA-Schäden hoch sein müssen um positive Effekte erzielen zu können [MØLLER et al., 2004].

Es ist ferner zu berücksichtigen, dass ein Großteil der Studien gesunde Individuen mit einbezog, wohingegen Antioxidantien eher bei Probanden protektiv wirken könnten, die unter oxidativem Stress leiden. Eine Population oxidativ gestresster Probanden profitiert daher mehr von antioxidativen Supplementen, als eine Population mit geringen oxidativem Stress [LOFT et al., 2008].

In der folgenden Tabelle sind unterschiedliche Studien zur Effektivität verschiedener Supplemente bezüglich DNA-Schäden bzw. MN-Häufigkeit in Lymphozyten zusammengefasst.

Mikronährstoff	**Supplement/ Darreichungsform**	**Effekt auf MN-Häufigkeit**	**Autor, Jahr**
B-Vitamine	Folsäure (0,7 mg/d, 2 Monate; 2,0 mg/d, 2 Monate)	Kein signifikanter Unterschied	Fenech et al., 1997 (A)
	Folsäure und Vitamin B12 (700 µg Folsäure, 7 µg B12/40 g Cerealien (3.5 x RDI), 3 Monate; 2000 µg Folsäure, 20 µg B12 (10 x RDI), 3 Monate)	Signifikante Reduktion (15.3%, P < 0.03 in behandelter Gruppe; 25.4%, P < 0.01 bei Personen in behandelter Gruppe mit Ausgangshäufigkeit MN über Durchschnitt)	Fenech et al., 1998
	Folsäure (15 mg dreimal pro Woche) und Vitamin B12 (1000 µg/Woche)	Signifikante Reduktion (59%, P = 0,001)	Stopper et al., 2008
Einzelne Antioxidantien	Vitamin C (2g Supplement)	Kein signifikanter Effekt	Crott et al., 1999
	Beta-Carotin (30 mg/d), Vitamin C	Signifikant inverse Korrelation mit Plasma-Beta-Carotin (P < 0,001)	Umegaki et al., 1994

	(300 mg/d)	(Effekt an strahlungsinduzierter MN-Häufigkeit)	
	Vitamin E (50 mg, 8 Wochen; 500 IU, 8 Wochen)	Keine signifikante Reduktion	Fenech et al., 1997 (B)
	Selen (75, 150, 225 µg/d, 8 Wochen mit jeder Konzentration)	Keine signifikante Reduktion	Wu et al., 2009
	Coenzym Q10 (100 mg/d)	Signifikante Reduktion (38%, P < 0,05)	Migliore et al., 2004
Duale Antioxidatien	Vitamin C (1000 mg/d, 7 Tage), Vitamin C (1000 mg/d) und Vitamin E (335 mg/d, 7 Tage)	Signifikante Reduktion (49%, P < 0,05)	Schneider et al., 2001
Multiple Antioxidantien	Alpha-Tocopherol (100 mg/d), Beta-Carotin (6 mg/d), Vitamin C (100 mg/d), Selen (50 µg/d)	Signifikante Reduktion (39%, P = 0,015)	Smolkova et al., 2004
	Beta-Carotin (18 mg/d), Ascorbinsäure (900 mg/d), D-Alpha-Tocopherolsuccinat (250 mg/d), Zink (12 mg/d)	Signifikante Reduktion (25%, P < 0,05)	Fenech et al., 2005
	Beta-Carotin (15 mg/d), Rutin (75 mg/d),Retinolacetat (3 mg/d), Alpha-Tocopherol (30 mg/d), Ascorbinsäure (150 mg/d), Folsäure (0.2 mg/d)	Signifikante Reduktion (24,7%, P < 0,05) (Effekt an strahlungsinduzierter MN-Häufigkeit)	Gaziev et al., 1996

Abb. 9: Interventionsstudien, die den Mikronährstoffstatus in Relation zur MN-Häufigkeit in Lymphozyten untersuchen. RDI = „Recommended daily intake“: Folsäure 400 µg, Vitamin B12 6 µg, Vitamin C 75 mg, Vitamin E/Tocopherol 10 mg, Selen 35 µg, Coenzym Q10 30-200 mg, Beta-Carotin 10 mg, Zink 15 mg, Rutin 1000-3000 mg. [THOMAS et al., 2011]. D-A-CH-Referenzwerte der DGE,ÖGE,SGE/SVE: Folsäure 400 µg/d, Vitamin B12 3 µg/d, Vitamin C 100 mg/d, Vitamin E 12-15 mg Tocopheroläquivalent/d, Selen 30-70 µg/d, Beta-Carotin 6 mg/d, Zink 10 mg [D-A-CH, 2008].

2.5.4 Vitamin B12, Folsäure und Hcy

Die Ernährungsfaktoren, welche die MN-Häufigkeit am deutlichsten beeinflussen, sind die Plasmawerte an Vitamin B12 und HCy, sofern kein Folsäuremangel vorliegt. Folat und Vitamin B12 bilden eine wichtige Funktion, indem sie Methylgruppen, die für den DNA-Metabolismus und für die Erhaltung der DNA essentiell sind, zur Verfügung stellen **(Abb. 10)** [THOMAS et al., 2011].

Folatmangel hat einen destabilisierenden Effekt auf das Genom [LAL et al., 2011].
Im Falle eines Folatmangels akkumuliert Deoxyuridinmonophosphat (dUMP), was dazu führt, dass Uracil anstelle von Thymin in die DNA eingebaut wird. Die exzessive Eingliederung von Uracil führt nicht nur zu Punktmutationen sondern auch zu Einzel- und Doppelstrangbrüchen der DNA, Chromosomenbrüchen und zu MN-Bildung. Ähnlich verursacht Vitamin B12-Mangel hohe Uracil-Einlagerungen, indem es die Synthese von 5,10 Methylenterahydrofolat verhindert, das zur dTMP-Synthese (Deoxythymidinmonophosphat) nötig ist, was wiederum zu einer erhöhten Rate an Chromosomenbrüchen führt.
Folat und Vitamin B12 werden zur Synthese von Methionin durch Remethylierung von Homocystein benötigt [THOMAS et al., 2011].
Interventionsstudien mit Folat- und/oder Vitamin B12 Supplementen zeigen, dass die DNA-Hypomethylierung, Chromosomenbrüche, Fehlfunktion bei Einbau von Uracil und die Bildung von Mikrokernen minimiert sind [FENECH, 2002].

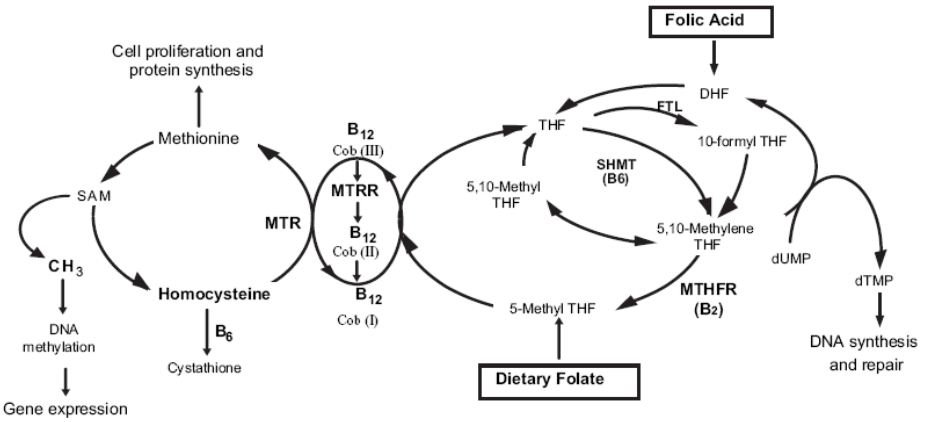

Abb. 10: Folsäuremetabolismus. SAM (S-Adenosylmethionin), MTRR (Methionin Synthase-Reduktase), MTR (Methioninsynthase), SHMT (Serin Hydrohymethyltransferase), THF (Tetrahydrofolat), DHF (Dihydrofolat), FTL (Format-Tetrahydrofolat-Ligase), dUMP (Deoxyuridin Monophosphat), dTMP (Deoxythymidin Monophosphat), Cob(I) (reduzierte Form von Vitamin B12), Cob(III) (oxidierte Form von Vitamin B12) [THOMAS et al., 2011]

Es wurde eine Assoziation zwischen einem Vitamin B12-Mangel bei Männern mit veganer Ernährung und einer erhöhten MN-Häufigkeit festgestellt. Die Assoziation zwischen B12-Mangel und erhöhten MN in PBL wurde auch in anderen Ernährungsinterventionsstudien beobachtet [FENECH et al., 2011].

In einer Placebo-kontrollierten diätetischen Interventionsstudie, wurde anhand einer 3,5fach bzw. 10fach höheren Supplementierung der Tagesempfehlung von Folat bzw. Vitamin B12 festgestellt, dass die MN-Häufigkeit in der behandelten Kohorte signifikant um 15,3 % reduziert wurde und bei den Individuen, deren MN-Häufigkeit zu Beginn der Studie in der oberen 50sten Perzentile lag, um 25%.

Die MN-Häufigkeit korrelierte positiv mit Plasma-Hcy und korrelierte negativ mit dem Serum-B12. Diese Korrelation wird auch durch eine Querschnittsstudie mit jungen Erwachsenen im Alter von 18-32 Jahren bestätigt. Als wichtigstes Resultat erwies sich die Tatsache, dass die MN-Häufigkeit signifikant reduziert war, wenn das Plasma-Hcy <7,5 µmol/l und das Serum-B12 über 300 pmol/l lag [THOMAS et al., 2011].

Diese Konzentrationen sind nur erreichbar, wenn die Aufnahmemenge die derzeitigen „recommended dietary allowances“ (RDAs) oder Empfehlungen zur täglichen

Aufnahme) übersteigt. Das wären mehr als 400 µg Folsäure pro Tag und mehr als 2 µg Vitamin B12 pro Tag [FENECH, 2002].

Eine Studie mit älteren Männern zwischen 50 und 70 Jahren zeigte eine signifikant erhöhte MN-Häufigkeit bei Individuen mit suboptimalen Serumspiegeln an Folat (<6.8 nmol/l), B12 (<150 pmol/l) und HCy (>10 µmol/l) im Vergleich zu Individuen mit höheren Serumwerten. Probanden mit einem Homocysteinspiegel über 10 µmol/l und einem normalen B12 und Folsäurestatus hatten höhere MN-Werte als jene, mit einem Homocysteinspiegel unter 10 µmol/l und einem normalen B12 und Folsäurespiegel. Diese Beobachtung führt zu der Erkenntnis, dass ein erhöhter Homocysteinspiegel, unabhängig von B12- oder Folsäurekonzentrationen, ein wichtigen Faktor für chromosomale Schäden darstellt [FENECH et al. 1997 (A)].

Probanden mit Folsäurewerten im Normalbereich hatten eine um 39% erniedrigte MN-Anzahl als Probanden mit niedrigen Folsäurewerten. Bei Probanden mit niedrigen Folsäurewerten gab es eine signifikante Korrelation zwischen Folsäure und Hcy. Dies führt zu der Annahme, dass ein Folsäuremangel Risikofaktoren wie erhöhten Hcy-Spiegel verstärken kann [SMOLKOVA et al, 2004].
Wenn Folat bei Personen mit Folatmangel wieder aufgefüllt wird, wird die Bildung von MN reduziert, jedoch zeigte eine Supplementierung keinen Effekt auf die MN-Häufigkeit bei normalem Folatstatus [LAL et al., 2011].
Folsäure- und B12-Supplemente reduzierten die MN-Häufigkeit in Individuen, die an Nierenversagen im Endstadium litten [STOPPER et al., 2008]. Bei Nierenpatienten ist sowohl die Krebsinzidenz als auch die MN-Häufigkeit erhöht [STOPPER et al., 1999].
Eine Studie mit Nierenpatienten zeigt nach einer Supplementation mit Folsäure und/oder Vitamin B12 eine Reduktion des MN-Index sowie des Plasma-Hcy-Levels in der Folsäuregruppe um 28 bzw. 32% und in der Kohorte, die die Kombination aus Folsäure und B12 erhielt, um 41% und 47% [STOPPER et al., 2008].
Eine kontrollierte Interventionsstudie ermittelte die MN-Häufigkeit in den Wangenschleimhautzellen von diagnostizierten DM-Patienten im Vergleich zu

gesunden Kontrollen. DM-Patienten, die Folsäure einnahmen, zeigten eine signifikante Verminderung der MN-Häufigkeit nach den 30 Tagen der Supplementation im Vergleich zu ihren Ausgangswerten [ZUNIGA-GONZALEZ et al., 2007].

2.5.5 Vitamin E

In der Natur wird Vitamin E nur von Pflanzen synthetisiert, die reichsten diätetischen Quellen für Vitamin E sind hierbei pflanzliche Speiseöle und Nüsse.

Vitamin E (alpha-Tocopherol) schützt vor der Bildung von ROS bei der Oxidation von Fett [THOMAS et al., 2011].

Eine frühere Studie zeigte, dass die MN-Häufigkeit in der Mucosa nach einer Intervention (24 Wochen, zweimal täglich 400 U Vitamin E) mit **Vitamin E** zur Chemoprävention bei oraler Leukoplakie reduziert war [BENNER et al., 1994].

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 STUDIENDESIGN

Die in dieser Diplomarbeit besprochene Auswertung entspricht einem Teilbereich der DIAPLANT – Studie.

Die DIAPLANT–Studie ist eine epidemiologische, randomisierte, prospektive Interventionsstudie. Im Zuge der DIAPLANT-Studie wurden mehrere Einflussgrößen gemessen, die aber nicht alle in dieser Diplomarbeit berücksichtigt werden.

In der hier vorliegenden Arbeit wird die MN-Häufigkeit anhand der CBMN-Methode gemessen.

Alle Probanden wurden basierend auf ihrem Gesundheitszustand (IDDM, NIDDM, Gesund, IFG) einer Gruppe zugeteilt. Ursprünglich war die Einteilung in die ersten drei genannten Gruppen geplant. In Folge der Untersuchungen hat sich jedoch herausgestellt, dass einige der vermeintlich gesunden Probanden erhöhte Nüchternglukosewerte (NBZ) aufwiesen. Somit entstand die vierte Gruppe der IFG.

Alle Interessenten wurden eingeladen Informationsveranstaltungen zu besuchen. Hierbei wurde über den gesundheitlichen Nutzen einer gemüsereichen Ernährung sowie über den Verlauf der Studie aufgeklärt.

Die Genehmigung zur Durchführung der Studie wurde durch die Ethikkommission der Stadt Wien erteilt.

3.1.1 Rekrutierung der Probanden

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte durch:

- Ärzte im Gesundheitszentrum Wien Süd der Wiener Gebietskrankenkasse (WGKK)
- Eine Beilage in der Zeitschrift „Diabetes-Info“ der Österreichischen Diabetikervereinigung (ÖDV)
- Einen Vortrag beim „Diabetes Tag“

Rekrutierung durch die Ärzte: Die Ärzte des Gesundheitszentrums Wien Süd luden entsprechend den Ein- und Ausschlusskriterien geeignete und interessierte Patienten zu einer der Informationsveranstaltungen ein.

Rekrutierung durch eine Beilage in der Zeitschrift „Diabetes-Info“ und durch den Vortrag beim „Diabetes Tag“. Hier wurden Diabetiker auf die Studie aufmerksam gemacht und zu einer Informationsveranstaltung eingeladen. Zuvor wurden die Ein- und Ausschlusskriterien überprüft.

Es gab:

- 10 Informationsveranstaltungen im Gesundheitszentrum Wien Süd der WGKK
- 2 Informationsvorträge bei der ÖDV
- Die Informationsvorträge wurden von gesamt 130 Personen besucht, zusätzlich wurden 21 Personen telefonisch informiert.

Die Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie wurde von 120 Personen unterschrieben, davon sind 111 Personen in die Studie gestartet und 99 Personen haben die Studie beendet.

Nach folgenden Kriterien erfolgte die Rekrutierung der Teilnehmer.

Einschlusskriterien:

- Männer und Frauen mit Typ II Diabetes
  - 40 – 85 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
- HbA1c ≤ 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-4-Hemmer, Sulfonylharnstoffe, GLP-1 Mimetika
- Medikation der Insulin Gruppe: Insulin oder Insulin + Metformin

Ausschlusskriterien:

- Typ-I-Diabetiker
- Patienten jünger als 40 und älter als 85 Jahre
- Raucher
- Schwangere und stillende Frauen
- Teilnahme an anderen klinischen Studien
- Neue Medikation oder Änderung der Medikation bzgl. Glucose-, Fett- und Harnsäure-Stoffwechsel vier 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 ≥ III
- Lebererkrankungen (Transaminase-Grenzwert ≥ 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

Die Diabetiker wurden zusätzlich gebeten, ein Blutzuckerprofil mit abzugeben und falls Insulin gespritzt wurde, auch ein Insulinprotokoll und Spritzschema. Alle, die die Intervention bekamen, wurden gebeten, ein Ernährungstagebuch zu führen und mitzubringen.

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurden nur die Parameter der ersten Blutabnahme berücksichtigt. Es wurden die Daten von 111 Probanden der DIAPLANT-Studie ausgewertet. Aufgrund der geringeren Anzahl an gesunden Probanden, wurden weitere Daten von 20 gesunden Probanden der GILBERT-SYNDROM-Studie herangenommen und die passenden Parameter miteinbezogen. Diese befanden sich in der gleichen Altersgruppe wie die Probanden der DIAPLANT-Studie. Somit ergab sich für diese Auswertung eine gesamte Studienpopulation von 131 Probanden.

	Anzahl	Alter
DIAPLANT-Studie	111	64,3 ± 7,4
BILIRUBIN-Studie	20	52,3 ± 9
Gesamt	131	62,5 ± 8,8

Abb. 11: Anzahl und Alter der Probanden der DIAPLANT- und GILBERT-SYNDROM-Studie

Die Probanden der BILIRUBIN-Studie entsprachen den Ein- und Ausschlusskriterien der DIAPLANT-Studie.

3.2 DER CBMN-ASSAY

3.2.1 Verwendete Materialien

Name	Einheit	Produzent
RPMI 1640 without L-Glutamin	500 ml	PAA
Dulbecco's phosphate puffered saline, steril filtered	500 ml	SIGMA
Sodium pyruvate, sterile filtered		SIGMA
L-Glutamine, sterile filtered	200 µM	SIGMA
Fetal Bovine Serum	500 ml	PAA
Phytohaemagglutinin	10 ml	PAA
Zentrifugenröhrchen mit Schraubdeckel, steril	15 ml	VWR
Freestanding centrifuge tubes	50 ml	VWR
Polystyrene Round-Bottom Tube	5 ml	Becton Dickinson
Countess cell counting chamber slides		Invitrogen
Trypan blue stain		SIGMA
Cytochalasin B		SIGMA
Cell Preparation Tube with Sodium Citrate		Becton, Dickinson
DMSO		SIGMA
Diff-Quick Staining Set		Medion Diagnostics
Entallan		Merck
Spritze 20 ml		VWR
Steriler Filter		VWR
Objektträger und Deckgläser		VWR
1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen		Star Lab

Abb. 12: Verwendete Materialien für den CBMN-Assay

3.2.2 Probenaufbereitung

Die Aufbereitung der Proben wird im Doppelansatz durchgeführt.

Arbeitsanleitung Medium

Das Medium wird unter sterilen Bedingungen vorbereitet. Die Chemikalien werden im Wasserbad (ca. 37°C) angewärmt.

30 ml RPMI + 3,3 ml FBS + 330 µl Sodium-L-Pyruvate + 330 µl L-Glutamine werden in einem 50 ml Zentrifugenröhrchen vereint. Das RPMI wird noch zusätzlich mit einem sterilen Filter filtriert.

Arbeitsanleitung Lymphozytenisolation

Die Lymphozyten werden unter sterilen Bedingungen isoliert.

Es werden 10 ml Blut über Venenpunktur in CPT Heparin Röhrchen abgenommen und 8x kopfüber geschwenkt. Unmittelbar vor dem Zentrifugieren (1729 rcf=3100 rpm, 25min, 22°C) werden die Röhrchen 5x kopfüber geschwenkt.

Die Lymphozyten (Schicht zwischen Plasma und Gel) werden mittels Pasteurpipette in ein 15 ml Zentrifugenröhrchen überführt.

Die Röhrchen werden mit PSB auf 15 ml aufgefüllt um die Lymphozyten zu waschen.

Die Röhrchen werden wieder zentrifugiert (304 rcf=1300 rpm, 15 min, 4°C).

Nach dem Zentrifugieren wird das PSB absaugt, die Lymphozyten bleibt im Röhrchen zurück.

Für den weiteren Waschvorgang wird mit PSB auf 10 ml aufgefüllt und das Röhrchen geschwenkt um das Pellet vom Boden zu lösen.

Die Röhrchen werden wiederum mit folgender Einstellung zentrifugiert: 304 rcf=1300 rpm, 10 min, 4°C.

Das PSB wird erneut abgesaugt und in 1 ml PSB resuspendiert.

Zellzahlbestimmung (Countess)

Zur Bestimmung der Zellzahl werden 20 µl Zellsuspension in ein Cup mit 60 µl PBS überführt. Davon werden 10 µl Zellsuspension mit 10 µl Tryptanblau gemischt und in die Neubauer Zählkammer gefüllt. Mittels Countess wird die Zellzahl (lebende Zellen/ml) bestimmt. Abhängig von der Menge an lebenden Zellen, werden Zellen mit Medium vermischt. Es werden 750 µl Zell-Medium-Suspension mit einer Konzentration von $1x10^6$.

Inkubation

Pro Proband werden 2 Röhrchen mit je 750 µl Medium und Zellsuspension angesetzt.

15 µl PHA werden zugesetzt um die Zellteilung zu starten. Die genaue Zeit muss notiert werden.

Die Falconröhrchen müssen bei 5% CO_2, 37°Cfür genau 44 h inkubiert werden.

Achtung: Der Deckel wird locker aufgelegt um einen Gasaustausch zu ermöglichen.

Zugabe von Cytochalasin B nach genau 44 h

Die Cytochalasin B-Stocklösung hat eine Konzentration von 600 µg/ml.

Da eine Konzentation von 60 µg/ml benötigt wird Cytochalasin B Stock mit RPMI im Verhältnis 1:10 gemischt. Von dieser Mischung werden 56,2 µl entnommen und in

jedes Falconröhrchen pipettiert. Die Röhrchen inkubieren weitere 28 h (insgesamt 72 h) bei 37°C, 5% CO_2.

Nach genau 72 h Inkubation (nicht steril)

Vor dem Zentrifugieren werden die Objektträger beschriftet. Pro Röhrchen werden zwei Objektträger vorbereitet und mit Filterpapier und Trichter versehen.

200 µl vom Überstand werden aus jedem Falcon entnommen ohne dabei die Zellen zu schädigen und verworfen.

46 µl DMSO werden zu jedem Röhrchen hinzugeben.

Die Zellsuspension wird leicht durch „Fingerklopfen“ gemischt.

Es werden 120 µl der Probe in die Öffnung des Trichters (Doppelansatz) pipettiert.

Die Objektträger werden mit einer speziellen Zentrifuge (Cytospin) zentrifugiert(5 min, 600 RPM, ACCEL high). Nach Entfernung des Trichters und des Filters werden die Objektträger für 10 min waagrecht getrocknet.

Färbung

Es werden drei Färbewannen mit Deckel und den jeweiligen Lösungen (Fixative, Diff-Quick 1, Diff-Quick 2) vorbereitet und beschriftet.

Die Objektträger werden nach der Trockenzeit in die Färbehalterung geschlichtet. (Rücken an Rücken) und für 10 Minuten in die Fixative-Wanne gestellt.

Anschließend werden die Objektträger 10 x in Diff-Quick 1 getaucht.

Die Objektträgerhalterung wird abgetupft um Diff-Quick 2 nicht zu verunreinigen.

Die Objektträger werden 8 x in Diff-Quick 2 getaucht.

Die Objektträger werden zuerst unter der Wasserleitung, dann mit destilliertem Wasser abgespült.

Die Objektträger werden mit dem Spot nach unten auf einer Küchenrolle ca. 3 min getrocknet und danach gewendet. Bevor ein Deckglas auf den Spot gelegt wird, muss der Objektträger völlig trocken sein.

Eindeckeln

Es werden jeweils 3 Tropfen Entallan pro Objektträger aufgetragen und ein Deckglas über den Spot gelebt. Dann trockenen die Objektträger über Nacht.

3.2.3 Zählkriterien

Ein-, Zwei, Mehrkernzellen	lebende Zellen intaktes Cytoplasma normales Aussehen des Zellkerns ein oder mehrere Zellkerne
Zweikernzelle (BN)	lebende Zelle zwei Kerne intakte Membran intaktes Cytoplasma, deutlich von anderen Zellen getrennt ähnliche Größe, Färbung und Intensität verbunden mit NPB (nicht größer als ¼ vom Durchmesser des Kernes) können sich berühren, dürfen aber nicht überlappen
Mikrokerne (MNi)	intakte Membran ähnliche Färbung und Intensität wie der Zellkern kleiner als der Zellkern der Durchmesser des MNi liegt zwischen 1/16 und 1/3 vom Durchmessers des Zellkerns die Größe des MNi variiert zwischen 1/256 und 1/9 der Größe des Zellkerns klar abgegrenzt von anderen Zellbestandteilen verbunden oder abgegrenzt vom Hauptkern überlappt mit dem Hauptkern nicht
Brücken (NPBs)	Länge ist variabel, nicht länger als ¼ des Durchmessers vom Zellkern ähnliche Färbung wie der Zellkern möglicherweise mehr als eine Brücke (selten) Mikrokerne können vorkommen
Buds (NBUDs)	Verbindung zum Zellkern dünnere Brücke können sich in einer Vakuole befinden
Apoptosen	nichtlebende Zellen frühapoptotische Zellen: zeigen eine Chromatinkondensation innerhalb des Zellkerns intaktes Cytoplasma intakte Membran spätapototische Zellen: Kernfragmente „Apoptotic bodies“ intakte Cytoplasmamembran Farbintensität ist größer als bei lebenden Zellen

Nekrosen	nichtlebende Zellen frühnekrotische Zellen: blasses Cytoplasma zerstörte Cytoplasmamembran nicht intakter Zellkern mehrere Vakuolen spätnekrotische Zellen: Cytoplasma ist nicht mehr vorhanden, „fließt“ aus dem Cytoplasma zerstörte Zellkernmembran Partikel des Kerns sind noch vorhanden

Abb. 13: Zählkriterien des CBMN-Assays

3.3 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die erhobenen Daten wurden mittels SPSS 17.0 ausgewertet. Im Falle von zwei unabhängigen Variablen wurde bei einer Normalverteilung der T-Test und bei nicht normalverteilten Variablen der MANN-Whitney-U-Test herangezogen. Bei den Vergleichen von mehreren unabhängigen Variablen wurde bei Normalverteilung die einfaktorielle ANOVA und bei nicht normalverteilten Daten der KRUSKAL-WALLIS-H-Test verwendet. Für die Ermittlung von Zusammenhängen zwischen den Variablen wurde die Pearson- und im Falle von nicht normalverteilten Werten die Spearman-Korrelation ausgewählt. Das Signifikanzniveau betrug bei allen Test $p \leq 0,05$.

4 ERGEBNISSE

4.1 DESKRIPTIVE STATISTIK DER PROBANDEN

Die gesamte Studienanzahl beinhaltete 131 Probanden mit einem durchschnittlichen Lebensalter von 62,5 ± 8, wovon 72 Frauen (62,5 ± 8 alt) und 59 Männer (62,4 ± 9,7 alt) waren.

	Anzahl	Alter
Frauen	72	62,5 ± 8,0
Männer	59	62,4 ± 9,7
Gesamt	131	62,5 ± 8,8

Abb. 14: Deskriptive Statistik der Probanden

4.2 GESCHLECHTSSPEZIFISCHE EINFLÜSSE

Die Ergebnisse zeigen eine signifikant höhere MN-Anzahl ($p < 0,01$) in den Lymphozyten der Frauen im Vergleich zu den Männern, die um den Faktor 1,5 niedrigeres MN-Vorkommen aufweisen **(Abb. 16)**. Es konnten keine geschlechts-spezifischen Unterschiede für NPBs, NBUDs, Apoptosen und Nekrosen festgestellt werden **(Abb. 15)**.

	Männer	Frauen	p-Wert
MNi	19,1 ± 7,6	29,6 ± 11,3	**0,000**
NPBs	1,7 ± 1,4	1,6 ± 1,1	0,342
NBUDs	4,0 ± 2,7	4,5 ± 3,1	0,714
Apoptosen	1,2 ± 0,6	1,2 ± 0,5	0,671
Nekrosen	1,3 ± 0,8	1,1 ± 0,7	0,890

Abb. 15: Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der Parameter des CBMN-Assays zu Studienbeginn

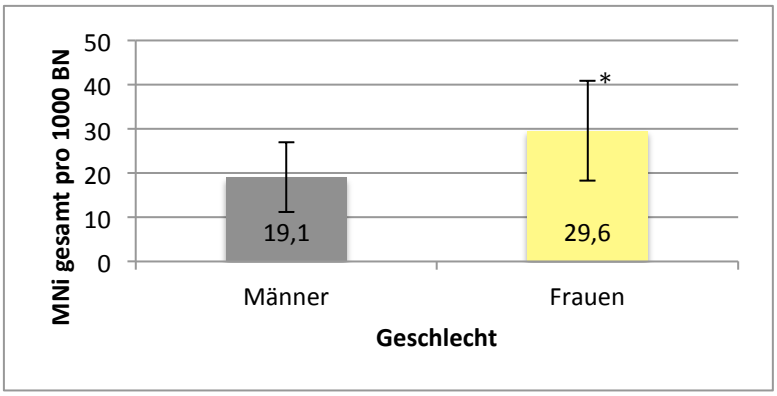

Abb. 16: Geschlechtsspezifische Unterschiede hinsichtlich der MN-Häufigkeit (*p < 0,01 vs. Männer) zu Studienbeginn

4.3 ALTERSSPEZIFISCHE EINFLÜSSE

4.3.1 Altersspezifische Einflüsse auf die MN-Häufigkeit

Die Ergebnisse zeigen, dass die Männer im Alter <50 Jahren eine signifikant geringere **MN-Anzahl** aufweisen, als die im Alter von 51 bis 60 ($p < 0,05$). Zu allen anderen Gruppen konnten die Männer <50 Jahren keine relevanten Unterschiede aufweisen. Bei den altersspezifischen Gruppenunterschieden der Frauen wurden keine signifikanten Differenzen der MN-Häufigkeit beobachtet. Die <50-Jährigen Männer hatten um den Faktor 1,7 weniger MN als die 51-60-Jährigen, um den Faktor 1,3 niedrigere als die 61-70-Jährigen sowie um den Faktor 1,1 geringere als die >71-

Jährigen. Bei den Frauen stieg der Faktor auf 1,3 zu den 51-60-Jährigen und um 1,1 zu den 61-70-Jährigen **(Abb. 17)**.

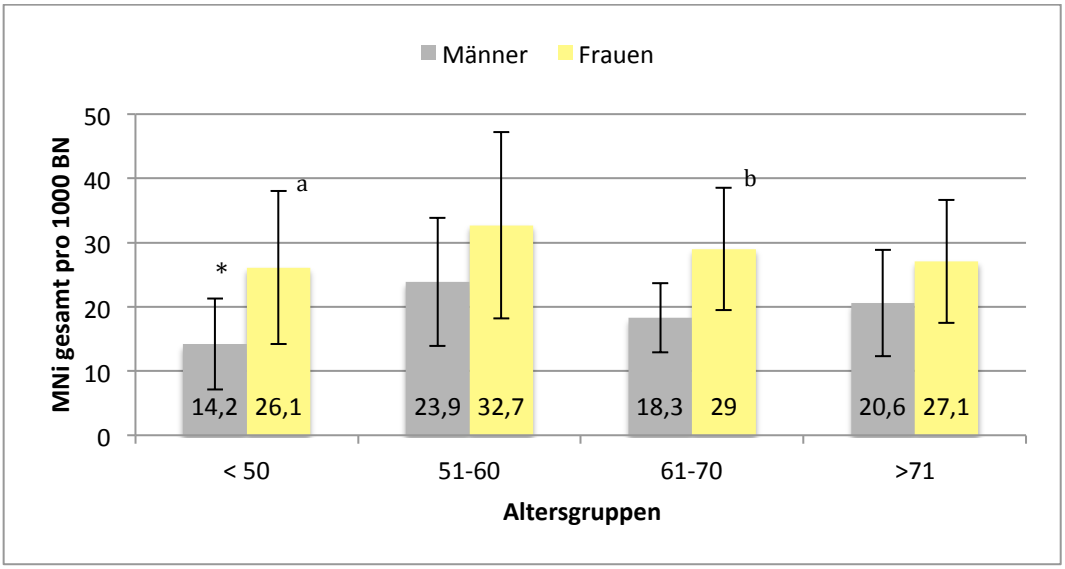

Abb. 17: Altersspezifische Unterschiede der MN-Häufigkeiten bei Männern und Frauen (*p < 0,05 vs. 51-60 Männer; [a]p < 0,05 vs. <50 Männer; [b]p < 0,01 vs. 61-70 Männer)

Innerhalb der Altersgruppen konnten ebenso signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede festgestellt werden. Frauen wiesen im Vergleich zu den Männern immer mehr MNi auf. Bei den Altersgruppen <50 ($p < 0,05$) und 61-70 ($p < 0,01$) waren die Differenzen zwischen den Männern und den Frauen signifikant, wogegen es bei den 51-60-Jährigen nur eine tendenzielle ($p < 0,1$) und bei den >71 Jährigen keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern gab **(Abb. 17)**.

4.3.2 Altersspezifische Einflüsse auf die NPB-Häufigkeit

Für **NPBs** konnten keine altersspezifischen Unterschiede beobachtet werden. In der Gruppe der Frauen zeigte sich ein Anstieg der NPBs um den Faktor 2,1 von den <50- zu den 51-60- Jährigen, wogegen bei den Männern die NPBs Anzahl im Vergleich zu den Frauen höher war und nur um den Faktor 1,3 zu den 51-60 anstieg **(Abb. 18)**.

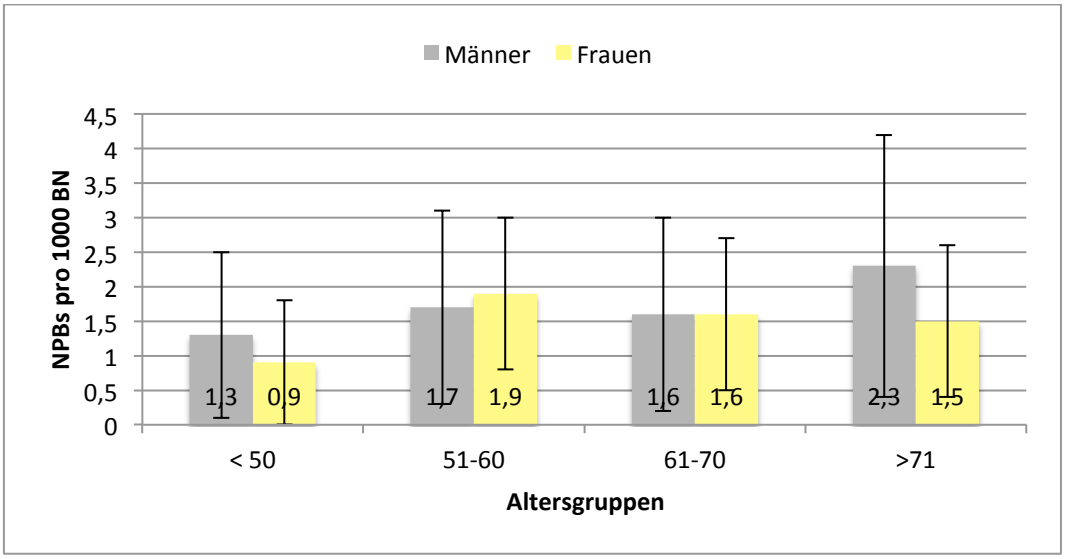

Abb. 18: Altersspezifische Unterschiede der NPB-Häufigkeit bei Männern und Frauen

4.3.3 Altersspezifische Einflüsse auf die NBUD-Häufigkeit

Bei den **NBUDs** konnten keine altersspezifischen Unterschiede beobachtet werden **(Abb. 19)**. Dafür verantwortlich ist sicherlich die hohe Standardabweichung in den Gruppen.

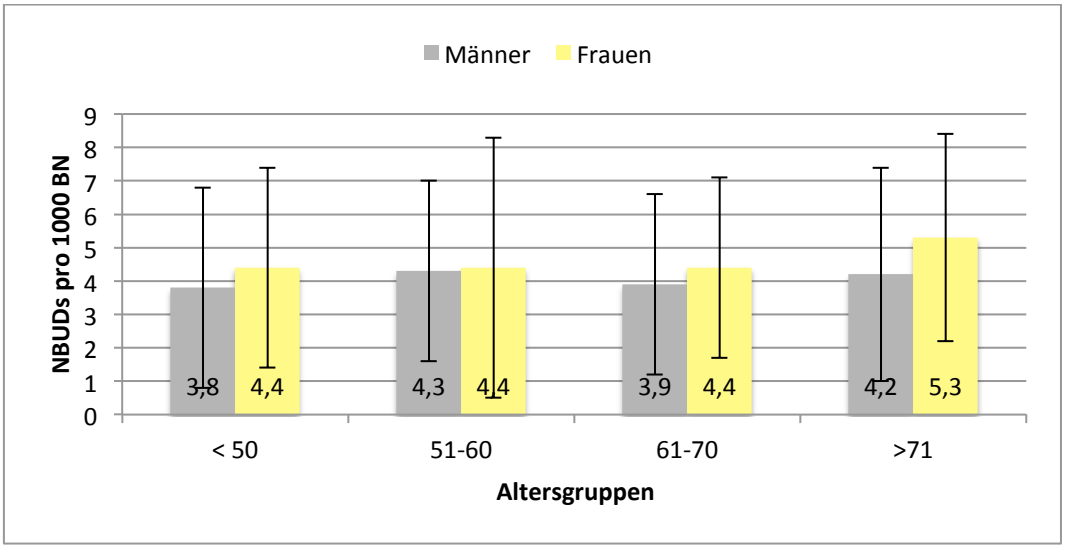

Abb. 19: Altersspezifische Unterschiede der NBUD-Häufigkeit bei Männer und Frauen

4.3.4 Altersspezifische Einflüsse auf die Apoptosen-Häufigkeit

Die weiblichen Probanden <50 Jahren hatten ein signifikant niedrigeres Auftreten von **Apoptosen** gegenüber den 51-60-Jährigen ($p < 0,05$), gegenüber den 61-70-Jährigen ($p < 0,05$), sowie gegenüber den >71-Jährigen ($p < 0,01$) Frauen. Ebenso waren bei den 51-60-Jährigen signifikant mehr Apoptosen ($p < 0,05$) als bei den <71-Jährigen zu beobachten. Von der jüngsten Altersgruppe der Frauen zu den 51-60-Jährigen zeigte sich eine Steigerung um den Faktor 1,8, zu den 61-70-Jährigen um den Faktor 2,1 und zu den >71-Jährigen um den Faktor 2,6. Bei den Männern wurden keine signifikanten altersspezifischen Unterschiede gefunden. Ebenso wurden auch keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bei den Apoptosen beobachtet, jedoch zeigten die Frauen in den Altersgruppen <50 tendenziell ($p < 0,1$) weniger und in der Gruppe >71 tendenziell ($p < 0,1$) mehr Apoptosen (**Abb. 20**).

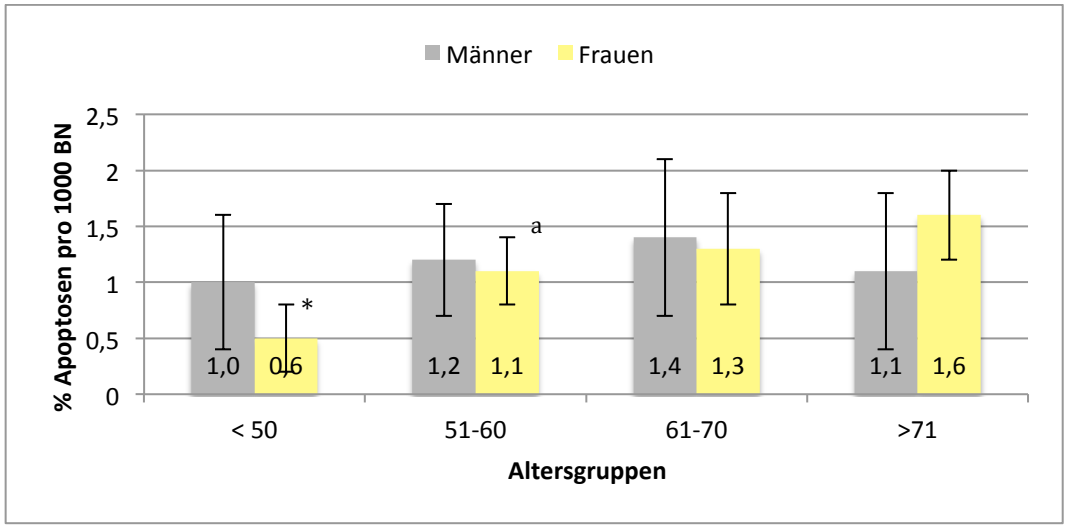

Abb. 20: Altersspezifische Unterschiede der Apoptosen-Häufigkeit bei Männern und Frauen (*$p < 0,05$ vs. 51-60 und 61-70 Frauen ; *$p < 0,01$ vs. >71 Frauen ; $^{a}p < 0,05$ vs. >71 Frauen)

4.3.5 Altersspezifische Einflüsse auf die Nekrosen-Häufigkeit

Innerhalb der Frauengruppe zeigten die 61-70-Jährigen ($p < 0,05$) und die >71-Jährigen ($p < 0,01$) signifikant weniger **Nekrosen** als die Probandinnen unter 50 Jahren. Ebenso

hatten die Frauen im Alter von 51-60 eine signifikant geringe Anzahl an Nekrosen ($p < 0,01$) als die >71-Jährigen Frauen. Die Nekrosen-Häufigkeit steigerte sich von der jüngsten Gruppe auf die 51-60-Jährigen um den Faktor 2,5, zu den 61-70 um den Faktor 1,2 und zu den >71-Jährigen um den Faktor 1,5. Bei den Männern wurden auch hier keine signifikanten altersspezifischen Unterschiede beobachtet, jedoch steigt die Nekrosen-Anzahl um den Faktor 1,1—1,5 innerhalb der Altersgruppen. Signifikante geschlechtsabhängige Unterschiede wurden nur nach der Einteilung in Altersgruppen bei den <50 Jährigen beobachtet. Die Frauen in der jüngsten Gruppe zeigten signifikant weniger Nekrosen ($p < 0,05$) als die Männer (**Abb. 21**).

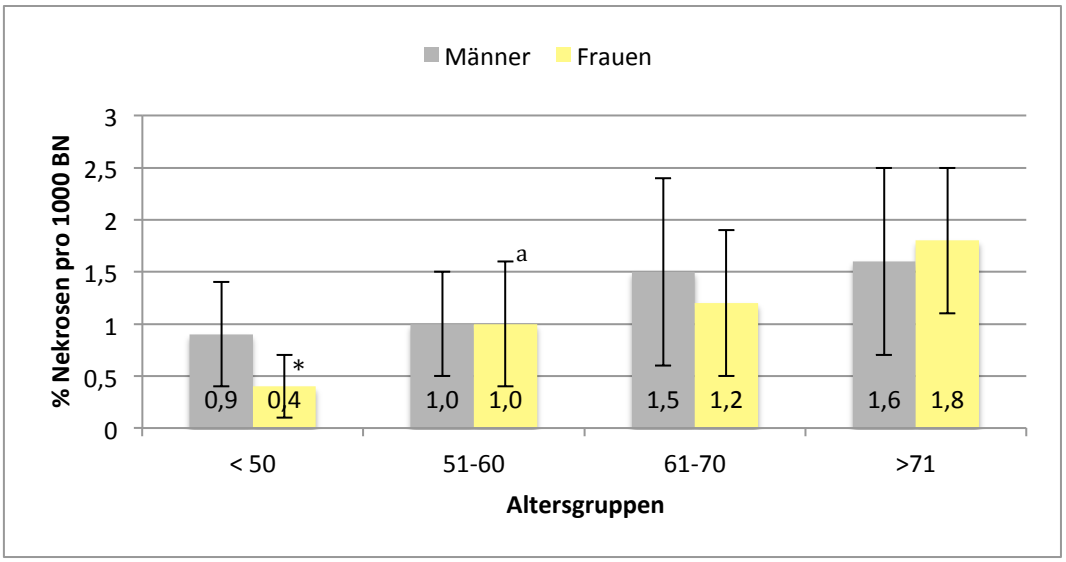

Abb. 21: Altersspezifische Unterschiede der Nekrosen-Häufigkeit bei Männern und Frauen (*$p < 0,05$ vs. 61-70 Frauen; *$p < 0,01$ vs. >71 Frauen; *$p < 0,05$ < 50 Männer; [a]$p < 0,01$ vs. >71 Frauen)

4.4 ERGEBNISSE MNi

In diesem Abschnitt werden die Zusammenhänge der MN-Häufigkeit mit den Parametern des CBMN-Assays sowie mit anderen relevanten Variablen wie Folsäure, Vitamin B12, Hcy, BMI und HbA1c überprüft **(Abb. 22)**.

	Korrelations-koeffizient	p-Wert
MNi (pro 1000 BN) - **NPBs** (pro 1000 BN)	0,039	0,667
MNi (pro 1000 BN) - **NBUDs** (pro 1000 BN)	0,073	0,418
MNi (pro 1000 BN) - **Nekrosen** (%)	-0,056	0,532
MNi (pro 1000 BN) - **Apoptosen** (%)	0,004	0,963
MNi (pro 1000 BN) - **Folsäure** (ng/ml)	0,109	0,255
MNi (pro 1000 BN) - **Vitamin B12** (ng/l)	0,065	0,580
MNi (pro 1000 BN) - **Homocystein** (µmol/l)	-0,088	0,372
MNi (pro 1000 BN) - **HbA1c** (%)	-0,007	0,994
MNi (pro 1000 BN) - **BMI** (kg/m^2)	-0,017	0,852

Abb. 22: Korrelationen der MNi mit anderen relevanten Parametern

Es konnten keine signifikanten Korrelationen zwischen der MN-Häufigkeit mit den oben genannten Parametern festgestellt werden **(Abb. 22)**.

4.5 ERGEBNISSE NPBs

Die folgende Tabelle listet die Korrelationen zwischen der NPBs-Häufigkeit und den Parametern des CBMN-Assay sowie weiterer relevanter Parameter auf **(Abb. 23)**.

	Korrelations-koeffizient	**p-Wert**
NPBs (pro 1000 BN) - **MNi** (pro 1000 BN)	0,039	0,667
NPBs (pro 1000 BN) - **NBUDs** (pro 1000 BN)	0,485	**0,000**
NPBs (pro 1000 BN) - **Nekrosen** (%)	0,243	**0,006**
NPBs (pro 1000 BN) - **Apoptosen** (%)	0,162	0,073
NPBs (pro 1000 BN) - **Folsäure** (ng/ml)	-0,039	0,685
NPBs (pro 1000 BN) - **Vitamin B12** (ng/l)	-0,040	0,734
NPBs (pro 1000 BN) - **Homocystein** (µmol/l)	0,056	0,573
NPBs (pro 1000 BN) - **HbA1c** (%)	0,068	0,453
NPBs (pro 1000 BN) - **BMI** (kg/m^2)	0.101	0,266

Abb. 23: Korrelationen der NPBs mit anderen relevanten Parametern

Die NPBs-Häufigkeit korrelierte signifikant positiv mit der Anzahl von NUBDs (r^2 = 0,485; $p < 0,01$) **(Abb. 24)** und Nekrosen (r^2 = 0,162; $p < 0,01$) **(Abb. 25)**. Eine tendenzielle Korrelation mit der Apoptosen-Häufigkeit (r^2 = 0,162; $p < 0,1$) konnte ebenso bestätigt werden **(Abb. 22)**.

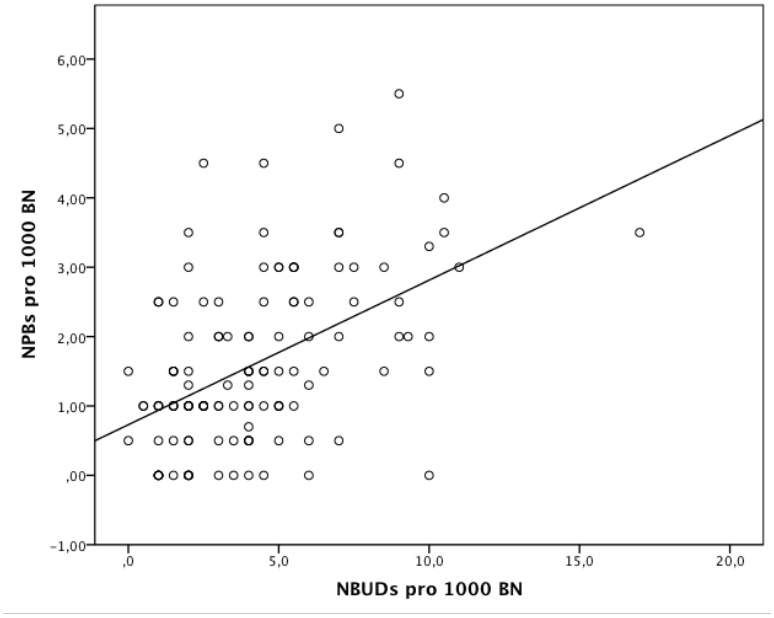

Abb. 24: Korrelation zwischen NPB-Häufigkeit und NBUD-Auftreten (r^2 = 0,485; p < 0,01)

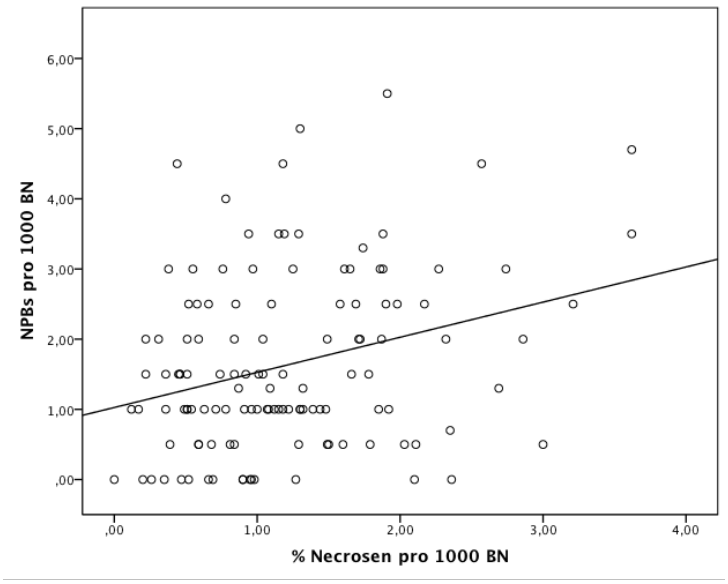

Abb. 25: Korrelation zwischen NPB-Häufigkeit und Nekrosen-Auftreten (r^2 = 0,162; p < 0,01)

4.6 ERGEBNISSE NBUDs

Dieses Kapitel beschäftigt sich mit der Häufigkeit von NBUDs im Zusammenhang mit Parametern des CBMN-Assay sowie mit den Variablen von Vitamin B12, Folsäure, Hcy, HbA1c und BMI **(Abb. 26)**.

	Korrelations-koeffizient	**p-Wert**
NBUDs (pro 1000 BN) - **MNi** (pro 1000 BN)	0,073	0,418
NBUDs (pro 1000 BN) - **NPBs** (pro 1000 BN)	0,485	**0,000**
NBUDs (pro 1000 BN) - **Nekrosen** (%)	0,465	**0,000**
NBUDs (pro 1000 BN) - **Apoptosen** (%)	0,198	**0,028**
NBUDs (pro 1000 BN) - **Folsäure** (ng/ml)	0,085	0,382
NBUDs (pro 1000 BN) - **Vitamin B12** (ng/l)	0,069	0,560
NBUDs (pro 1000 BN) - **Homocystein** (µmol/l)	0,036	0,719
NBUDs (pro 1000 BN) - **HbA1c** (%)	0,088	0,332
NBUDs (pro 1000 BN) - **BMI** (kg/m^2)	0,077	0,397

Abb. 26: Korrelationen der BUDs mit anderen relevanten Parametern

Wie schon oben erwähnt, zeigte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen der NBUD- und NBP-Häufigkeit (r^2 = 0,485; p < 0,01) **(Abb. 24)**. Die NBUD-Häufigkeit korrelierte ebenso signifikant mit der Anzahl an Apoptosen (r^2 = 0,198; p < 0,05) **(Abb. 27)** und Nekrosen (r^2 = 0,465; p < 0,01) **(Abb. 28)**.

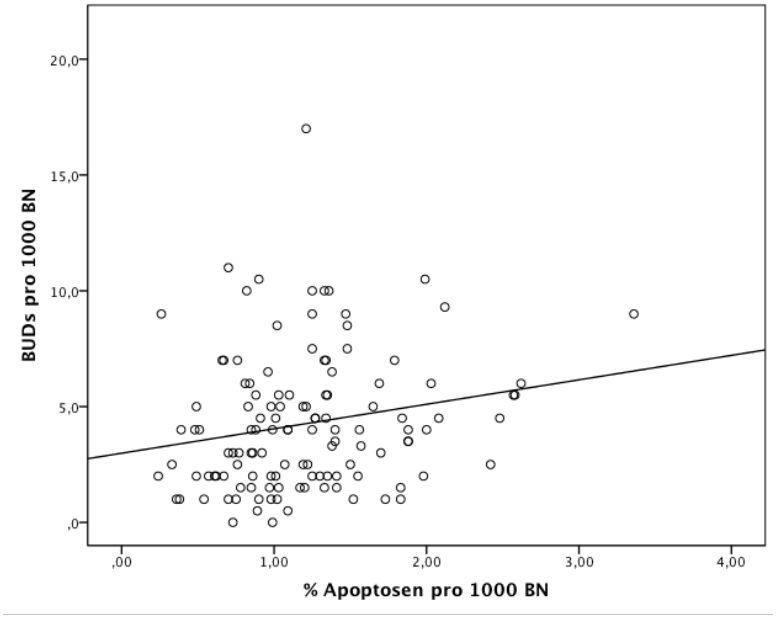

Abb. 27: Korrelation zwischen NBUD-Häufigkeit und Apoptosen-Auftreten (r^2 = 0,198; p < 0,05)

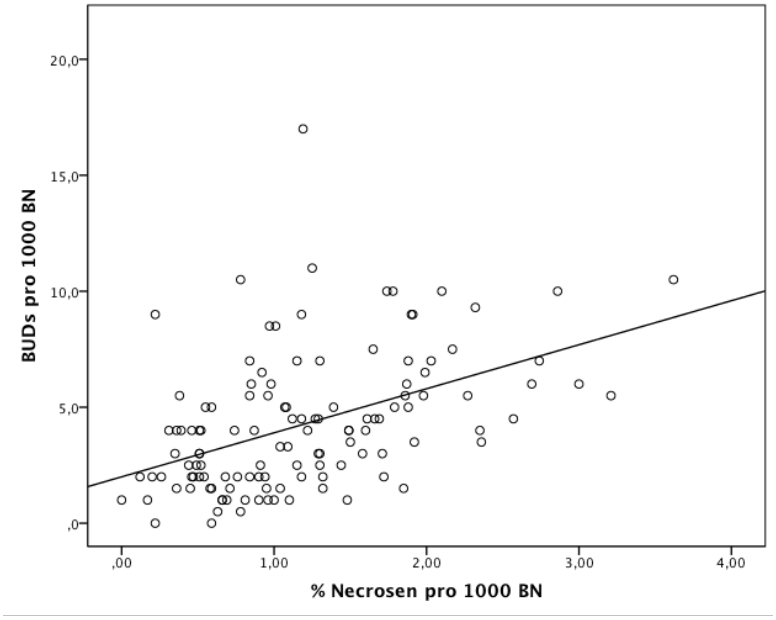

Abb. 28: Korrelation zwischen NBUD-Häufigkeit und Nekrosen-Auftreten (r^2 = 0,465; p < 0,05)

4.7 ERGEBNISSE APOPTOSEN

Die Anzahl von Apoptosen wurde mit den Parametern der folgenden Tabelle verglichen **(Abb. 29)**.

	Korrelations-koeffizient	**p-Wert**
Apoptosen (%) - **MNi** (pro 1000 BN)	0,004	0,963
Apoptosen (%) - **NPBs** (pro 1000 BN)	0,162	0,073
Apoptosen (%) - **NBUDs** (pro 1000 BN)	0,198	**0,028**
Apoptosen (%) - **Nekrosen** (%)	0,596	**0,000**
Apoptosen (%) - **Folsäure** (ng/ml)	0,075	0,438
Apoptosen (%) - **Vitamin B12** (ng/l)	0,220	0,058
Apoptosen (%) - **Homocystein** (µmol/l)	-0,156	0,111
Apoptosen (%) - **HbA1c** (%)	-0,101	0,263
Apoptosen (%) - **BMI** (kg/m^2)	0,066	0,467

Abb. 29: Korrelationen der Apoptosen mit anderen relevanten Parametern

Es konnte eine signifikante Korrelation der Apoptosen-Anzahl mit Nekrosen- (r^2 = 0,595; $p < 0,01$) **(Abb. 30)** sowie mit der NBUD–Häufigkeit (r^2 = 0,198; $p < 0,05$) **(Abb. 27)** beobachtet werden. Ebenso zeigten sich tendenzielle Korrelationen zwischen der NPB-Häufigkeit (r^2 = 0,162; $p < 0,1$) und der Vitamin B12-Konzentrationen im Plasma (r^2 = 0,220; $p < 0,1$).

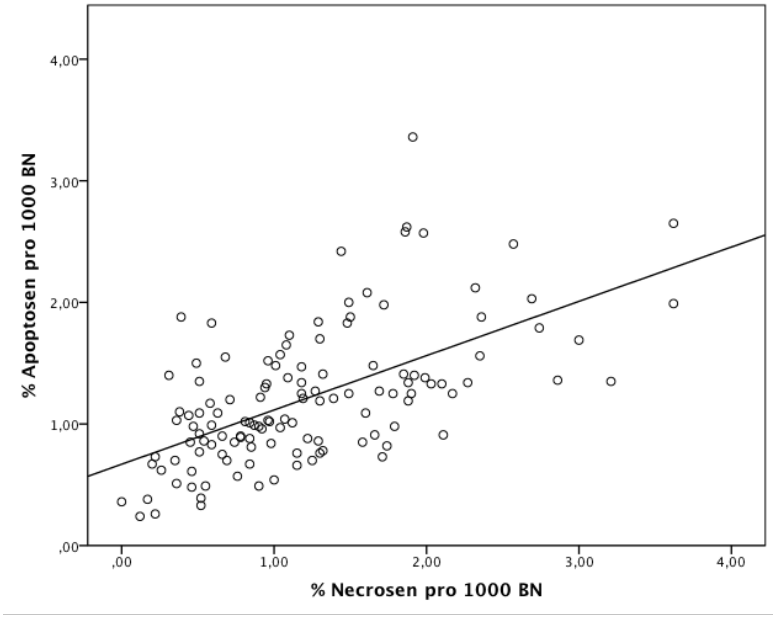

Abb. 30: Korrelation zwischen Apoptosen-Häufigkeit und Nekrosen-Auftreten (r^2 = 0,595; p < 0,01)

4.8 ERGEBNISSE NEKROSEN

Die Vergleiche zwischen der Nekrosen-Häufigkeit und den Messwerten des CBMN-Assay und den Variablen von Folsäure, Vitamin B12, Hcy und HbA1c sind in der folgenden Tabelle angeführt **(Abb. 31)**.

	Korrelations-koeffizient	p-Wert
Nekrosen (%) - **MNi** (pro 1000 BN)	-0,056	0,532
Nekrosen (%) - **NPBs** (pro 1000 BN)	0,243	**0,006**
Nekrosen (%) - **NBUDs** (pro 1000 BN)	0,465	**0,000**
Nekrosen (%) - **Apoptosen** (%)	0,596	**0,000**
Nekrosen (%) - **Folsäure** (ng/ml)	0,180	0,061
Nekrosen (%) - **Vitamin B12** (ng/l)	0,232	**0,045**
Nekrosen (%) - **Homocystein** (µmol/l)	-0,029	0,771
Nekrosen (%) - **HbA1c** (%)	-0,037	0,682
Nekrosen (%) - **BMI** (kg/m^2)	0,126	0,166

Abb. 31: Korrelationen der Nekrosen mit anderen relevanten Parametern

Die Nekrosen-Häufigkeit korrelierte signifikant mit der Anzahl der NPB ($r^2 = 0,243$; $p < 0,01$) **(Abb. 25)**, der NBUD ($r^2 = 0,465$; $p < 0,05$) **(Abb. 28)**, der Häufigkeit von Apoptosen ($r^2 = 0,596$; $p < 0,01$) und der Vitamin B12-Konzentration ($r^2 = 0,232$; $p < 0,05$) (**Abb. 32**). Die Folsäurekonzentration in den Erythrozyten scheint ebenfalls mit der Nekrosen-Anzahl tendenziell zu korrelieren ($r^2 = 0,180$; $p < 0,1$).

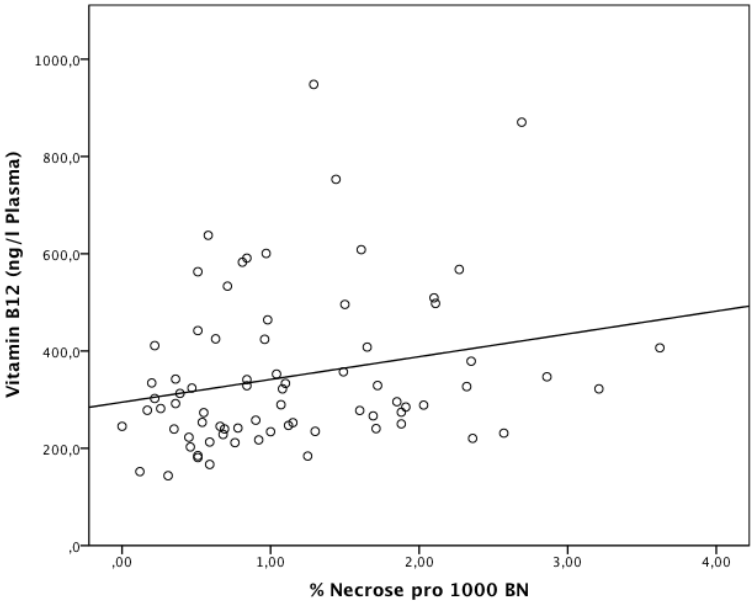

Abb. 32: Korrelation Nekrosen-Häufigkeit mit der Vitamin B12-Konzentration (r^2 = 0,232; p < 0,05)

4.9 EINFLUSS DER DIABETESTHERAPIE

4.9.1 Deskriptive Statistik der Untersuchungsgruppen

Aufgrund der Tatsache, dass es signifikante Altersunterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen innerhalb der gesamten Studienpopulation gab, wurden in diesem Kapitel nur Probanden über 55 Jahren gewählt um diesen Störfaktor aufzuheben. Dadurch reduziert sich die Probandenzahl in diesem Abschnitt auf 106.

	Anzahl	Männer	Frauen	Alter in Jahren
IDDM	36	18	18	66,6 ± 5,2
NIDDM	40	17	23	67 ± 5,9
GESUND	19	6	13	63 ± 4,8
IFG	11	6	5	64,9 ± 5,3
Gesamt	106	47	59	65,9 ± 5,6

Abb. 33: Deskriptive Statistik der Untersuchungsgruppen

In diesem Kapitel wurden die einzelnen Parameter ebenso auf geschlechtsspezifische Unterschiede überprüft und nur dann berücksichtig, wenn es signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern gab. Es wurden zusätzlich noch weitere Parameter auf deren gesundheitsspezifischen Gruppenunterschied untersucht, um weitere Einflüsse der Antidiuretika festzustellen wie z.B. Folsäure, Vitamin B12, Hcy, BMI, NBZ und HbA1c . Es wurden jedoch nur signifikante Gruppenunterschiede mit BMI, NBZ und HbA1c beobachtet.

Es konnten keine signifikanten Differenzen bei der **MN- (Abb. 34), NBUD-, NPB-, und der Apoptosen-Anzahl** hinsichtlich auf den Diabetesstatus beobachtet werden.

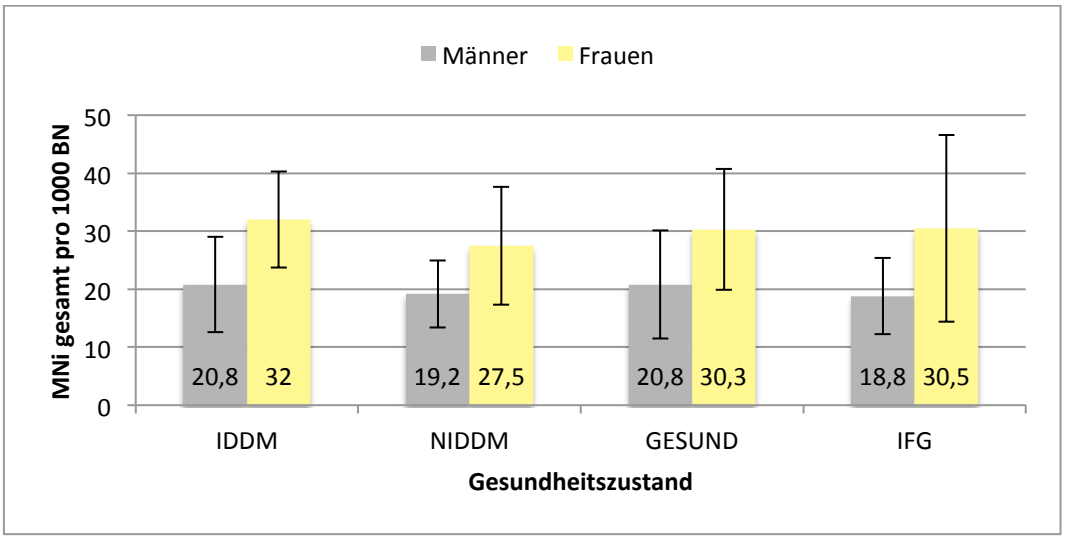

Abb. 34: MN-Häufigkeit in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen

4.9.2 Zusammenhang zwischen Nekrosen und Diabetes-Therapie

Die Gruppe der Gesunden zeigte eine signifikant niedrigere Nekrosen-Häufigkeit ($p < 0,05$) im Vergleich zu NIDDM **(Abb. 35)**.

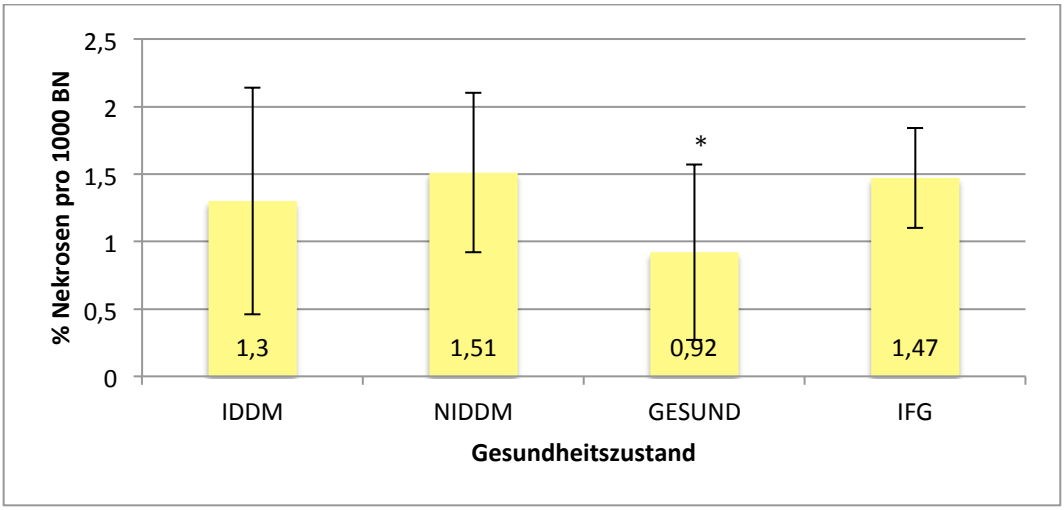

Abb. 35: Nekrosen-Häufigkeit in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (*p < 0,05 vs. NIDDM)

4.9.3 Zusammenhang zwischen NBZ und Diabetes-Therapie

Die Gesunden konnten einen signifikant niedrigeren Blutzuckerspiegel (p < 0,01) aufweisen als die anderen Gruppen. NIDDM und IDDM zeigten ebenso einen signifikant erhöhten Blutzucker (p < 0,01) im Vergleich zu den IFG **(Abb. 36)**.

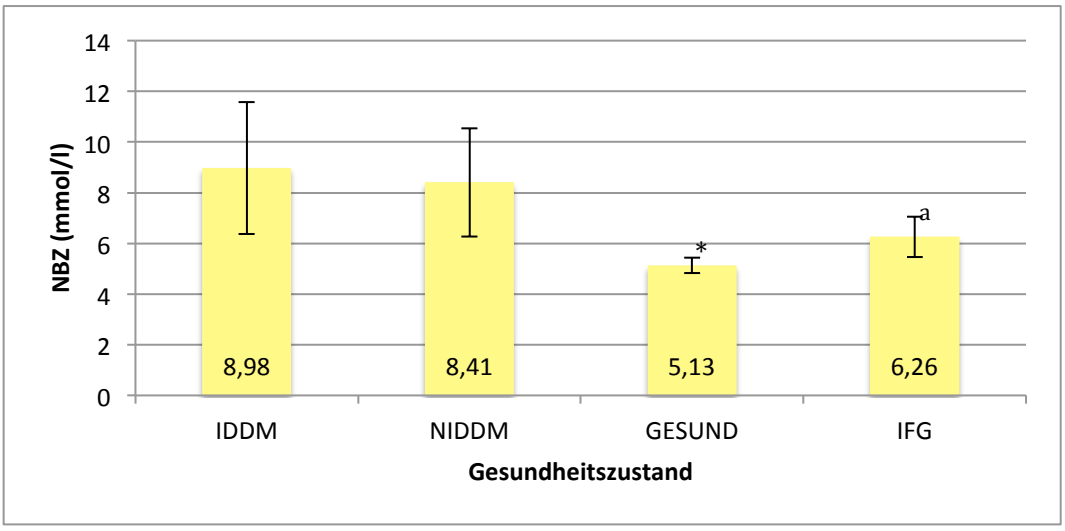

Abb. 36: NBZ in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (*p < 0,01 vs. IDDM, NIDDM; [a]p < 0,01 vs. IDDM und NIDDM)

4.9.4 Zusammenhang zwischen HbA1c und Diabetes-Therapie

Auch beim HbA1c-Wert wiesen die Gesunden einen signifikant niedrigeren HbA1c-Wert ($p < 0,01$) im Vergleich zu den anderen Probandengruppen auf. Insulinpflichtige Diabetiker konnten ebenso signifikant höhere HbA1c-Werte ($p < 0,01$) im Unterschied zu NIDDM aufweisen. Zusätzlich hatten die IFG einen signifikanten niedrigeren HbA1c im Vergleich zu IDDM und NIDDM **(Abb. 37)**.

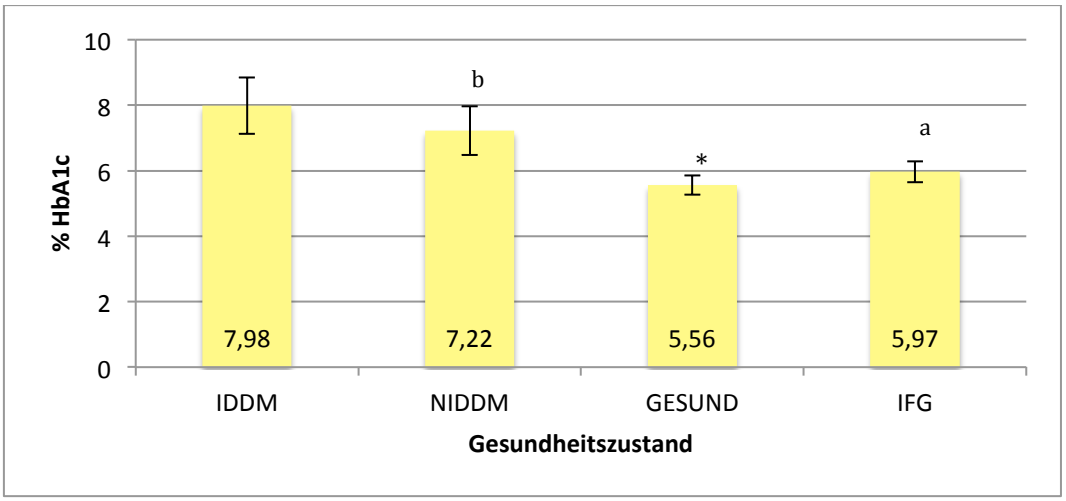

Abb. 37: HbA1c in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (*$p < 0,01$ vs. IDDM und NIDDM; [a]$p < 0,01$ vs. IDDM und NIDDM; [b]$p < 0,01$ vs. IDDM)

4.9.5 Zusammenhang zwischen BM-Index (BMI) und Diabetes-Therapie

Die Ergebnisse zeigen, dass die gesunden Probanden einen signifikant geringen BMI aufwiesen als IDDM ($p < 0,01$) und NIDDN ($p < 0,01$). Ebenso hatten die IFG einen tendenziell erhöhten BMI ($p < 0,1$) im Vergleich zu den Probanden ohne DMT2, aber einen leicht niedrigeren als IDDM und NIDDM ($p < 0,1$). Zwischen IDDM und NIDDM zeigten sich keine Differenzen **(Abb. 38)**.

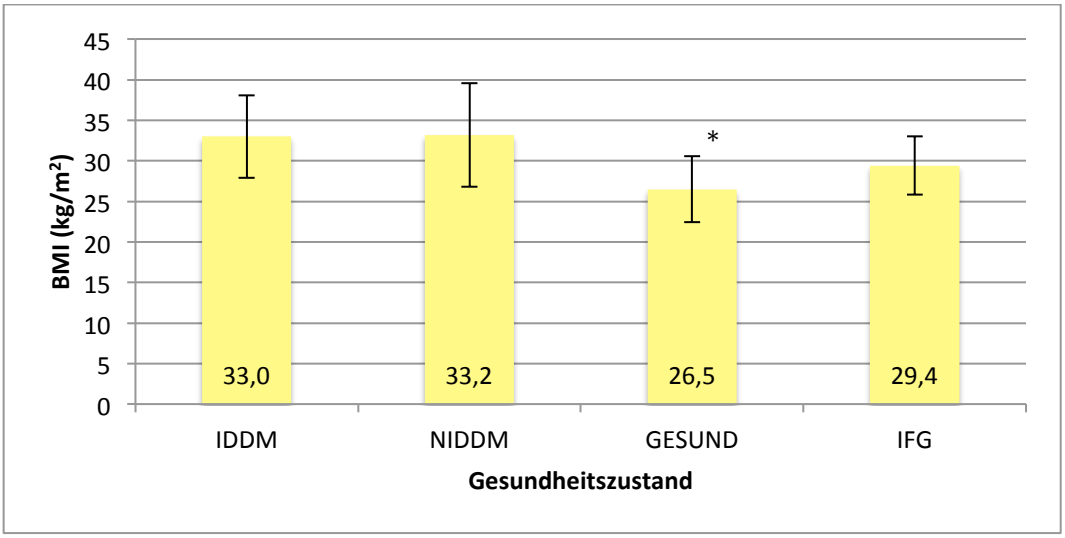

Abb. 38: BMI in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (*p < 0,01 vs. IDDM und IDDM)

5 DISKUSSION

5.1 ALTERS- UND GESCHLECHTSSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE

Schon in den 80er Jahren wiesen Fenech und Morley auf die alters- und geschlechtsspezifischen Einflüsse auf die Entstehung von MNi in den Lymphozyten von Menschen hin. Im Laufe der Jahre belegten immer mehr Studien diesen starken alters- und geschlechtsbedingten Zusammenhang mit MNi [FENECH und BONASSI, 2011].

Der altersbedingte Anstieg der MNi wird auf ein Zusammenspiel von mehreren Faktoren zurückgeführt. Einerseits spielen die Anhäufungen von Mutationen in bestimmten Gen-Abschnitten, die für die DNA-Reparatur und die Kontrolle des Zellzyklus verantwortlich sind, sowie Veränderungen der Chromosomen durch jahrelange Akkumulation von endogenen Genotoxinen eine entscheidende Rolle, andererseits werden auch Nährstoffmängel, Umweltgifte und ungesunde Lebensstilfaktoren dafür verantwortlich gemacht [FENECH und BONASSI, 2011]. Wojda et al. führen Studien an, die einen Verlust der Chromosomen in PBL, vor allem dem der Geschlechts-Chromosomen, mit dem Lebensalter beobachten konnten. Dieser altersabhängige DNA-Verlust wird in mehreren Artikeln mit einer erhöhten MN-Anzahl in Lymphozyten assoziiert [WOJDA, 2007].

Einige Autoren beschreiben einen altersbezogenen Anstieg der MNi bei beiden Geschlechtern, vor allem ab einem Alter über 70 [FENECH und BONASSI, 2011], andere wiederum beobachten das höchste Auftreten von MNi in der Altersgruppe von 60-68 Jahren und nur signifikante Veränderungen bei Männern unter 70 Jahren [WOJDA, 2007]. Ebenso liegen Daten vor, die einen signifikanten Anstieg bis zum 60. Lebensjahr und einem folgenden kleinen Rückgang der MN-Anzahl verzeichnen [BOLOGNESI, 1999].

In unserer Studie konnte keine Korrelationen zwischen Alter und Anzahl der MN-Anzahl festgestellt werden. Möglicherweise liegt der Grund dafür in der

Altershomogenität der Probanden. Männer und Frauen unter 50 Jahren hatten jedoch weniger MNi als die Probanden im höherem Lebensalter, aber nur bei den Männern konnte eine signifikante Steigerung von den unter 50-Jährigen zu den 51-60-Jährigen festgestellt werden. Bei den Frauen über 60 zeigte sich ein Rückgang der MN-Häufigkeit, wogegen bei den über 60-jährigen Männern zuerst ein Rückgang und ab 71 Jahren wieder ein kleiner Anstieg zu verzeichnen war **(Abb. 17)**.

Die Mehrheit von Studienergebnissen bestätigt eine höhere MN-Häufigkeit bei Frauen [FENECH und BONASSI, 2011; THOMAS et al., 2011]. Es wird angenommen, dass der Grund dafür im X-Chromosom liegt. Das X-Chromosom neigt eher dazu als MN verloren zu gehen als das Y-Chromosom und da Frauen zwei X-Chromosome besitzen und Männer nur eines, wird darin der geschlechtsspezifische Unterschied von DNA-Schäden vermutet [FENECH und BONASSI, 2011].

Auch in unseren Auswertungen zeigt sich eine um den Faktor 1,5 höhere MN-Anzahl bei Frauen gegenüber den Männern **(Abb. 16)**. Der geschlechtsspezifische Unterschied der MN-Häufigkeit in Zusammenhang mit dem Alter, erweist sich nur bei den unter 50- und 61-70-Jährigen als signifikant **(Abb. 17)**. Dies ist aber jedoch keine Ursache für ein erhöhtes Krebsrisiko von Frauen, denn statistisch gesehen leiden Männer häufiger an Karzinogenen [GIOVANNUCI et al., 2010; STATISTIK AUSTRIA, 2010].

Vergleichende Daten, welche die NPB-, NBUD-, und Apoptosen-Häufigkeit in den Lymphozyten mit geschlechtsspezifischen Unterschieden in Zusammenhang stellen, sind bis heute nicht bekannt. Die Ergebnisse dieser Studie deuten auf keine geschlechtsspezifischen Unterschiede dieser Parameter hin **(Abb. 15)**. Auch in Bezug auf die altersbedingten Einflüsse bei NPBS und NBUDs wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden **(Abb. 18, Abb. 19)**. Es zeigte sich jedoch, dass die Probanden unter 50 Jahren die niedrigste NPB-Anzahl aufwiesen. Eine weitere Beobachtung war, dass die Frauen unter 50 signifikant niedrigere Apoptosen hatten als alle anderen Frauen in den höheren Altersgruppen. Die Ergebnisse lassen somit auf eine altersbedingte Steigerung der Apoptosen-Anzahl schließen. Im geschlechtsspezifischen Vergleich konnte die Tendenz beobachtet werden, dass Frauen in der jüngsten

Altersgruppe weniger und in der ältesten Altersgruppe mehr Apoptosen als Männer aufweisen (**Abb. 20**).

Mangelnde Daten von alters- und geschlechtsspezifischen Unterschieden in den Lymphozyten erschweren in gleicher Weise die Interpretation der Ergebnisse in Bezug auf Nekrosen. Die Ergebnisse der Studie lassen auf einen altersbezogenen Anstieg der Nekrosen-Häufigkeit bei den Frauen schließen, wobei bei Männern keine relevanten Veränderungen zu beobachten waren.

5.2 ERGEBNISSE MNi

Die Coenzyme Folsäure und Vitamin B12 spielen durch ihre Übertragung von Methylgruppen eine wichtige Rolle im DNA-Metabolismus. Im Falle eines Folsäuremangels akkumuliert dUMP und führt dazu, dass Uracil anstatt Thymin in die DNA eingebaut wird. Dies führt zu Punktmutationen und im weiteren Sinne zu Chromosomenschäden. Bei einem Vitamin B12 Mangel kommt es ähnlich wie bei einem Folsäuremangel zu einem vermehrten Einbau von Uracil [THOMAS et al, 2011]. Interventionsstudien konnten zeigten, dass die MNi-Bildung durch Supplementation von Folat und/oder Vitamin B12 minimiert wurde [FENECH et al, 2002].

Bisher veröffentlichte Studien konnten keine signifikanten Korrelationen zwischen der Folsäure- jedoch aber mit der Vitamin B12-Konzentration und dem MN-Vorkommen beobachten [FENECH et al., 1997 (A); FENECH et al., 1999]. Anhand einer Untersuchung konnte festgestellt werden, dass Probanden mit einem niedrigeren Folsäurestatus um 39% mehr MNi aufwiesen als diejenigen mit einer mittleren Folsäurekonzentration [SMOLKOVA et al., 2004]. Ein ähnliche Studie konnte bei Männer im Alter zwischen 50-70 Jahren mit suboptimalen Blutwerten von Folsäure (<140 ng/nl Erythrozyten), Vitamin B12 (<200 ng/l) oder Hcy (10 µmol/l) signifikant höhere MNi belegen [FENECH et al., 1997 (A)]. Diese Zusammenhänge konnten jedoch im Zuge dieser Studie nicht bestätigt werden. Bei dem Vergleich zwischen Probanden

mit einer niedrigen (<140 ng/ml) und einer normalen (>140 ng/ml) Folsäurekonzentration in den Erythrozyten konnten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die MN-Häufigkeit beobachtet werden. Beim Vergleich von Probanden mit einer Vitamin B12-Konzentration im Serum unter 200 ng/l mit denjenigen mit einer Konzentrationen über 200 ng/l, wurden keine höheren MN-Werte festgestellt. Im Falle von suboptimalen Konzentrationen von einer der beiden Vitamine lagen ebenfalls keine signifikanten Abweichungen im Vergleich zu den Testpersonen vor, die optimale Vitaminkonzentrationen von Vitamin B12 und Folsäure aufzeigten konnten. Jedoch ist zu beachten, dass nur 27 von 79 Probanden optimale Konzentrationen beider Vitamine aufweisen konnten.

Diese Studie bekräftigt bisherige Forschungsergebnisse von Fenech et al, die keine signifikanten Korrelationen zwischen der MN-Häufigkeit und der Folsäurekonzentration belegen konnten. In diesen wird auch auf eine negative Korrelation zwischen Vitamin B12 und der MN-Häufigkeit hingewiesen. Diese These kann jedoch in unserer Studie nicht belegt werden **(Abb. 22)** [FENECH et al., 1997 (A); FENECH et al., 1999].

Everson et al. beobachteten, dass die Folsäurekonzentration in den Erythrozyten 600 ng/ml betragen muss, um eine Reduktion von MNi zu erzielen [EVERSON et al., 1988]. Eine ähnliche Studie von Fenech et al. konnte eine reduzierte MN-Häufigkeit ab einer Folsäurekonzentration von 313 ng/ml in den Erythrozyten feststellen. Diese Konzentrationen wurden jedoch nur mit 3,5fach höherer Aufnahme der derzeitigen RDAs erreicht [FENECH et al., 1998] und sind somit nur mit einer Aufnahme von Supplementen zu erzielen. Im Falle der vorliegenden Studie konnten jedoch nur 3 von 115 Probanden Folsäurekonzentrationen über 313 ng/ml aufweisen. Die restlichen Testpersonen zeigten Messwerte zwischen 40,5 und 299,9 ng/ml Folsäure in den Erythrozyten (durschnittlich 140,8 ± 87,3 ng/ml).

Folsäure und Vitamin B12 werden ebenso für die Remethylierung von Hcy benötigt. Anhand einer Untersuchung wurde festgestellt, dass männliche Probanden mit einer

Hcy-Konzentration (>10 µmol/l), unabhängig von deren Folsäure- und Vitamin B12-Konzentration, signifikant höhere MNi hatten [FENECH et al, 1997]. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie konnten diesen Zusammenhang nicht belegen **(Abb. 22)**. Der mögliche Grund dafür konnte sein, dass nur eine geringe Probandenanzahl (21 von 111) eine Konzentrationen unter 10 µmol/l Hcy aufweisen konnten. Die durchschnittliche Hcy-Konzentration der Probanden betrug 12,6 ± 2,9 µmol/l.

5.3 ERGEBNISSE NPBs, NBUDs, APOPTOSEN UND NEKROSEN

Weitere Beobachtung dieser Studie waren, dass NPBs mit NBUDs **(Abb. 24)** und Apoptosen **(Abb. 25)**, NBUDs mit Nekrosen **(Abb. 28)** und Apoptosen **(Abb. 27)** und Apoptosen mit Nekrosen **(Abb. 30)** signifikant korrelieren. Nach heutigem Wissenstand gibt es noch wenige Erkenntnisse über die Zusammenhänge dieser Parameter zueinander. Der genaue Entstehungsmechanismus von NBUDs und NPBs ist ebenso wenig geklärt wie deren Auslösungsfaktoren. Dadurch wir die Interpretation unserer Daten erschwert. Es zeigt sich jedoch anhand dieser Studie, dass MNi nicht im Zusammenhang mit NBUDs, NPBs, Apoptosen und Nekrosen zu stehen scheinen.

5.4 EINFLUSS DER DIABETESTHERAPIE

Es liegen starke Vermutungen vor, dass DMT2-Patienten ein erhöhtes Krebsrisiko haben. Nach intensiven Forschungen auf diesem Gebiet konnten dies zwar nicht alle Studien bestätigen, jedoch lässt die Mehrheit der Ergebnisse auf einen deutlichen Zusammenhang schließen [BAUR et al., 2010; VIGNERI et al., 2009]. Die Wissenschaft stellt zur Zeit nur Hypothesen auf und ist sich über die genauen Faktoren, noch im Unklaren. Als wahrscheinliche Auslöser werden Faktoren angenommen, die im Zusammenhang mit DMT2 stehen wie z.B. Hyperinsulinämie, Hyperglykämie, Insulinresistenz, erhöhter oxidativer Stress und chronische Entzündungen, gesteigerte

Fettsäuresynthease-Expression sowie Antidiabetika [VIGNERI et al., 2009]. Abgesehen davon, ist Krebs eine sehr komplexe Krankheit, die ebenso im engen Zusammenhang mit Lebensalter, Übergewicht und Adipositas [BAUR et al., 2010], genetischer Prädisposition, aber auch mit Lebensstil- und Umweltfaktoren steht [VIGNERI et al., 2009].

Epidemiologischen Studien zur Folge wird IDDM-Patienten ein erhöhtes Krebsrisiko zugeschrieben. Diese Ergebnisse sind jedoch kritisch zu betrachten, da meist Confounder wie der BMI, die Menge an Insulin, glykämische Kontrolle sowie Dauer der Krankheit nicht berücksichtigt wurden [GIOVANNUCCI et al., 2010].

Die Daten über orale Antidiabetika liefern in Bezug auf das Krebsrisiko kontroverse Aussagen. Die meisten Untersuchungen wurden mit Metformin durchgeführt und lassen auf die Senkung des Krebsrisikos schließen. Studienergebnisse mit Thiazolidindione, Sulfunylharnstoffen und Gliptine sind kaum vorhanden und diese vorhandenen sehr widersprüchlich.

Ziel dieser Studie war es, Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (IDDM, NIDDM, GESUNDE und IFG) hinsichtlich der Parameter des CBMN-Assay zu untersuchen. Es wurden signifikante Unterschiede bei der Nekrosen-Anzahl, dem BMI (**Abb. 38)**, NBZ und HbA1c zwischen den Gruppen festgestellt, jedoch zeigten sich in Bezug auf die **MN- (Abb. 34), NBP-, NBUD-** und **Apoptosen-Anzahl** keine signifikanten Gegensätze.

Bis zu diesem Zeitpunkt sind nur zwei Studien aus Mexiko veröffentlicht, die einen Unterschied in der Zahl der MNi zwischen DMT2 und gesunden Probanden untersuchten. Das Ergebnis der einen Studie ist jedoch kritisch zu hinterfragen, da diese nur eine sehr geringe Probandenanzahl (15 DMT2 und 10 Nicht-Diabetiker) aufweisen konnte [MARTÍNEZ-PÉREZ et al., 2007]. Die andere Studie zeigte ebenso eine erhöhte Anzahl an MNi bei DMT2 und DMT1 im Vergleich zu gesunden Probanden, allerdings wurden hier die MNi in der Mundschleimhaut und nicht wie in dieser Studie in den Lymphozyten gemessen [ZÚÑIGA-GONZÁLEZ et al., 2007]. Möglicherweise

zeigten unsere Probanden keine erhöhten MNi-Werte, da diese sehr guten glykämischen Kontrollen aufweisen konnten.

Wie zu erwarten, waren der **NBZ** und der **HbA1c**-Wert bei allen Gruppen im Gegensatz zu den gesunden Probanden höher. Die IDDM wiesen eine schlechtere glykämische Kontrolle auf als die NIDDM **(Abb. 36**, **Abb. 37)**. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Es wird angenommen, dass erhöhte Blutzuckerwerte das Krebsrisiko fördern. Als möglicher Grund werden die Beeinträchtigung der Ascorbinsäure und die immunsenkenden Eigenschaften durch die erhöhten Glukosewerte im Blut vermutet [VIGNERI et al., 2009].

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten signifikante Unterschiede in Bezug auf den **BMI**. IDDM und NIDDM zeigten signifikant und IFG einen tendenziell höheren BMI auf als die gesunden Probanden. Die Gruppe der IDDM und NIDDM verfügten über einen durchschnittlichen BMI über 33 und liegen damit im adipösen Bereich **(Abb. 38)**. 80% der DMT2 gelten als fettleibig [VIGNERI et al., 2009], und da Adipositas ebenso mit einem erhöhten Krebsrisiko assoziiert wird, ist es schwierig zu erkennen, von welchen der beiden Ursachen ein höheres Krebsrisiko ausgeht.

Ein gesundheitsspezifischer Unterschied wurde für Nekrosen nachgewiesen. Die gesunden Probanden zeigten um den Faktor 1,6 signifikant niedrigere Nekrosen als die Gruppe der NIDDM **(Abb. 35)**. Aufgrund mangelnder Vergleiche ist dieses Ergebnis jedoch schwer zu interpretieren.

6 SCHLUSSBETRACHTUNG

Das Ziel dieser Studie war, das Auftreten von MNi bei DMT2-Patienten (IDDM-T2DM und NIDDM) mit gesunden Probanden zu vergleichen und mögliche Einflüsse der Diabetestherapie auf die Parameter des CBMN-Assays zu messen.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die Stoffwechselerkrankung DMT2 keinen Einfluss auf die Anzahl an MNi hat. Der Grund dafür könnte die gute glykämische Kontrolle unserer DMT2-Patienten sein. Gleich einer Studie von Fenech et al., lassen unsere Resultate ebenso auf keinen Korrelation der MN-Häufigkeit mit der Folsäurekonzentration in den Erythorzyten schließen. Allerdings konnte nicht belegt werden, dass niedrigere Hcy-Werte mit einer Reduktion der MNi einhergehen.

Bis auf die Nekrosen-Häufigkeit zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei den Messwerten des CBMN-Assay von Erkrankten im Vergleich zu den Gesunden. Das Auftreten von Nekrosen war bei NIDDM signifikant höher als bei den gesunden Testpersonen. Jedoch erschweren fehlende Studienvergleiche die Interpretation dieses Ergebnisses.

Des Weiteren konnten die Aussagen anderer Studienergebnisse bekräftigt werden, die ein gesteigertes MN-Vorkommen bei Frauen feststellten. Bei allen anderen Parametern des CBMN-Assay wurden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede gefunden. Bei beiden Geschlechtern wiederum, zeigte sich die geringste Anzahl an MNi im Alter unter 50 Jahren. Allerdings konnte ein altersbezogener Anstieg der MNi wahrscheinlich aufgrund der homogenen Altersklasse nicht bestätigt werden. Eine weitere Erkenntnis war, dass NPBs mit NBUDs und Apoptosen, NBUDs mit Nekrosen und Apoptosen sowie Nekrosen mit Apoptosen in Korrelation zueinander stehen. Hierzu fehlt es jedoch an weiteren Studien, die eine Interpretation dieser Resultate ermöglichen.

7 ZUSAMMENFASSUNG

Eine der häufigsten Stoffwechselerkrankung unserer Generation ist DMT2. Laut Schätzungen der WHO wird die Anzahl der Erkrankten weltweit bis 2030 auf 7,7% der Erwachsenen ansteigen und somit enorme Summen des Gesundheitsbudgets verbrauchen. Der Großteil bisheriger wissenschaftlicher Untersuchungen deutet ebenso auf ein gesteigertes Krebsrisiko und eine erhöhte Mortalität der erkrankten Personen hin.

Diese Arbeit stellt einen Teil der DIAPLANT-Studie dar, deren Ziel es war zu Studienbeginn, anhand der Parameter des CBMN-Assay (MNi, NBUDs, NPBs, Apoptosen und Nekrosen) in den Lymphozyten, Unterschiede zwischen den Gruppen (IDDM, NIDDM, GESUND, IFG) festzustellen und mögliche Einflüsse der Diabetes-Therapie zu beobachten. Der CBMN-Assay hat sich im Laufe der Jahre zu einer sehr geeigneten, günstigen und schnellen Methode entwickelt um DNA-Schäden wie Chromosomen-Brüche und –Verluste zu messen.

Die Ergebnisse zeigten, dass Frauen signifikant höhere MN-Anzahlen (Faktor 1,5) im Vergleich zu Männern aufwiesen. Aufgrund der Altershomogenität konnte keine signifikante Korrelation des Lebensalters mit MNi beobachtet werden. Jedoch wurden in der jüngsten Altersgruppe (<50 Jahren) der Probanden die geringste Anzahl an MNi verzeichnet. Des Weiteren zeigten MNi keine Korrelationen mit Folsäure, Vitamin B12 und Hcy. Die Hypothese, dass die Diabetes-Therapie einen Einfluss auf die Parameter des CBMN-Assay nimmt, konnte im Zuge dieser Studie nicht bestätigt werden. Nach heutigem Wissenstand ist es schwierig die signifikanten Korrelationen zwischen NPBs mit NBUDs und Apoptosen, NBUDS mit Nekrosen und Apoptosen und Apoptosen mit Nekrosen zu interpretieren, da bisher noch keine Erkenntnisse über deren Entstehungsmechanismen und Auslösungsfaktoren vorliegen.

8 SUMMARY

One of the most common metabolic diseases of our generation is DMT2. According to predictions from the WHO, the number of people suffering from DMT2 will increase worldwide by 7.7% until 2030 and thus will lead to enormous expenses for the health care system. The majority of previous scientific studies suggest an increased risk of cancer and increased mortality rate of diabetics.

This work is part of the DIAPLANT study, and investigates differences between IDDM-, NIDDM-, HEALTHY- and IFG- subjects in parameters of the CBMN assay (MNI, NBUDs, NPBs, apoptosis and necrosis) in lymphocytes. Furthermore potential effects of diabetes therapy on number of Mni was studied. The CBMN-Assay is one of the most effective methods for measuring DNA damage such as chromosome breaks and losses.

The results have shown that women have significantly higher MN frequency (1.5 times higher) compared to men. No correlations were observed between age and MNi frequency, which might be due to the homogenous age distribution. Furthermore MNi showed no correlations with blood levels of folic acid, vitamin B12, and Hcy. The hypothesis that the diabetes therapy does have an impact on the parameters of the CBMN assay could not be confirmed in this study. According to current data, it is difficult to interpret the results of the significant correlations between NPBs with NBUDs and apoptosis, NBUDs with necrosis and apoptosis and apoptosis with necrosis because the knowledge about their mechanisms are uncertain.

9 LITERATURVERZEICHNIS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care 2010; 33: 62-69.

ASTLEY S, ELLIOT R, ARCHER D, SOUTHON S. Evidence that dietary supplementation with carotenoids and carotenoid-rich foods modulates the DNA damage: repair balance in human lymphocytes. British Journal of Nutrition 2004; 91: 63-72.

BAUR D, KLOTSCHED J, HAMNVIK O, SIEVERSG C, PIEPERD L, WITTCHEND H, STALLA G, SCHMID R, KALES S, MANTZOROS C. Type 2 diabetes mellitus and medications for type 2 diabetes mellitus are associated with risk for and mortality from cancer in a German primary care cohort. Metabolism clinical and experimental 2010;

BENNER S E, WARGOVICH M J, LIPPMAN S M, FISHER R, VELASCO M, WINN R J, HONG W K. Reduction in oral mucosa micronuclei frequency following alpha-tocopherol treatment of oral leukoplakia. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1994; 3: 73–76.

BJELAKOVIC G, NIKOLOVA D, GLUUD LL, SIMONETTI RG, GLUUD C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. JAMA 2007; 297: 842-857.

BONASSI S, EL-ZEIN R, BOLOGNESI C, FENECH M. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. Mutagenesis 2011; vol. 26 no. 1: 93-100.

BONASSI S, ZNAOR A, CEPPI M, LANDO C, CHANG W P, HOLLAND N, KIRSCH-VOLDERS M, ZEIGER E, BAN S, BARALE R, BIGATTI M P, BOLOGNESI C, CEBULSKA-WASILEWSKA A, FABIANOVA E, FUCIC A, HAGMAR L, JOKSIC G, MARTELLI A, MIGLIORE L, MIRKOVA E, SCARFI M R, ZIJNO A, NORPPA H, FENECH M. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. Carcinogenesis 2007; vol. 28 no. 3: 625-631.

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG, ÖSTERREICHISCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG, SCHWEIZERISCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSFORSCHUNG, SCHWEIZERISCHE VEREINIGUNG FÜR ERNÄHRUNG. Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr 1. Auflage. In: Organische Bestandteile, Anorganische Bestandteile (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V. (DGE) et al.). Umschau Braus GmbH, Verlagsgesellschaft. Frankfurt am Main, 2008; 23 – 209.

CEPPI M, GALLO F AND BONASSI S. Study design and statistical analysis of data in human population studies with the micronucleus assay. Mutagenesis 2011; vol. 26 no. 1: 247-252.

COLLINS A, HARRINGTON V. Repair of oxidative DNA damage: assessing ist contribution to cancer prevention. Mutagenesis 2002; vol. 17 no. 6: 489-493.

COUGHLIN S S, CALLE E E, TERAS L R, PETRELLI J, THUN M J. Diabetes mellitus as a predictor of cancer mortality in a large cohort of US adults. American Journal of Epidemilogy 2004; 156: 1160-1167.

CROTT J W, FENECH M. Effect of vitamin C supplementation on chromosome damage, apoptosis and necrosis ex vivo. Carcinogenesis 1999; 20: 1035–1041.

CURRIE C J, POOLE C D, GALE E A M. The influence of glucose-lowering therapies on cancer risk in type 2 diabetes. Diabetologia 2009; 52: 1766-1777.

EL-ZEIN R, VRAL A, ETZEL C J. Cytokinesis-blocked micronucleus assay and cancer risk assessment. Mutagenesis 2011; vol. 26. no. 1: 101-106.

ELMADFA I, PARK E. Impact of diets with corn oil or olive/sunflower oils on DNA damage in healthy young men. European Journal of Nutrition 1999; vol. 38: 286-292.

EVERSON R B, WEHR C M, EREXSON G L, MC GREGOR J T. Assoziation of marginal folate depletion with increased human chromosomal damage in vivo: demonstration by analysis of micronucleated erythrocytes. Journal of the National Cancer Institute 1988; 80: 525-529.

FENECH M, AITKEN C, RINALDI J. Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. Carcinogenesis 1998; 19: 1163–1171.

FENECH M, BAGHURST P, LUDERER W, TURNER J, RECORD S, CEPPI M, BONASSI S. Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, {beta}-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability—results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. Carcinogenesis 2005; 26: 991–999.

FENECH M, BONASSI S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. Mutagenesis 2011, vol. 26 no. 1: 43-49.

FENECH M, DREOSTI I E, RINALDI J R. (A) Folate, vitamin B12, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men. Carcinogenesis 1997; 18: 1329–1336.

FENECH M, DREOSTI I, AITKEN C. (B) Vitamin-E supplements and their effect on vitamin-E status in blood and genetic damage rate in peripheral blood lymphocytes. Carcinogenesis 1997; 18: 359–364.

FENECH M, KIRSCH-VOLDERS M, NATARAJAN A T, SURRALLES J, CROTT J W, PARRY J, NORPPA H, EASTMOND D A, TUCKER J D, THOMAS P. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. Mutagenesis 2011; vol. 26 no. 1: 125-132.

FENECH M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a „cytome“ assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. Mutation Research 2006; 600: 58 – 66.

FENECH M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nature Protocols 2007; vol.2 no.5: 1084 – 1104.

FENECH M. Genome health nutrigenomics and nutrigenetics – diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. Food and Chemical Toxicology 2008; 46: 1365-1370.

FENECH M. Micronutrients and genomic stability: a new paradigm for recommended dietary allowances (RDAs). Food and chemical toxicology: (an international journal published for the British Industrial Biological Research Association) 2002; 40(8): 1113-7.

GAZIEV A I, SOLOGUB G R, FOMENKO L A, ZAICHKINA S I, KOSYAKOVA N I, BRADBURY R J. Effect of vitamin-antioxidant micronutrients on the frequency of spontaneous and in vitro gammaray- induced micronuclei in lymphocytes of donors: the age factor. Carcinogenesis 1996; 17: 493–499.

GIOVANNUCCI E, HARLAN D M, ARCHER M C, BERGENSTAL R M, GAPSTUR S M. Diabetes and Cancer. Diabetes Care 2010; 33: 1674-1685.

GODSLAND I. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in the development and progression of cancer. Clinical Science 2010; 118: 315-332.

KASPER H. Diabetes mellitus. In: Ernährungsmedizin und Diätetik, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, München. 2004, 277-299.

KEY T J, SCHATZKIN A, WILLETT W C, ALLEN N E, SPENCER E A, TRAVIS R C. Diet , nutrition and the prevention of cancer. Public Health 2004; 7: 187-200.

LAL A and AMES B N. Association of chromosome damage detected as micronuclei with hematological diseases and micronutrient status. Mutagenesis 2011; vol. 26 no. 1: 57-62.

LÖFFLER G. Regulation des Intermediärstoffwechsels. In: Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie. Springer Verlag, Heidelberg, 2008. 348-355.

LOFT S, MØLLER P, COOKE M, ROZALSKI R, OLINSKI R. Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker?. European Journal of Nutrition 2008; vol. 47, suppl. 2: 19-28.

LUDVIK B, FASCHING P, LECHLEITNER M, ELCIC-MIHALJEVIC K, PRAGER R, REICHENBERGER R, WEITGASSER R, Therapie von Diabetes Mellitus, Diabetes und seine Folgen verstehen, (MedMedia Verlags- und Mediaserive GesmbH), Maierhofer Wolfgang, Wien 2007, 44-54.

MARTÍNEZ-PÉREZ L M, CERDA-FLORES R M, GALLEGOS-CABRIALES E C, DÁVILA-RODRÍGUEZ M I, IBARRA-COSTILLA E, CORTÉS-GUTIÉRREZ E I. Frequency of micronuclei in Mexicans with type 2 diabetes mellitus. Prague Medical Report 2007; vo. 108 no.3: 248-255.

MIGLIORE L, MOLINU S, NACCARATI A, MANCUSO M, ROCCHI A, SICILIANO G. Evaluation of cytogenetic and DNA damage in mitochondrial disease patients: effects of coenzyme Q10 therapy. Mutagenesis 2004; 19: 43–49.

MØLLER P, LOFT S. Dietary antioxidants and beneficial effect on oxidatively damaged DNA (Review Article). Free Radical Biology & Medicine 2006; 41: 388-415.

MØLLER P, LOFT S. Interventions with antioxidants and nutrients in relation to oxidative DNA damage and repair (Review). Mutation Research 2004; 551: 79-89.

ÖSTERREICHISCHE GESELLSCHAFT FÜR DIABETES. Diabetes Dunkelziffer von 30% verursacht unnötiges Leid und Kosten. Presseaussendung, 2011.

ROGLIC G, UNWIN N. Mortality Attributable to Diabetes: Estimates for the Year 2010. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas 4th edition 2010; 1-28.

ŞARDAŞ S, YILMAZ M, ÖZTOK U, ÇAKIR N, KARAKAYA A E. Assessment of DNA strand breakage by comet assay in diabetic patients and the role of antioxidant supplementation. Mutation Research 2001; 490: 123-129.

SCHNEIDER M, DIEMER K, ENGELHART K, ZANKL H, TROMMER W E, BIESALSKI H K. Protective effects of vitamins C and E on the number of micronuclei in lymphocytes in smokers and their role in ascorbate free radical formation in plasma. Free Radic. Res. 2001; 34: 209–219.

SHAW J E, SICREE R A, ZIMMET P Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Research and clinical practice, 2010, 87: 4-14

SMOLKOVA B, DUSINSKA M, RASLOVA K, BARANCOKOVA M, KAZIMIROVA A, HORSKA A, SPUSTOVA V, COLLINS A. Folate levels determine effect of antioxidant supplementation on micronuclei in subjects with cardiovascular risk. Mutagenesis 2004; 19: 469–476.

STOPPER H, MEYSEN T, BOCKENFORDE A, BAHNER U, HEIDLAND A, VAMVAKAS S. Increased genomic damage in lymphocytes of patients before and after long-term maintenance hemodialysis therapy. Am. J. Kidney Dis. 1999; 34: 433–437.

STOPPER H, TREUTLEIN A T, BAHNER U, SCHUPP N, SCHMID U, BRINK A, PERNA A, HEIDLAND A. Reduction of the genomic damage level in haemodialysis patients by folic acid and vitamin B12 supplementation. Nephrol. Dial. Transplant. 2008; 23: 3272–3279.

THOMAS P, WU J, DHILLON V, FENECH M. Effect of dietary intervention on human micronucleus frequency in lymphocytes and buccal cells. Mutagenesis 2011; vol. 26 no. 1: 69-76.

UMEGAKI K, IKEGAMI S, INOUE K, ICHIKAWA T, KOBAYASHI S, SOENO N, TOMABECHI K. Beta-carotene prevents x-ray induction of micronuclei in human lymphocytes. Am. J. Clin. Nutr. 1994; 59: 409–412.

VIGNERI P, FRASCA F, SCIACCA L, PANDINI G, VIGNERI R. Diabetes and Cancer. Endocrine-Related Cancer 2009; 16: 1103-1123.

WORLD HEALTH ORGANISATION (2011): Diabetes Fact sheet N°312, URL: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html. Zugriff: 13.02.2011

WU J, SALISBURY C, GRAHAM R, LYONS G, FENECH M. Increased consumption of wheat biofortified with selenium does not modify biomarkers of cancer risk, oxidative stress, or immune function in healthy Australian males. Environ. Mol. Mutagen. 2009; 50: 489–501.

ZHANG P, ZHANG X, BETZ BROWN J, VISTISEN D, SICREE R A, SHAW J, NICHOLS G A. Economic impacts of Diabetes. International Diabetes Federation 2010, 4, 1-28.

ZÚÑIGA-GONZÁLEZ G M, BATISTA-GONZÁLEZ C M, GÓMEZ-MEDA B C, RAMOS-IBARRA M L, ZAMORA-PEREZ A L, MUÑOZ-MAGALLANES T, RAMOS-VALDÉS C, GALLEGOS-ARREOLA M P. Micronuclei in diabetes: folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. Mutation Research 2007; 634: 126-134.

10 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Grenzwerte für IFG, IGT und HbA1c im Blut [ADA, 2010] 4

Abb. 2: Anstieg der DM-Rate in Industrieländern bis 2030 [Shaw et al., 2010] 5

Abb. 3: Spätschäden und Komplikationen von DM [RIEDER et al., 2004] 7

Abb. 4: Meist verwendeten oralen Antidiueretika bei DMT2 [VIGNERI et al., 2009]..... 9

Abb. 5: Mögliche direkte oder indirekte Krebsrisikofaktoren bei DMT2 [VIGNERI et al., 2009]..... 12

Abb. 6: Entstehung von MNi, NBUDs, NPBs, Apoptosen und Nekrosen [FENECH, 2006] 17

Abb. 7: Prozentuale Variation der Rate des genomischen Schadens nach der Statusbestimmung von Vitamin E, Calcium, Folat, Retinol, Nicotinsäure, Beta-Carotin, Riboflavin, Pantothensäure und Biotin im mittleren und höchsten Tertil im Vergleich zum niedrigsten Tertil. Genomischer Schaden wurde in PBL mit CBMN assay gemessen [FENECH, 2008]..... 23

Abb. 8: Das Konzept der Gen-Ernährungs- und Gen-Toxin-Interaktion und deren Einfluss auf unterschiedliche gesundheitliche Schäden [FENECH, 2002] 24

Abb. 9: Interventionsstudien, die den Mikronährstoffstatus in Relation zur MN-Häufigkeit in Lymphozyten untersuchen. RDI = „Recommended daily intake“: Folsäure 400 µg, Vitamin B12 6 µg, Vitamin C 75 mg, Vitamin E/Tocopherol 10 mg, Selen 35 µg, Coenzym Q10 30-200 mg, Beta-Carotin 10 mg, Zink 15 mg, Rutin 1000-3000 mg. [THOMAS et al., 2011] D-A-CH-Referenzwerte der DGE,ÖGE,SGE/SVE: Folsäure 400 µg/d, Vitamin B12 3 µg/d, Vitamin C 100 mg/d, Vitamin E 12-15 mg Tocopheroläquivalent/d, Selen 30-70 µg/d, Beta-Carotin 6 mg/d, Zink 10 mg..... 27

Abb. 10: Folsäuremetabolismus. SAM (S-Adenosylmethionin), MTRR (Methionin Synthase-Reduktase), MTR (Methioninsynthase), SHMT (Serin Hydrohymethyltransferase), THF (Tetrahydrofolat), DHF (Dihydrofolat), FTL (Format-Tetrahydrofolat-Ligase), dUMP (Deoxyuridin Monophosphat), dTMP (Deoxythymidin Monophosphat), Cob(I) (reduzierte Form von Vitamin B12), Cob(III) (oxidierte Form von Vitamin B12) [THOMAS et al., 2011] 29

Abb. 11: Anzahl und Alter der Probanden der DIAPLANT- und GILBERT-SYNDROM-Studie 36
Abb. 12: Verwendete Materialien für den CBMN-Assay 37
Abb. 13: Zählkriterien des CBMN-Assay 43
Abb. 14: Deskriptive Statistik der Probanden 44
Abb. 15: Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der Parameter des CBMN-Assays zu Studienbeginn 45
Abb. 16: Geschlechtsspezifische Unterschiede hinsichtlich der MN-Häufigkeit (*p < 0,01 vs. Männer) zu Studienbeginn 45
Abb. 17: Altersspezifische Unterschiede der MN-Häufigkeiten bei Männern und Frauen (*p < 0,05 vs. 51-60 Männer; [a]p < 0,05 vs. <50 Männer; [b]p < 0,01 vs. 61-70 Männer) .. 46
Abb. 18: Altersspezifische Unterschiede der NPB-Häufigkeit bei Männern und Frauen 47
Abb. 19: Altersspezifische Unterschiede der NBUD-Häufigkeit bei Männer und Frauen 47
Abb. 20: Altersspezifische Unterschiede der Apoptosen-Häufigkeit bei Männern und Frauen (*p < 0,05 vs. 51-60 und 61-70 Frauen ; *p < 0,01 vs. >71 Frauen ; [a]p < 0,05 vs. >71 Frauen) 48
Abb. 21: Altersspezifische Unterschiede der Nekrosen-Häufigkeit bei Männern und Frauen (*p < 0,05 vs. 61-70 Frauen; *p < 0,01 vs. >71 Frauen; *p < 0,05 < 50 Männer; [a]p < 0,01 vs. >71 Frauen) 49
Abb. 22: Korrelationen der MNi mit anderen relevanten Parametern 50
Abb. 23: Korrelationen der NPBs mit anderen relevanten Parametern 51
Abb. 24: Korrelation zwischen NPB-Häufigkeit und NBUD-Auftreten (r^2 = 0,485; p < 0,01) 52
Abb. 25: Korrelation zwischen NPB-Häufigkeit und Nekrosen-Auftreten (r^2 = 0,162; p < 0,01) 52
Abb. 26: Korrelationen der BUDs mit anderen relevanten Parametern 53
Abb. 27: Korrelation zwischen NBUD-Häufigkeit und Apoptosen-Auftreten (r^2 = 0,198; p < 0,05) 54

Abb. 28: Korrelation zwischen NBUD-Häufigkeit und Nekrosen-Auftreten (r^2 = 0,465; p < 0,05) 54
Abb. 29: Korrelationen der Apoptosen mit anderen relevanten Parametern 55
Abb. 30: Korrelation zwischen Apoptosen-Häufigkeit und Nekrosen-Auftreten (r^2 = 0,595; p < 0,01) 56
Abb. 31: Korrelationen der Nekrosen mit anderen relevanten Parametern 57
Abb. 32: Korrelation Nekrosen-Häufigkeit mit der Vitamin B12-Konzentration (r^2 = 0,232; p < 0,05) 58
Abb. 33: Deskriptive Statistik der Untersuchungsgruppen 58
Abb. 34: MN-Häufigkeit in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen 59
Abb. 35: Nekrosen-Häufigkeit in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (*p < 0,05 vs. NIDDM) 60
Abb. 36: NBZ in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (*p < 0,01 vs. IDDM, NIDDM; [a]p < 0,01 vs. IDDM und NIDDM) 60
Abb. 37: HbA1c in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (*p < 0,01 vs. IDDM und NIDDM; [a]p < 0,01 vs. IDDM und NIDDM; [b]p < 0,01 vs. IDDM) 61
Abb. 38: BMI in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (*p < 0,01 vs. IDDM und IDDM) 62

CURRICULUM VITAE

PERSÖNLICHE DATEN

Name:	Sonja Adrigan
Geburtsdatum:	23.12.1984
Familienstand:	ledig

AUSBILDUNG

10/2004 - 7/2011	Studium Ernährungswissenschaften/Universität Wien
9/99 - 6/04	Höhere Lehranstalt für wirtschaftliche Berufe . Wr. Neustadt, Matura
04 9/95 - 6/99	Bundesrealgymnasium Babenbergerring Wiener Neustadt
9/91 - 6/93	Volksschule Weikersdorf

BERUFSERFAHRUNGEN UND PRAKTIKA

09/09 – 10/09	Laborpraktikum am IfEW der Universität Wien “Kultivierung von Caenorhabditis elegans (3 Wochen)
07/09 – 08/09	Praktikum zur Gesundheitsförderung von Kindern und Jugendlichen in Spital am Pyhrn
08/08 – 09/08	Praktikum zur Gesundheitsförderung von Kindern und Jugendlichen in Spital am Pyhrn
05/08 – 06/08	Praktikum am IfEW der Universität Wien im Bereich Ernährungs- und Verzehrserhebungen
06/01– 08/01	Praktikum in Gastgewerbe (Service-, Catering-, Küchenbereich), 3 Monate
07/00 – 08/00	Aupair in Frankreich, 3 Wochen
1999 – 2001	teilbeschäftigt bei Coffeeshop Company, Wien